

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS

CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E DE TECNOLOGIA

DEPARTAMENTO DE QUÍMICA

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

**DESENVOLVIMENTO DE MEMBRANAS DE
ALUMINA ANÓDICA POROSA COM
NANOPARTÍCULAS DE PRATA DEPOSITADAS**

MARIA MANUELA PEREIRA MACHADO*

TESE APRESENTADA COMO PARTE
DOS REQUISITOS PARA OBTENÇÃO
DO TÍTULO DE DOUTOR EM
CIÊNCIAS, ÁREA DE
CONCENTRAÇÃO: FÍSICO-QUÍMICA

ORIENTADOR: PROF. DR. ERNESTO CHAVES PEREIRA

*** BOLSISTA CAPES/CNPQ**

SÃO CARLOS – SP

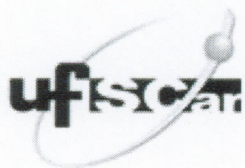
2015

Ficha catalográfica elaborada pelo DePT da Biblioteca Comunitária UFSCar
Processamento Técnico
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

M149d Machado, Maria Manuela Pereira
Desenvolvimento de membranas de alumina anódica
porosa com nanopartículas de prata depositadas /
Maria Manuela Pereira Machado. -- São Carlos :
UFSCar, 2016.
136 p.

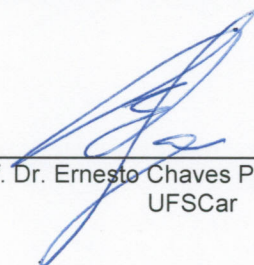
Tese (Doutorado) -- Universidade Federal de São
Carlos, 2015.

1. Membranas . 2. Alumina anódica porosa. 3.
Filtração de água. 4. Nanopartículas de prata . 5.
Nanotecnologia. I. Título.

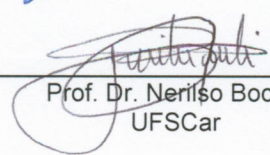


Folha de Aprovação

Assinaturas dos membros da comissão examinadora que avaliou e aprovou a Defesa de Tese de Doutorado da candidata Maria Manuela Pereira Machado, realizada em 27/03/2015:



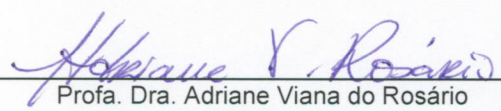
Prof. Dr. Ernesto Chaves Pereira de Souza
UFSCar



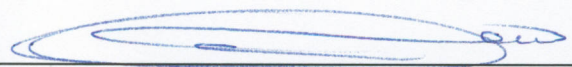
Prof. Dr. Nerisio Bocchi
UFSCar



Prof. Dr. Luis Frederico Pinheiro Dick
UFRGS



Profa. Dra. Adriane Viana do Rosario
UFBA



Prof. Dr. Artur de Jesus Motheo
IQSC/USP

*Aos meus pais, **Rui e Norma...***

*Aos meus irmãos: **José António, Ana Maria e Norma Maria.***

AMO VOCÊS.

*“A verdadeira viagem de descobrimento não consiste em
procurar novas paisagens, mas em ter novos olhos.”*

Marcel Proust

AGRADECIMENTOS

Desenvolver este trabalho foi uma experiência muito agradável, mas ao mesmo tempo um desafio trabalhoso, às vezes, até estafante. Só foi possível concluir essa tarefa com ajuda de muitas pessoas.

Agradeço especialmente ao Prof. Dr. Ernesto Pereira de Souza, que me orientou durante este trabalho, por todo ensinamento e dedicação, sempre propondo novas ideias e me estimulando durante todo o doutorado, com a calma necessária para me ajudar a transpor os momentos difíceis. Foi uma honra trabalhar com você! Sou muito grata por todas as conversas, ensinamentos, paciência, e as muitas lições de ciência e profissionalismo. **MUITO OBRIGADA!**

Aos que participaram intensamente da parte experimental deste trabalho, sempre atenciosos e disponíveis: Alexander Mendes Zimmer e Lázaro Dalla Costa Jr, muito obrigada por tudo!!!

À Profa. Dra. Dulce Helena Ferreira de Souza e Priscila Ike por toda ajuda e colaboração com os ensaios biológicos deste trabalho.

À Profa Lucia Helena Mascaro sempre presente, ao Prof. Dr. Mauro Chierici Lopes (UNICENTRO) por todos os ensinamentos e dedicação no período que estive em Guarapuava-PR.

Agradeço ao Prof. Dr. Julio Zukerman Schpector, por ter-me iniciado na vida acadêmica, despertando em mim o interesse pela leitura crítica; ensinando-me a refletir sobre as nossas certezas e a descobrir, ao investigá-las, que elas não são tão certas assim.

Agradeço às secretárias da Pós-Graduação do DQ-UFSCar, Ariane, Cristina e Luciane pelo carinho e atenção com que me trataram ao se dedicarem a questões que poderiam ser simplesmente fria e burocraticamente realizadas.

Ao Rorivaldo, pela ajuda em todas as análises em FEG contidas nesse trabalho.

Agradeço também aos demais professores, funcionários e colegas do Departamento de Química da UFSCar.

Ao grande amigo, Dr. Luiz Fernando Gorup, que esteve sempre presente na realização deste trabalho. Pelos almoços oferecidos, companhia nas horas de estudo e presença constante nos momentos de descontração.

Às novas amizades que fiz durante o doutorado, por tornarem meus dias menos cansativos e mais alegres: Roger, Lorena, Murilo, Alana, Renatão, Willian, Wânia, Paola, Aline “Fura-bolo”, Camila, Luis Fernando “Jaca”, Emerson “Ura”, Paulão, Milli, Matheus Carra, Evaldo, Robertão, Francisco Strixino, Leandrão; os “cerâmicos”: Renatinha, Júlio, André, “os meninos do Edson Leite”, todo o pessoal da cerâmica, todos os eletroquímicos dos congressos SIBEE e SIBAE... É muita gente!

Aos novos amigos da Metrohm Pensalab, por terem me recebido tão bem nessa nova etapa, dando total apoio à finalização desse trabalho.

A todos amigos da graduação, que sempre estiveram por perto e sempre serão necessários, especialmente: Patrícia Duarte, Gilmar, Boniek, Vinicius “Radikal” Carvalho, Marco “Marcão” Antônio, Diego “Feio”, a Paty (agora esposa do Luiz Gorup), Camila, Emerson “Bio”, Daiane Piva, Janaína, Clayton, Vanessa, Larissa, Daniele, Nathália, Meire, Marcos “Jaspion” Tanaka, Luiz “Cyber” Figueredo... À querida Stella Maganhi e nossas horas de conversa *não-científicas* que sempre fizeram (e fazem!) tão bem! Já se passaram 10 anos e cada um foi para um lado, mas a amizade se mantém. Como somos sortudos!

Agradeço ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), a Capes, a Embrapa Instrumentação, assim como ao

Departamento de Química da Universidade Federal de São Carlos (DQ-UFSCar) pelo apoio econômico, institucional e acadêmico na realização desta tese.

À minha família (Rui, Norma, José António, Ana Maria e Norma Maria), que sempre me ensinou qual caminho seguir e sempre esteve junto comigo, dando apoio às minhas decisões.

Também agradeço imensamente o meu marido, Jarbas, por todo carinho e paciência, sempre imensos! Muito obrigada por tudo, principalmente por todas as horas em que pensei em desistir e você estava aí para me apoiar. Te amo muito!

Enfim, a todos que foram citados e também aos que participaram de alguma forma desse trabalho:

MUITO OBRIGADA!

LISTA DE ABREVIATURAS

2D	2 dimensões
A	Ampère
AAP	Alumina anódica porosa
AC	Corrente alternada
Ag	Prata
Al	Alumínio
CE	Contra eletrodo (eletrodo auxiliar)
CFU	Unidades formadores de colônia
CNT	Nanotubos de carbono
Dc	Distância interporo
DC	Corrente contínua
Dp	Diâmetro do poro
DP	Desvio padrão
<i>E. coli</i>	<i>Escherichia coli</i>
E _{max}	Potencial máximo
ET	Eletrodo de trabalho
HPIB	Hewlett-Packard Interface Bus
j	Densidade de corrente (mA cm ⁻²)
<i>k</i> ₁	Constante de permeabilidade Darciana
<i>k</i> ₂	Constante de permeabilidade não-Darciana
L	Espessura do corpo poroso
LB	Luria-Bertani
MET	Microscopia Eletrônica de Transmissão
MEV	Microscopia Eletrônica e Varredura
MF	Microfiltração
N ₂	Gás nitrogênio
nAg	Nanopartículas de prata
NF	Nanofiltração
nm	Nanômetro
ODM	Objetivos de Desenvolvimento do Sétimo Milênio
PC	" <i>personal computer</i> ", computador
Pt	Platina
Re	Número de Reynolds
s	Segundos

SDPs	Subprodutos de desinfecção prejudiciais
UF	Ultrafiltração
UV	Ultravioleta
V	Volts
v_s	Velocidade de saída do fluido
ΔP	Gradiente de pressão
μ	Viscosidade do fluido
μm	Micrometro
ρ	Densidade do fluido

LISTA DE TABELAS

TABELA 4.1- Planejamento Fatorial 2^3 para obtenção da melhor membrana para a aplicação.	35
TABELA 4.2- Composição do meio Luria Bertani (LB).	39
TABELA 4.3 - Reagentes e soluções com suas procedências utilizados nos ensaios piloto e também nos ensaios realizados no planejamento fatorial.	55
TABELA 5.1- Planejamento fatorial 2^4 realizado para as amostras de papel alumínio de 12 μm de espessura.	63
TABELA 5.2- Experimento fatorial 2^4 com base no potencial de pico da anodização.	64
TABELA 5.3- Planejamento fatorial 2^3 , temperatura da solução eletrolítica em 20°C e do eletrodo de trabalho em aproximadamente 10°C . Amostras de alumínio (c) da FIGURA 4.9.	72
TABELA 5.4- Planejamento Fatorial 2^3 , mostrando as condições experimentais para execução das membranas	73
TABELA 5.5- Experimento fatorial 2^3 , temperatura da solução eletrolítica em 20°C e do eletrodo de trabalho em aproximadamente 10°C	84
TABELA 5.6- Planejamento fatorial 2^3 , temperatura da solução eletrolítica em 20°C e do eletrodo de trabalho em aproximadamente 4°C	88
TABELA 5.7 - Principais efeitos e interações estimados para os resultados do planejamento fatorial 2^3	93
TABELA 5.8- Constantes usadas nos cálculos para estimar o fluxo de água através das membranas de AAP.	97
TABELA 5.9- Planejamento fatorial 2^3 , temperatura da solução eletrolítica em 20°C e do eletrodo de trabalho em aproximadamente 10°C	98
TABELA 5.10- Triplicata dos fluxos experimento 3 do planejamento fatorial 2^3	98

TABELA 5.11- Principais efeitos e interações estimados para os resultados de fluxo do planejamento fatorial 2^3	101
TABELA 5.12- Planejamento fatorial 2^3 , temperatura da solução eletrolítica em 20°C e do eletrodo de trabalho em aproximadamente 10°C.....	102
TABELA 5.13- Experimentos para obtenção de membranas de AAP com poros maiores que 200 nm.	107
TABELA 5.14 - Comparação entre os resultados das medidas de fluxo de água através das membranas de AAP, com poros menores e maiores (com e sem nAg)	120

LISTA DE FIGURAS

- FIGURA 2.1- Representação esquemática do fracionamento de uma solução utilizando permeação seletiva através de uma membrana. 7
- FIGURA 2.2- Tipos de membranas para microfiltração (a), ultrafiltração (b), nanofiltração (c) e osmose reversa (d)²⁰ 8
- FIGURA 2.3- Faixas de aplicação das membranas de separação..... 9
- FIGURA 2.4- Estrutura da AAP (A). Vista da seção transversal da camada de óxido (B), sendo D_p : diâmetro do poro, W : espessura da parede do poro, D_c : distância interporo e B : espessura da camada tipo barreira. Adaptado de BUSTAMANTE⁵⁶ 15
- FIGURA 2.5- Representação esquemática da estrutura da alumina anódica porosa. Imagens de microscopia eletrônica da vista superior e da vista lateral.²⁰ 17
- FIGURA 2.6- Curvas de crescimento da AAP em regime galvanostático (A) e potencioestático (B), com suas zonas de anodização, a, b, c, d. (C) Estágios de desenvolvimento dos filmes de alumina anódica porosa.¹¹⁰ 21
- FIGURA 2.7- Curvas cinéticas de crescimento das estruturas de AAP anodizadas em regime galvanostático em 0,5 mol L⁻¹ de H₂SO₄ (A); 0,2 mol L⁻¹ de H₂C₂O₄ (B); e 0,4 mol L⁻¹ de H₃PO₄ (C) aplicando densidades de corrente de 25, 10 e 5 mA cm⁻², respectivamente, junto com suas zonas de anodização 1, 2, 3, 4 e uma ilustração esquemática do desenvolvimento da AAP para cada zona de anodização.¹¹⁶ 22
- FIGURA 2.8- Curvas cinéticas de crescimento da AAP anodizadas em regime potencioestático para 0,3 mol L⁻¹ H₂C₂O₄ em diferentes temperaturas.⁴³ 23
- FIGURA 2.9- A dependência da espessura da camada de óxido sobre a duração da segunda etapa de anodização é ilustrada, para diferentes condições de

anodização e materiais de partida, com a finalidade de estudar a influência dos parâmetros da anodização sobre a taxa de crescimento do filme de óxido.³⁵ 25

FIGURA 2.10- Vários mecanismos de ação antimicrobiana exercida por nanomateriais. Adaptado de LI et al.¹⁰ 27

FIGURA 4.1- Sistema de filtração para teste biológico e metodologia de diluição para a inoculação das bactérias. 37

FIGURA 4.2- Sistema de filtração montado para o ensaio microbiológico. Funil de Teflon (a), Kitasato com encaixe de Teflon (b e c), membrana de AAP (d), membrana posicionada no funil (e), copo que fixa a membrana entre dois anéis de vedação (f) e tubo para o vácuo (g) gerado pela bomba (h). 41

FIGURA 4.3- Foto da célula de Teflon e suas diversas partes (a). Tampa da célula com camisa de vidro para manter a temperatura da solução, com agitador mecânico embutido para agitar a solução através de uma haste de Teflon e entrada para o contra eletrodo de Pt (b). Copo da célula visto de cima (c) mostrando ao fundo o molde de Teflon com raio do orifício interno variável para anodizar diferentes áreas de amostras de alumínio (d). Base da célula que apresenta ao centro a placa Peltier, posicionada sobre um cooler de resfriamento comum, para controle de temperatura no eletrodo de trabalho (e). Acima desta última placa térmica se encontra o contato elétrico para o eletrodo para o eletrodo de trabalho (f) feito de uma placa de cobre (g). 44

FIGURA 4.4- Representação gráfica da célula eletroquímica utilizada..... 45

FIGURA 4.5- Foto da Fonte AC/DC de controle da placa Peltier (a) e dos transformadores de corrente e potencial fixos do sistema de resfriamento e da agitação mecânica (b). 46

FIGURA 4.6- Visão geral do sistema de anodização montado com: Computador com o programa HPVEE para aquisição dos dados (a); multímetro conectado pela porta GPIB ao PC (b); fonte AC/DC de 600 V e 100 mA para a anodização

galvanostática (c), fonte AC/DC de 4 V e 2 A para a placa Peltier (d); fonte do <i>cooler</i> e agitação mecânica (e); célula eletroquímica de Teflon (f); banho termostático (g).....	47
FIGURA 4.7- Fonte AC/DC de 600 V e 100 mA, de fabricação própria, utilizada na realização das anodizações galvanostáticas.	48
FIGURA 4.8- Foto do fluxômetro, com medidor de pressão e bolhômetro.	52
FIGURA 4.9- Amostras de alumínio investigadas para anodização.	53
FIGURA 4.10- Fluxograma da parte experimental envolvendo todas as etapas de anodização: Determinação da área anodizada (A), primeira anodização (B), dissolução do óxido da primeira anodização (C), segunda anodização (D), determinação de uma área menor do lado não anodizado (E), remoção do alumínio não anodizado (F) e abertura da camada barreira (fundo dos poros) (G) para a obtenção da membrana final.	56
FIGURA 4.11- Ilustração do procedimento ataque químico sob agitação e aquecimento a 65°C referente ao passo “C” da FIGURA 4.10.	57
FIGURA 4.12- Molde de Teflon utilizado nos passos E, F e G da FIGURA 4.10(a). Etapa de remoção da camada barreira de alumínio da base dos poros do outro lado da folha, passo “F” (b) e (c). Diagrama esquemático do posicionamento da membrana sobre a placa de vidro e sob o molde de Teflon (d).	59
FIGURA 5.1- Diferença de potencial em função da densidade de carga típica durante a anodização de folhas de papel alumínio nas condições experimentais listadas na TABELA 5.2 para o experimento 5 (a) e para o experimento 6 (b). A densidade de corrente empregada foi 8 mA cm ⁻²	65
FIGURA 5.2- Gráfico normal dos valores dos efeitos calculados para o planejamento fatorial completo 2 ⁴ no estudo do E _{max}	67
FIGURA 5.3- Micrografias de FEG da superfície (a) e da lateral (b) da camada de AAP após a primeira anodização galvanostática de uma folha de alumínio	

comercial (espessura de 12 μm) submetida uma densidade de corrente de 8 mA cm^{-2} por 3600 s em solução ácido oxálico 0,1 mol L^{-1} 68

FIGURA 5.4- Micrografias de FEG da superfície da camada de AAP. (a) Folha de Alumínio usada na confecção de latas de refrigerante. (b) Folha de Alumínio vendida comercialmente folhas para proteção de fogão (espessura de 25 μm). Para os dois materiais, a anodização galvanostática foi realizada em duas etapas. Densidade de corrente de 8 mA cm^{-2} em solução ácido oxálico 0,1 mol L^{-1} (a) solução ácido fosfórico 0,1 mol L^{-1} (b). 69

FIGURA 5.5- Micrografias de FEG da superfície da camada barreira do fundo dos poros. (a) Folha de Alumínio usada na confecção de latas de refrigerante. (b) Folha de Alumínio vendida comercialmente folhas para proteção de fogão (espessura de 25 μm). Para os dois materiais, a anodização galvanostática foi realizada em duas etapas. Densidade de corrente de 8 mA cm^{-2} em solução ácido oxálico 0,1 mol L^{-1} (a) solução ácido fosfórico 0,1 mol L^{-1} (b). 70

FIGURA 5.6- Cronopotenciometrias de folhas de papel alumínio utilizadas na confecção de protetores de fogão para o experimento 3 (a e b) e 8 (c e d) da TABELA 5.4 para a primeira anodização (a e c) e para a segunda (b e d). Densidade de corrente empregada de 8 mA cm^{-2} 74

FIGURA 5.7 - Cronopotenciometrias de folhas de papel alumínio utilizadas como protetores de fogão, para os experimentos de 01 até 04 do planejamento fatorial descrito na TABELA 5.4. Densidade de corrente empregada de 3 ou 8 mA cm^{-2} . Primeira etapa de anodização (cor preta), com duração de 3600 s (para ácido fosfórico) e a segunda etapa de anodização (cor vermelha), com duração de 9000 s (para ácido fosfórico). 76

FIGURA 5.8- Continuação das cronopotenciometrias, para os experimentos 05 a 08 do planejamento fatorial descrito na TABELA 5.4. Densidade de corrente empregada de 3 ou 8 mA cm^{-2} . Primeira etapa de anodização (cor preta), com

duração de 1800 s (para ácido oxálico) e a segunda etapa de anodização (cor vermelha), com duração de 5400 s (para ácido oxálico).....	77
FIGURA 5.9- Potencial anódico em função do tempo durante anodização do alumínio em solução de ácida, em condição de anodização galvanostática. Representação esquemática do mecanismo de desenvolvimento da estrutura nanoporosa de alumina em relação ao potencial em função do tempo ⁵⁰	78
FIGURA 5.10- Fotografia da membrana obtida após o procedimento de remoção do alumínio e da base dos poros. Marcações: A: Folha de alumínio, B: membrana de alumina anódica porosa após todos os passos descritos na seção experimental e C: a membrana porosa sobre a folha de alumínio (resistência mecânica)	80
FIGURA 5.11- Micrografias de FEG das medidas do planejamento fatorial 2 ³ para as oito amostras nas condições experimentais: 1 (a), 2 (b),3 (c), 4 (d), 5 (e), 6 (f), 7 (g) e 8 (h), da TABELA 5.4.	81
FIGURA 5.12- Micrografias de FEG das medidas do planejamento fatorial 2 ³ . Condição experimental 4 (ácido fosfórico, 0,5 mol L ⁻¹ , densidade de corrente empregada de 8 mA cm ⁻²). Antes (a) e após (b) o ataque com a ácido fosfórico (solução 5 da TABELA 4.3).	83
FIGURA 5.13- Ajuste das imagens e seleção da rede secundária de poros utilizando o programa <i>ImageJ</i> para todos experimentos, em ordem crescente (a até h) de diâmetro de poro. Acima da micrografia está a identificação do experimento.	85
FIGURA 5.14 - Micrografias de FEG das medidas do planejamento fatorial 2 ³ . Condição experimental: 1 (a), 2 (b), 3 (c), 4 (d), da TABELA 5.6.	86
FIGURA 5.15- Micrografias de FEG das medidas do planejamento fatorial 2 ³ . Condição experimental: 5 (e), 6 (f), 7 (f) e 8 (h), da TABELA 5.6.....	87

FIGURA 5.16- Interpretação geométrica para os resultados do diâmetro dos poros (μm) das membranas de alumínio anodizado nas condições descritas no Planejamento Fatorial 2^3 da TABELA 5.9.....	90
FIGURA 5.17- Interpretação geométrica dos valores obtidos para espessura das membranas (μm) de alumínio anodizado nas condições descritas no Planejamento Fatorial 2^3 da TABELA 5.9.....	92
FIGURA 5.18- Gráfico normal dos valores dos efeitos calculados no estudo do diâmetro dos poros (a) e de espessura (b) das membranas de alumínio anodizado nas condições descritas no Planejamento Fatorial 2^3 da TABELA 5.6.	94
FIGURA 5.19- Suporte para a membrana de AAP durante as medidas de fluxo em N_2 . A velocidade de vazão do gás, para um volume fixo visto no bolhômetro, é tabelada junto com a diferença de pressão entre as câmeras para diferentes velocidades de fluxo de entrada de gás no sistema.	96
FIGURA 5.20- Planilha elaborada para os cálculos dos fluxos das membranas. Em amarelo se encontra destacado os campos onde os dados experimentais são inseridos, em verde os dados calculados e em vermelho os dados de saída como as constantes de permeabilidade (k_1 e k_2) e a vazão da membrana calculada em L h^{-1}	97
FIGURA 5.21- Interpretação geométrica dos valores médios de fluxo (L h^{-1}) das membranas de alumínio anodizado nas condições descritas no Planejamento Fatorial 2^3 da TABELA 5.9.....	99
FIGURA 5.22 - Efeitos e interações dos valores médios de fluxo (L h^{-1}) das membranas de alumínio anodizado nas condições descritas no Planejamento Fatorial 2^3 da TABELA 5.9.....	100
FIGURA 5.23 - Remoção das bactérias da solução de água contaminada utilizando as membranas de alumina anódica porosa (experimento 8 – Planejamento 2^3). Placas de Petri em (a) e (c) Solução controle em duplicata, ou	

seja, a solução contaminada com *E.coli*, antes da filtração. As fotos C0 até C4 correspondem às diluições sucessivas em 10^0 , 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4} CFU cm^{-2} , respectivamente. As linhas (b) e (d) correspondem aos ensaios em duplicata, com as soluções controle após filtração com as membranas de AAP. O filtrado também foi diluído de F0 a F4, com concentrações 10^0 , 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4} CFU cm^{-2} , respectivamente. 105

FIGURA 5.24 - Micrografias de FEG da vista lateral e da superfície das membranas de AAP, submetidas a densidade de corrente de 8 mA cm^{-2} , utilizando ácido fosfórico em quatro concentrações diferentes (a) A1: $0,05 \text{ mol L}^{-1}$, (b) A2: $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, (c) A3: $0,3 \text{ mol L}^{-1}$ e (d) A4: $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ 108

FIGURA 5.25 - Procedimento para deposição de nanopartículas de prata nas membranas de AAP. 110

FIGURA 5.26 - Fotografia das membranas finalizadas. (a) Membrana de AAP obtida após o procedimento de remoção do alumínio e da base dos poros. (b) Membrana de AAP obtida após procedimento de deposição de nanopartículas de prata (a membrana porosa fica escurecida). 111

FIGURA 5.27- Imagem de FEG das membranas de alumina anódica porosa. (a) Visão transversal das membranas de AAP onde as nanopartículas de prata foram depositadas. (b) Vista superior das membranas. 112

FIGURA 5.28- Imagem de FEG da vista superior das membranas de alumina anódica porosa com nanopartículas de prata depositadas. 113

FIGURA 5.29- Membrana de AAP com nanopartículas de prata depositadas. Foi realizado apenas um ciclo de deposição. 114

FIGURA 5.30- As imagens de FEG das nanopartículas de prata sobre a superfície das membranas de alumina anódica porosa após (b) três, (c) seis e (d) dez ciclos de deposição de nanopartículas de prata. A figura em (a) é uma imagem da secção transversal da membrana de AAP após três ciclos de deposição. 115

FIGURA 5.31 - Filtração da solução de água contaminada utilizando as membranas de alumina anódica porosa desenvolvidas no experimento A2, sem as nanopartículas de prata. Placas de Petri em (a): Solução controle, ou seja, a solução contaminada com *E.coli*, antes da filtração. C0 a C4 correspondem às diluições sucessivas em 10^0 , 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4} CFU cm^{-2} , respectivamente. A linha (b) corresponde ao ensaio com a solução controle após filtração com as membranas de AAP desenvolvida no ensaio A2, sem as nanopartículas de prata. O filtrado também foi diluído de F0 a F4, com concentrações 10^0 , 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4} CFU cm^{-2} , respectivamente..... 117

FIGURA 5.32 - Remoção das bactérias da solução de água contaminada utilizando as membranas de alumina anódica porosa decoradas com nanopartículas de prata. Placas de Petri em (a) Solução controle, ou seja, a solução contaminada com *E.coli*, antes da filtração. C0 a C3 correspondem às diluições sucessivas em 10^0 , 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} CFU cm^{-2} , respectivamente. As linhas (b) e (c) correspondem aos ensaios em duplicata, com as soluções controle após filtração com as membranas de AAP com as nanopartículas de prata. O filtrado também foi diluído de F0 a F3, com concentrações 10^0 , 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} CFU cm^{-2} , respectivamente..... 119

RESUMO

DESENVOLVIMENTO DE MEMBRANAS DE ALUMINA ANÓDICA POROSA COM NANOPARTÍCULAS DE PRATA DEPOSITADAS

Neste trabalho, apresentamos o desenvolvimento de membranas de alumina anódica porosa (AAP) para ultrafiltração de água, através da anodização de folhas de alumínio (Al) 1050 de baixo custo (99,5% de pureza). O alumínio não oxidado e a camada de óxido barreira de alumina foram removidos após a última etapa de anodização, em uma área reduzida para suportar a membrana de AAP em uma base de alumínio metálico. As membranas foram caracterizadas por microscopia eletrônica de varredura, onde foram obtidos os valores do diâmetro do poro e também a espessura das membranas. Medidas de permeabilidade utilizando gás N₂ foram realizadas para estimar o fluxo líquido através das membranas, utilizando a lei de Forchheimer e as equações de Darcy. No planejamento fatorial 2³, três respostas foram estudadas: o diâmetro dos poros, a espessura das membranas, e o fluxo líquido. Observou-se que os efeitos mais importantes para a obtenção de um diâmetro de poro adequado foram a densidade de corrente e o tipo de eletrólito e para obter um bom fluxo de líquido através das membranas, o fator mais importante foi a relação entre a densidade de corrente e o tipo de eletrólito. A segunda parte deste trabalho consistiu na deposição de nanopartículas de prata dentro dos poros das membranas de AAP. *Escherichia coli*, um contaminante bacteriano comum na água, foi removido utilizando as membranas de AAP obtidas, sendo que a taxa de retenção obtida foi 100%, com ou sem a presença das nanopartículas de prata, que agrega às membranas efeito bactericida.

ABSTRACT

DEVELOPMENT OF POROUS ANODIC ALUMINA MEMBRANE WITH SILVER NANOPARTICLES DEPOSITED

In this work, we present the development of porous anodic alumina (PAA) membranes for ultrafiltration by the anodization of low cost 1050 aluminum (Al) foils (99.5% purity). The metallic Al and the barrier layer of alumina were removed by dissolution of a smaller area to support the membrane in the Al base. The membranes were characterized by field-emission scanning electron microscopy (FE-SEM) to measure the effective pore diameter and its thickness. Gas permeability measurements with N₂ were performed to estimate the liquid flux using Darcy's law and Forchheimer equations. For the 2³ factorial design, three responses were studied: pore diameter, membrane thickness and liquid flux. We observed that the most important effects for obtaining an appropriate pore diameter were current density and electrolyte type, whereas to obtain a good liquid flux the most important factor was the interaction between the current density and electrolyte type. The second part of this work was the deposition of silver nanoparticles inside the pores of the PAA membranes. *Escherichia coli*, a common bacterial contamination of drinking water, was removed using these PAA membranes to obtain bacteria-free water for human consumption and a filtration retention of 100% was achieved, with or without the presence of silver nanoparticles, which adds to the membranes, bactericidal effect.

SUMÁRIO

1- INTRODUÇÃO.....	1
2- REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	3
2.1- QUALIDADE DA ÁGUA	3
2.2- SOLUÇÕES PARA O ACESSO À ÁGUA POTÁVEL	4
2.3- SISTEMAS DE FILTRAÇÃO E NANOTECNOLOGIA	5
2.4- MEMBRANAS DE ALUMINA ANÓDICA POROSA	7
2.4.1- DEFINIÇÃO E CLASSIFICAÇÃO DAS MEMBRANAS	7
2.4.2- APLICAÇÃO DE MEMBRANAS EM PROCESSOS DE FILTRAÇÃO DE ÁGUA	10
2.4.3- MORFOLOGIA DA ALUMINA ANÓDICA POROSA	12
2.5- CINÉTICA DE FORMAÇÃO DA AAP	20
2.6- NANOPARTÍCULAS DE PRATA (NAG)	26
3- OBJETIVOS.....	30
4- MATERIAL E MÉTODOS EXPERIMENTAIS	33
4.1- TÉCNICAS EMPREGADAS.....	33
4.1.1- ANODIZAÇÃO.....	33
4.1.2- PLANEJAMENTO FATORIAL	33
4.1.3- MICROSCOPIA	36
4.1.4- ENSAIO MICROBIOLÓGICO	36
4.2- EQUIPAMENTOS	43
4.2.1- CÉLULA ELETROQUÍMICA.....	43
4.2.2- SISTEMA DE ANODIZAÇÃO.....	46
4.2.3- FONTE AC/DC.....	47
4.2.4- FLUXÔMETRO.....	48
4.3- PARTE EXPERIMENTAL	52

4.3.1-	AMOSTRA DE ALUMÍNIO.....	52
4.3.2-	REAGENTES E SOLUÇÕES.....	54
4.3.3-	PREPARAÇÃO DAS MEMBRANAS DE AAP	55
4.3.4-	DEPOSIÇÃO QUÍMICA DE NANOPARTÍCULAS DE PRATA NAS MEMBRANAS DE ALUMINA ANÓDICA POROSA.....	60
5-	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	63
5.1-	ESTUDO PRELIMINAR DA SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DAS MEMBRANAS DE ALUMINA.....	63
5.1.1-	PLANEJAMENTO FATORIAL 2^4 – ESTUDO $E_{MÁX}$	63
5.1.2-	ESTUDOS DAS ETAPAS DE ANODIZAÇÃO NOS DIFERENTES SUBSTRATOS DE AL	68
5.2-	DESENVOLVIMENTO DAS MEMBRANAS DE AAP.....	71
5.2.1-	PLANEJAMENTO FATORIAL 2^3 EM FOLHAS DE AL	71
5.2.2-	CRONOPOTENCIOMETRIAS	73
5.2.3-	CARACTERIZAÇÃO MORFOLÓGICA	79
5.2.4-	CÁLCULO DA POROSIDADE MÉDIA DAS MEMBRANAS	83
5.2.5-	MEDIDAS DE ESPESSURA DAS MEMBRANAS.....	86
5.2.6-	APRESENTAÇÃO DOS EFEITOS DAS VARIÁVEIS ESTUDADAS SOBRE AS PROPRIEDADES DAS MEMBRANAS	89
5.2.7-	MEDIDAS DE FLUXO DE N_2 ATRAVÉS DA MEMBRANA	95
5.3-	ENSAIOS MICROBIOLÓGICOS.....	103
5.4-	OTIMIZAÇÃO DO DIÂMETRO DOS POROS PARA DEPOSIÇÃO QUÍMICA DE NANOPARTÍCULAS DE PRATA	107
5.5-	DEPOSIÇÃO QUÍMICA DE NANOPARTÍCULAS DE PRATA NAS MEMBRANAS DE AAP.....	109
5.6-	ENSAIO MICROBIOLÓGICO UTILIZANDO AS MEMBRANAS DE AAP COM NANOPARTÍCULAS DE PRATA DEPOSITADAS	116

5.7- COMPARAÇÃO ENTRE OS RESULTADOS DOS TESTES DE FLUXO PARA MEMBRANAS DE AAP COM E SEM NANOPARTÍCULAS DE PRATA	120
6- CONCLUSÕES.....	121
7- REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	123

1- INTRODUÇÃO

O principal tema abordado neste trabalho é a qualidade da água, através do desenvolvimento de filtros com atuação bactericida sobre agentes patogênicos.

A infraestrutura de saneamento e o acesso à água tratada nas regiões rurais do Brasil ainda são deficientes, uma vez que os sistemas de filtração comerciais se limitam a retenção de particulados maiores que 1 μm . Desta forma tais filtros são ineficientes no barramento de agentes patógenos, cujo tamanho médio é de 0,2 μm ¹. Por esta razão, a partir de 1990, foram lançadas no mercado de saneamento básico membranas de separação de partículas para produção de água potável em grande escala.²

Dentro do contexto de contribuir para o conhecimento de tecnologias alternativas para purificação de água, o presente trabalho foi direcionado ao estudo de uma nova tecnologia de obtenção de membranas de microfiltração, avaliando principalmente a remoção de bactérias.

Primeiramente, foi realizado um estudo sobre a obtenção de membranas de alumina anódica porosa – AAP, pela anodização galvanostática de folhas de alumínio de baixo custo, comercialmente vendidas para proteção de fogão³. A partir deste método, obtém-se uma camada de óxido anódico sobre o alumínio metálico, que apresenta as propriedades básicas necessárias à aplicação. Para otimizar os materiais, foi realizado um planejamento fatorial 2³ envolvendo os seguintes parâmetros de síntese eletroquímica: densidade de corrente anódica, tipo de eletrólito e concentração dos ácidos utilizados como eletrólitos. Por fim, as membranas foram caracterizadas por microscopia eletrônica de varredura para determinar o diâmetro médio dos poros, a espessura da membrana e seus fluxos foram determinados para N² e água.

Após esta primeira etapa, onde foram preparadas membranas para filtração de agentes patógenos de até 0,22 μm , foi realizada a segunda etapa do trabalho visando à preparação de membranas com poros de maior diâmetro, sobre as quais foram depositadas nanopartículas de prata na parede interna dos mesmos para a remoção dos agentes patógenos. Foram ainda realizados testes biológicos, a fim de mostrar a eficácia esterilizante dessas membranas como filtros de água potável, pela da restrição de agentes patogênicos por tamanho e também devido a presença das nanopartículas de prata, com efeito bactericida.

Esta tese está organizada em cinco capítulos independentes, sendo esta introdução o CAPÍTULO 1.

O CAPÍTULO 2 é dedicado à revisão bibliográfica que foi necessária para o desenvolvimento deste estudo.

Os objetivos do trabalho estão apresentados no CAPÍTULO 3.

No CAPÍTULO 4 são descritos os materiais e métodos de preparação das membranas de alumina anódica porosa e também caracterização dos filmes quanto à sua estrutura, forma, vazão e também, eficácia quanto à retenção de microrganismos.

No CAPÍTULO 5 são apresentados os resultados obtidos, divididos em (A) comportamento do sistema frente às variáveis de anodização, (B) planejamento fatorial para obtenção da membrana ideal para utilização no ensaio biológico, como barreira física à retenção de bactérias, (C) ensaio microbiológico com a membrana obtida, (D) obtenção de membranas com poros maiores para deposição de nanopartículas de prata, (E) deposição química de nanopartículas de prata nas membranas obtidas e (F) ensaio microbiológico para testar eficácia da adesão das nanopartículas de prata.

Finalmente, o CAPÍTULO 6 reúne as conclusões dessa tese de doutorado.

2- REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1- Qualidade da água

O acesso à água potável e de qualidade é um importante fator na redução da mortalidade por doenças transmitidas pela água. Neste sentido, o mundo acaba de atingir a sétima meta dos “OBJETIVOS DE DESENVOLVIMENTO DO SÉTIMO MILÊNIO (ODM)”, ao reduzir para a metade a proporção da população mundial sem acesso sustentável à água potável e saneamento básico, usando dados de 1990 como ano de referência. Os dois indicadores utilizados para monitorar o alcance da meta foram, para ambientes urbanos e rurais: (i) a proporção da população que utiliza uma fonte melhorada de água potável; e (ii) a proporção da população que utiliza um serviço de saneamento melhorado. Com base nesses indicadores, em 2012, 89% da população mundial teve acesso a uma fonte melhorada de água potável, em comparação aos 76% em 1990. Em outras palavras, mais de 2,3 bilhões de pessoas tiveram acesso a uma fonte melhorada de água potável entre 1990 e 2012. Apesar do objetivo alcançado, ainda 11% da população mundial permanece sem acesso à água potável⁴, e o desenvolvimento de soluções rápidas para acesso à água potável continua necessário.⁵

Por outro lado, no que diz respeito ao saneamento básico, o progresso ainda é lento. Em 2012, 2,5 bilhões de pessoas não tiveram acesso a instalações sanitárias melhoradas.⁵

A presença de diferentes contaminantes na água que poderia ser utilizada para consumo humano e animal, em ambientes com pequena ou nenhuma infraestrutura de saneamento, implica em problemas relacionados à saúde pública, levando a surtos de doenças como a giardíase, cólera, criptosporidíase e doenças diarreicas bacterianas e virais, gastroenterite parasitária e hepatite viral. É importante ainda frisar que essas são as principais

causas de morbidade e mortalidade na infância. ⁶ Desta forma, o consumo de água não tratada causa uma alta taxa de infecções que, embora não sejam graves na maioria dos casos, têm sido, por vezes, a causa de grandes epidemias⁴.

Neste contexto, atualmente, o método de desinfecção de água mais utilizado por populações sem acesso às fontes limpas, consiste em ferver a água. Dada a alta energia requisitada para fervê-la e, muitas vezes, a disponibilidade limitada de fontes de energia, o tratamento térmico é omitido.⁴ Além disso, a utilização da madeira como fonte de energia para ferver água resulta em desmatamento, uma vez que estima-se que 1 quilograma de madeira é necessário para ferver 1 litro de água⁷.

2.2- Soluções para o acesso à água potável

Quando não existem recursos para a instalação e operação de estações de tratamento de água em pequena escala e centralizadas, fica a cargo das famílias encontrarem suas próprias soluções para tratamento da água para o consumo. O requisito mínimo para quantidades de água potável é cerca de 2 L por pessoa/dia, enquanto que, se considerarmos ambas as atividades, beber e cozinhar, são necessários 8 L pessoa/dia. Em outras palavras, uma família de quatro membros exige de 8 a 32 L de água / dia⁴. Como não é economicamente viável a utilização de sistemas centralizados de tratamento de água nas áreas rurais dos países (incluindo países industrializados) torna-se importante a implementação de sistemas de água potável descentralizados nesses casos^{4,8}.

Um sistema de tratamento de água envolve processos acoplados, onde cada etapa destina-se à remoção de uma ou mais substâncias, como o processo de tratamento de materiais particulados, com base no tamanho e propriedades do contaminante alvo⁹. Neste sentido, alguns métodos de desinfecção de água que já são explorados para aplicação em sistemas de tratamento de água centralizados e descentralizados são:⁷

- Sistemas baseados em calor e luz UV:
 - Ebulição com combustível
 - Radiação solar
 - Lâmpadas UV
 - Métodos de tratamento químico:
 - Coagulação, floculação e precipitação
 - Desinfecção química
- Processos de remoção físicos:
 - Sedimentação ou decantação
 - Filtração, incluindo membranas de cerâmica e filtros de fibras
 - Filtros granulares, como filtros de areia.⁷

É importante ainda frisar que qualquer metodologia para purificação de água para consumo humano e/ou animal deve levar em consideração a questão do custo, tanto de instalação quanto de manutenção, da durabilidade, da facilidade de operação por indivíduos com pequeno nível de treinamento, como os membros da própria comunidade.

Muitas destas características já estão presentes nos sistemas de filtração gravitacional com elementos cerâmicos já disponíveis comercialmente, porém estes sistemas apresentam eficiência na eliminação de material particulado com tamanho maior ou igual a 1 μm . Desta forma, os elementos filtrantes atuais não são efetivos para retenção de agentes patogênicos, cujo tamanho é da ordem de 0,2 a 1 μm ¹.

2.3- Sistemas de filtração e nanotecnologia

O uso de filtros de areia e a desinfecção com cloro marcou o fim das epidemias transmitidas pela água no mundo há mais de 100 anos. No entanto,

como dito em parágrafos anteriores, os surtos de doenças transmitidas pela água continuam a ocorrer em níveis elevados.

Embora os métodos de desinfecção química usados atualmente no tratamento de água potável possam efetivamente controlar a concentração de agentes patogênicos, existe um dilema entre desinfecção química eficaz e a formação de subprodutos de desinfecção prejudiciais (SDPs)^{10,11}. Isto ocorre porque os desinfetantes químicos comumente utilizados pela indústria de água, como o cloro livre, as cloraminas e o ozônio, podem reagir com vários componentes existentes na água natural gerando os SDPs, na sua maioria, cancerígenos¹¹. Além disso, a resistência de alguns agentes patogênicos à desinfetantes químicos convencionais, tais como a criptosporidíase e a giardia, requerem dosagem extremamente elevadas para a sua utilização, levando ao aumento da formação dos SDPs¹⁰. Assim, justifica-se a necessidade de reavaliar os métodos de desinfecção convencionais e considerar abordagens inovadoras que melhorem a confiabilidade e capacidade de desinfecção, evitando a formação de subprodutos de desinfecção prejudiciais (SDPs). Neste sentido, o rápido desenvolvimento da nanotecnologia tem estimulado a aplicação de nanomateriais em questões ambientais.^{4,9-15}

Nanomateriais são excelentes adsorventes, catalisadores e sensores, devido à sua grande área superficial e reatividade. Recentemente, vários nanomateriais têm sido propostos como tendo fortes propriedades antimicrobianas, como a quitosana, as nanopartículas de prata (nAg)^{13,16,17}, o TiO₂^{10,12}, os fulerenos¹⁸ e os nanotubos de carbono (CNT)¹⁹. Ao contrário de desinfetantes químicos convencionais, estes nanomateriais antimicrobianos não são oxidantes fortes e são relativamente inertes em água. Ou seja, não se espera a produção dos SDPs e assim acredita-se que tenham grande potencial para substituir ou aumentar o poder de desinfecção dos métodos convencionais.

2.4- Membranas de alumina anódica porosa

2.4.1- Definição e Classificação das Membranas

Pode-se definir uma membrana como uma barreira semipermeável e seletiva, orgânica ou inorgânica, entre duas ou mais fases. Desta forma, nos processos de separação com membranas, a corrente de alimentação é separada em duas: concentrado e permeado, como representado esquematicamente na FIGURA 2.1.

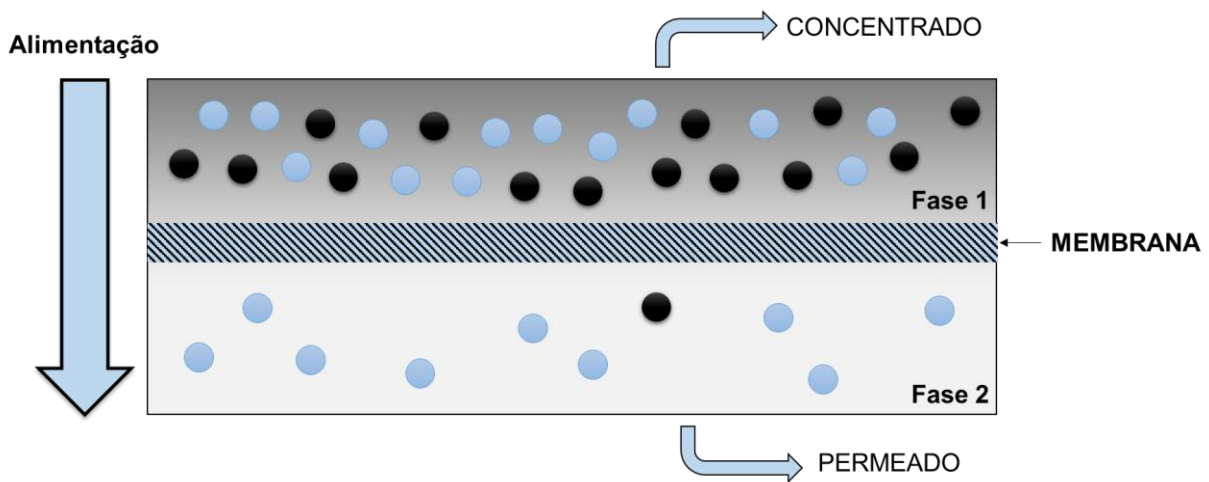


FIGURA 2.1- Representação esquemática do fracionamento de uma solução utilizando permeação seletiva através de uma membrana.

A seletividade da membrana está relacionada com o tipo e tamanho do permeado que passa através da mesma, enquanto que, a permeabilidade está relacionada com a quantidade total de permeado que atravessa a membrana. Sendo assim, as membranas têm a função de separar fases, sólidos suspensos, macromoléculas, espécies não iônicas, espécies iônicas, em nível molecular, restringindo, total ou parcialmente as espécies descritas²⁰. Os processos de separação por membranas são exemplificados na FIGURA 2.2. Estes processos podem ser movidos pela concentração, ou seja, quando existe um gradiente de

concentração entre duas fases separadas por uma membrana semipermeável, ou por pressão, que correspondem aos processos de microfiltração (MF), ultrafiltração (UF), nanofiltração (NF) e osmose reversa.

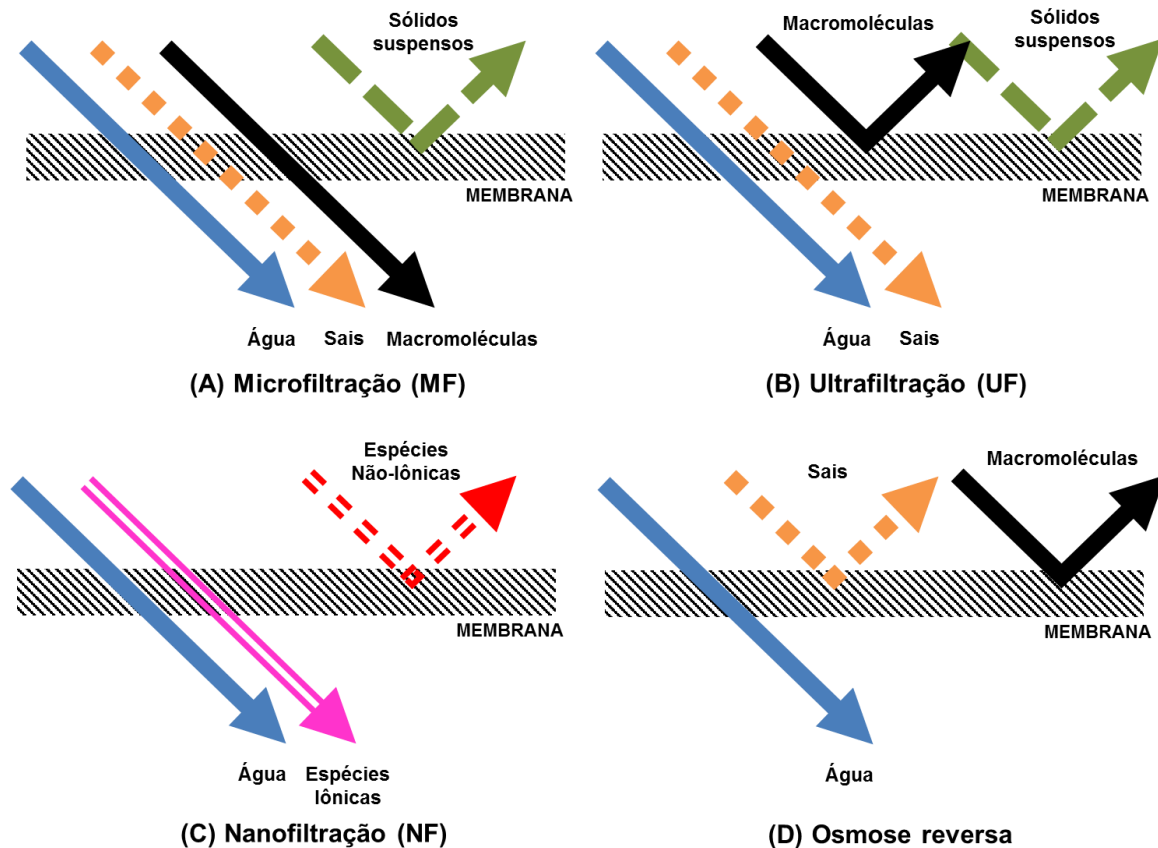


FIGURA 2.2- Tipos de membranas para microfiltração (a), ultrafiltração (b), nanofiltração (c) e osmose reversa (d)²⁰.

A microfiltração é aplicada na esterilização de soluções aquosas. A ultrafiltração começa no ponto onde o tamanho de partícula do soluto é 10 vezes maior que o tamanho de partícula da molécula do solvente, sendo destinada à concentração ou fracionamento de macromoléculas.

As membranas utilizadas na nanofiltração apresentam uma maior densidade de poros que as outras duas membranas e conseqüentemente um menor tamanho de poro, sendo utilizadas na filtração de partículas iônicas. Por fim, tem-se a membrana de osmose reversa, que consegue reter microsolutos cujos

tamanhos são da ordem de $10^{\text{Å}20}$. Os processos de separação por membranas estão ilustrados na FIGURA 2.3.

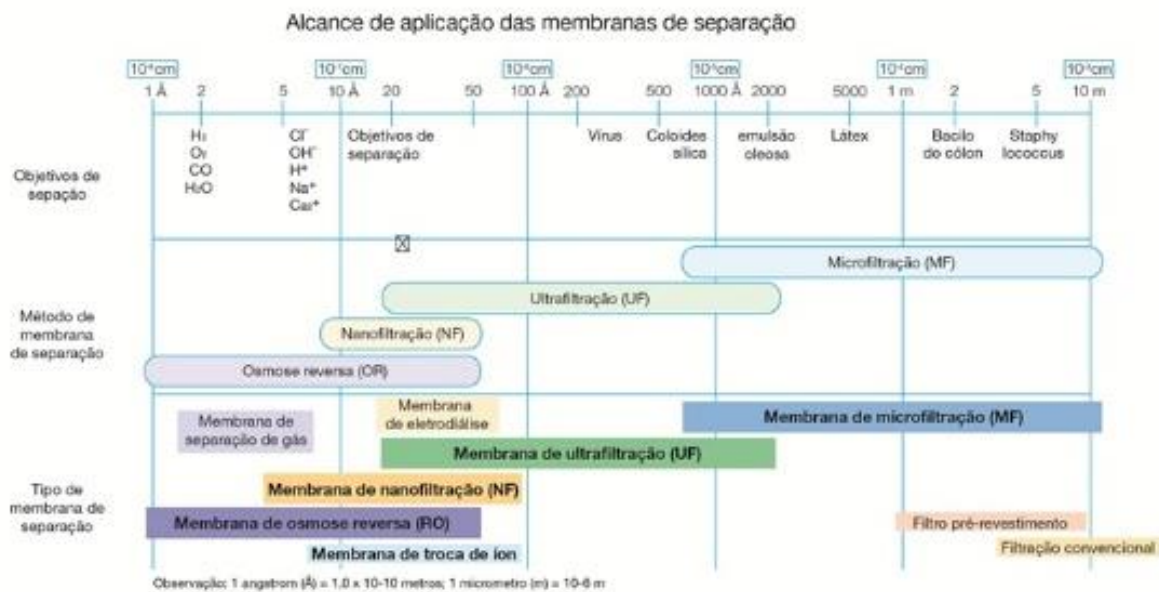


FIGURA 2.3- Faixas de aplicação das membranas de separação.

Para a separação das substâncias da água, a membrana deve ser permeável à água e não permeável aos solutos ou partículas. Neste sentido, os diferentes processos de separação por membranas podem realmente ser utilizados para o tratamento, reutilização e dessalinização da água, incluindo a microfiltração (MF)²¹, ultrafiltração (UF)²² e o processo de nanofiltração (NF)^{11,23}. No caso de membranas de ultrafiltração, diferentes materiais podem ser utilizados, tais como materiais cerâmicos²², polímeros²⁴ e óxidos²⁵⁻²⁷.

Neste sentido, tem surgido considerável interesse no uso da nanotecnologia no processo de tratamento da água. Nanomateriais funcionalizados podem ser usados em sistemas de água de pequena escala ou pontuais e, principalmente, em processos de separação utilizando membranas, uma vez que estas podem fornecer uma barreira contra vírus e bactérias, além da remoção da cor e turbidez^{4,7,10,12,14,16,28-31}.

Embora o custo no desenvolvimento de membranas tenha diminuído bastante durante a última década, esta tecnologia ainda não está difundida em todo o mundo, especialmente para as comunidades mais pobres. Atualmente, as membranas nanoporosas têm sido utilizadas devido à sua eficácia na remoção de contaminantes, sem a produção de subprodutos, principalmente em processos de tratamento de água para consumo e de águas residuais⁴.

2.4.2- Aplicação de membranas em processos de filtração de água

Bactérias com tamanhos entre 0,5 a 10 μm e protozoários e oocistos com tamanhos entre 3 a 15 μm podem ser removidos da água utilizando membranas de ultrafiltração³². A remoção de vírus pode ser atingida com membranas de UF desde que o tamanho do vírus esteja entre 30 a 300 nm ⁴. Neste sentido, SRIVASTAVA et al.¹⁹ mostraram a remoção de *Escherichia coli* da água, utilizando membranas de nanotubos de carbono (CNT). Nos seus estudos, os nanotubos de carbono atuaram como poros na membrana, o que proporcionava uma barreira adicional contra vírus e bactérias podendo ainda facilitar a melhoria dos métodos para desinfecção de água para o consumo. No entanto, na conclusão do trabalho os autores relataram a necessidade de algumas melhorias no método a fim de permitir a reutilização destas membranas, e também aumentar a sua resistência e durabilidade, para de garantir a sua estabilidade contra mudanças de pH e presença de altas concentrações de compostos químicos na água contaminada. Também foi mencionada a necessidade da otimização de custos para o desenvolvimento dessas membranas para ultra e nanofiltração de água potável¹⁹.

Embora o custo para produção de membranas porosas, de diferentes materiais, tenha diminuído bastante durante os últimos anos, a utilização deste tipo de tecnologia para purificação da água ainda não foi difundida pelo mundo,

especialmente para as comunidades mais pobres. Além disso, outras tecnologias vêm surgido e precisam ser exploradas. A maioria dos filtros desenvolvidos com essas membranas requerem a utilização de bombas para promover o fluxo, resultando no consumo de energia e aumentando o custo final do projeto devido ao alto custo de equipamentos auxiliares. Alternativamente, foram desenvolvidos sistemas que podem operar em baixas pressões, com a gravidade agindo para promover o fluxo através da membrana ^{12,28}

Desta forma, o processo deve ser adequadamente projetado, a fim de obter o fluxo desejado, buscando materiais e configurações adequadas para o desenvolvimento dessas membranas, a fim de viabilizar a sua aplicação.

PETER-VARBANETS et al.²⁹ listaram alguns processos de filtração com membranas que usam a gravidade para tratamento de água, como o LifeStraw Family de Vester-gaard Frandsen (Lausanne, Suíça), empresa que desenvolveu um sistema composto por membranas capilares de ultrafiltração que são colocados em uma altura elevada para criar uma pressão de aproximadamente 100-150 mbar.

Um dos maiores desafios durante a filtração utilizando membranas é a incrustação de partículas sólidas nos poros da membrana, o que leva à diminuição da permeabilidade da mesma devido à deposição de uma camada de resíduos (o chamado “bolo”) ou pelo bloqueio dos poros intermediários, total ou internos. As incrustações limitam os processos onde podem ser aplicadas essas membranas, uma vez que os procedimentos de limpeza frequente ou até mesmo de substituição são necessários. Os procedimentos de prevenção de incrustação geralmente incluem a aplicação regular de fluxo reverso e limpeza química. Tais medidas de prevenção requerem controle automatizado do processo, resultando no aumento dos custos do investimento⁴. Portanto, é importante estudar alternativas para reduzir a contaminação e, ao mesmo tempo, aumentar a permeabilidade e seletividade das membranas comerciais³³.

As membranas inorgânicas exibem uma combinação única de propriedades físicas e químicas que as membranas orgânicas não apresentam: podem ser utilizadas em temperaturas significativamente altas, têm melhor estabilidade estrutural, além de resistirem a ambientes quimicamente desfavoráveis e a ação de agentes microbiológicos.

Um material que apresenta características viáveis para aplicação em sistemas de ultrafiltração é o óxido de alumínio anódico poroso, também chamado de alumina anódica porosa – AAP, que possui nanoestrutura porosa auto ordenada.

Devido à sua inércia química, baixa toxicidade e estabilidade mecânica e outras propriedades interessantes, já têm sido utilizada em variadas aplicações^{27,34,35}. As características citadas acima já são utilizadas em elementos filtrantes preparados pela compactação de alumina e disponíveis no mercado. Porém, como já descrito, estes filtros só conseguem reter materiais particulados com dimensões maiores que 0,2 µm. Desta forma, é desejável obter um produto com as características positivas já descritas e que, além disso, retivesse frações da ordem do tamanho dos agentes patógenos.

Este sistema poderia ser obtido utilizando como um dos seus agentes filtrantes a alumina, porém preparada eletroquimicamente. A metodologia eletroquímica para o preparo de filmes de AAP para produzir meios porosos interconectados com tamanho médio tão pequeno quanto 0,1 µm de diâmetro já é consolidada.^{25,34,36-42}

2.4.3- Morfologia da alumina anódica porosa

A anodização consiste no processo de formação de um filme de óxido sobre certos metais por meio da imersão em um banho eletrolítico, onde o metal a ser anodizado é ligado ao polo positivo de uma fonte de tensão, transformando-se no anodo da cuba eletrolítica.

As anodizações de folhas de alumínio podem ser realizadas de forma potencioestática⁴³⁻⁴⁸ ou galvanostática^{49,50}. Na primeira, é fixado um potencial no qual a anodização é realizada e a variação da corrente é monitorada em função do tempo. Já na segunda, uma densidade de corrente fixa é empregada e monitora-se a variação do potencial em função do tempo de anodização.

A anodização é definida como um processo eletrolítico de passivação usado para criar ou aumentar a espessura de camadas de óxidos metálicos sobre a superfície de metais. O processo é chamado de anodização porque a porção a ser anodizada corresponde ao anodo de uma célula eletrolítica. O interesse na anodização de metais deve-se, principalmente, ao aumento na resistência do metal à corrosão, uma vez que é formada uma camada protetora de óxido metálico na superfície do material. Metais anodizados oferecem também outras vantagens como a melhor adesão de tintas e colas em relação aos materiais não anodizados, portanto, a formação de óxido na superfície do metal facilita o processo de coloração. A anodização é comumente usada na proteção do alumínio, que por sua vez é muito utilizado em escadas, aviões, bicicletas, aparelhos eletrônicos, construção civil, carros, janelas, dentre muitas outras aplicações.

Antes de 1950, já existiam patentes relacionadas à anodização de alumínio. É reconhecida como a primeira patente sobre o uso do tratamento anódico para proteção do alumínio e suas ligas da corrosão, uma patente britânica registrada em 1923, em nome de Bengough e Stuart.^{34,51,52}

O desenvolvimento da técnica de Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) levou a uma maior compreensão da morfologia da AAP. Em 1953, KELLER et al. observaram que a morfologia da AAP pode ser descrita como um arranjo de células hexagonais consistindo de uma camada tipo “barreira” e uma camada tipo “porosa”⁵³. No mesmo trabalho, foi demonstrada a relação entre o potencial aplicado e as características geométricas da estrutura

porosa. Este modelo foi a base para os estudos que permitiram uma melhor compreensão das propriedades físicas e químicas da AAP.

Em 1969, DIGGLE⁵⁴ escreveu sobre os aspectos estruturais dos filmes de alumina, com relação à incorporação de ânions e a quantidade de água no óxido, além de modelos teóricos dos mecanismos de formação do óxido do tipo “barreira” e do tipo “poroso”.

A morfologia da alumina anódica porosa auto-organizada produzida pela anodização do alumínio em soluções eletrolíticas específicas pode ser representada como um arranjo empacotado de células hexagonais organizadas, contendo um poro em cada célula conforme mostra a FIGURA 2.4.

As estruturas altamente ordenadas de alumina anódica porosa são frequentemente caracterizadas por determinados parâmetros geométricos, tais como diâmetro do poro (D_p), espessura da parede do poro (W), espessura da camada tipo barreira (B), distância interporo (D_c) e espessura da camada de óxido poroso (H). Estes parâmetros geométricos podem ser controlados através da alteração das condições de anodização e o diâmetro dos poros pode variar de alguns nanômetros até centenas de nanômetros.⁴³ A distância interporo (D_c) pode ser calculada a partir da transformada de Fourier 2D da estrutura hexagonal da imagem da vista do topo dos filmes de AAP. A transformada de Fourier 2D fornece informações únicas da periodicidade da estrutura no espaço recíproco.⁵⁵

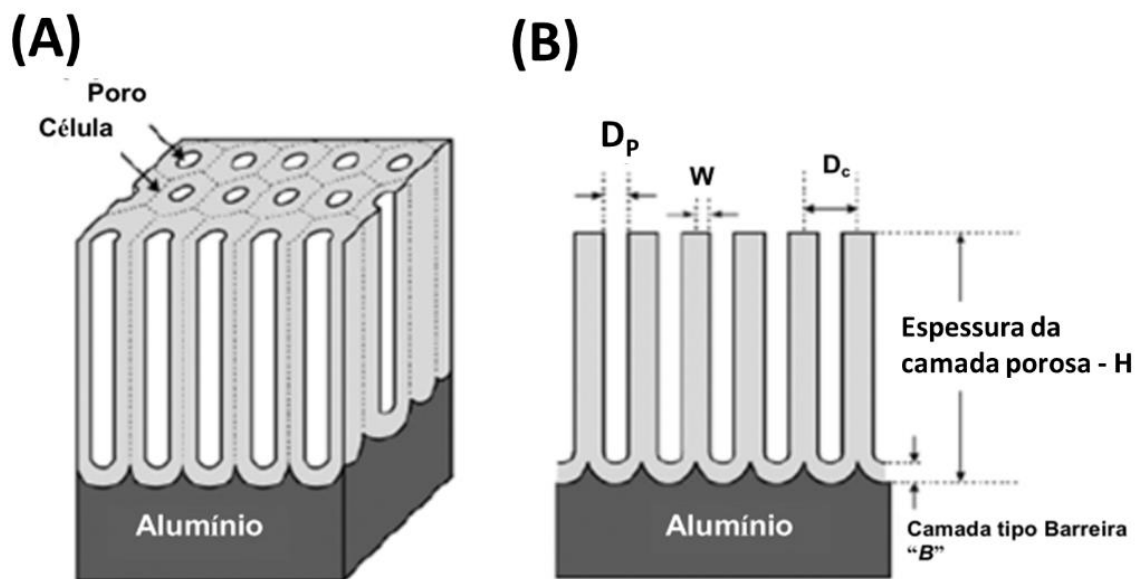


FIGURA 2.4- Estrutura da AAP (A). Vista da seção transversal da camada de óxido (B), sendo D_p : diâmetro do poro, W : espessura da parede do poro, D_c : distância interporo e B : espessura da camada tipo barreira. Adaptado de BUSTAMANTE⁵⁶

Recentemente, SULKA⁴³ apresentou uma extensa revisão sobre a formação dos filmes de AAP.

THOMPSON e WOOD⁵⁷ escreveram trabalhos sobre o mecanismo de crescimento de filmes de alumina utilizando Microscopia Eletrônica de Transmissão (MET). Os autores usaram métodos de marcadores para a determinação do número de íons Al^{3+} e O^{2-} transportados e deduziram a forma como ocorre a distribuição aniônica dentro do filme de óxido durante a anodização⁵⁷⁻⁵⁹. Neste contexto, um dos artigos mais citados sobre anodização de alumínio para obter alumina porosa foi publicado por O'SULLIVAN e WOOD⁶⁰, em 1970.

O mecanismo de formação da AAP tem tido a atenção de muitos grupos de pesquisa⁶⁰⁻⁶⁶. De uma maneira geral, a instabilidade do campo elétrico

na interface óxido/metal é considerada a responsável pela formação dos poros no óxido de alumínio do tipo “barreira”. Os autores defendem que a modelagem teórica do mecanismo de formação de poro em alumina é análoga àqueles para outros materiais porosos que podem ser obtidos via um tratamento anódico como, por exemplo, as nanoestruturas porosas de sílica.³⁴

Baseando-se em um processo de anodização em duas etapas, a formação de filmes de óxidos de metais válvula crescidos anodicamente, especialmente sobre alumínio, foi retomada por MASUDA e FUKUDA em 1995, devido a possibilidade de se utilizar os poros que se formam como *template* para o crescimento de nanoestruturas⁶⁷. Desta forma, o estudo da formação e a caracterização destes materiais é uma área atual e relevante, tanto do ponto de vista fundamental como do ponto de vista da preparação de materiais nanoestruturados.

A anodização do alumínio em duas etapas, sob condições definidas, leva à formação de uma membrana com elevado grau de ordenamento. Sua estrutura é descrita como um arranjo de células hexagonais auto-ordenadas contendo um poro central, cujo diâmetro varia de 20 a 400 nm. Os aspectos geométricos das membranas dependem do eletrólito, temperatura do banho de anodização, potencial ou densidade de corrente aplicada. Esta descoberta foi um marco na preparação de estruturas de alumina porosa com estreita distribuição de tamanho de poro e distância interporos.⁶⁷

Na FIGURA 2.5 estão representadas a vista superior e lateral da alumina anódica porosa, além das imagens de microscopia.

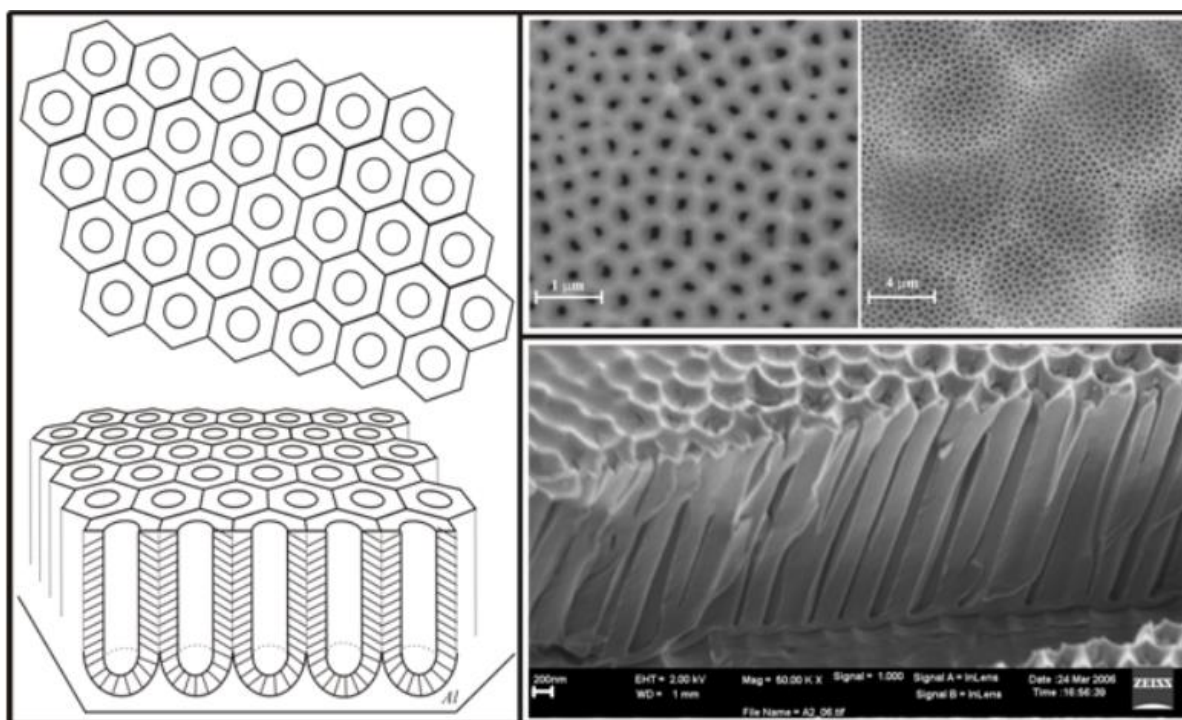


FIGURA 2.5- Representação esquemática da estrutura da alumina anódica porosa. Imagens de microscopia eletrônica da vista superior e da vista lateral.²⁰

De fato, diversos grupos de pesquisa utilizam o método relatado por MASUDA e FUKUDA⁶⁷, que consiste na anodização potenciostática em duas etapas (*two-step anodization*), para a preparação de alumina anódica porosa. Isto reforçou a importância das pesquisas básicas no que tange à busca por uma compreensão profunda dos mecanismos envolvidos na formação de uma estrutura com tal ordenamento.

A importância dos filmes de alumina porosa com poros de tamanho e arranjo bem definido pode resultar em inúmeras possibilidades de aplicação destes materiais como, por exemplo, *templates* para sínteses e/ou catálise^{44,68-73}, separação molecular^{11,74}, adsorção^{75,76}, biosensores⁷⁷⁻⁷⁹, armazenamento de energia^{80,81}, distribuição de medicamentos^{82,83}, membranas para separação de gases^{27,84,85}, e como membranas inorgânicas para ultrafiltração de água^{24,32,86}, em *templates* para a eletrodeposição de nanofios com propriedades

magnéticas diferenciadas ^{80,87,88}, de nanofios de semicondutores ⁸⁹⁻⁹¹, de nanotubos de carbono ^{92,93}, de nanodispositivos ⁹⁴⁻⁹⁶, de cristais fotônicos ^{97,98}, de “quantum dots” ⁹⁹⁻¹⁰², de baterias ¹⁰³⁻¹⁰⁵, de materiais luminescentes ^{106,107} e de membranas para ultramicrofiltração ^{23,28-30,108}.

Apesar da facilidade de preparação desses filmes e do fato que muitos problemas de caráter fundamental foram estudados neste período inicial (década de 50 até o início da década de 80) ainda não existe na literatura uma proposta geral tanto para o mecanismo de crescimento quanto para o transporte de carga através do filme.

De um modo geral, os materiais estruturados são obtidos por um processo de preparação que envolve duas etapas. Na primeira etapa, é preparado um filme de óxido anódico, que é dissolvido em uma mistura de ácidos fosfórico e crômico. Após esta etapa, é então preparado um novo filme de óxido, também anódico, o qual se arranja naturalmente em uma estrutura hexagonal. Normalmente, os filmes são preparados potenciostaticamente, isto é, em potencial constante. Esta metodologia de preparação evidencia o papel das tensões existentes no alumínio metálico sobre a estrutura dos poros formados na alumina. Neste sentido, BOCCHETTA et al.¹⁰⁹ estudaram o efeito das condições de preparação sobre a morfologia dos filmes de óxido anódico. Os autores observaram que a morfologia externa depende fortemente da temperatura e da carga total que passa durante a formação dos filmes de óxido. A morfologia do filme na interface metal-filme, por outro lado, depende fundamentalmente do potencial aplicado durante a formação do óxido. Convém ressaltar que neste trabalho os autores não discutiram o efeito do eletrólito sobre a morfologia do mesmo.

Os eletrólitos mais populares para anodização são as soluções aquosas de ácido crômico, sulfúrico, oxálico, ácido cítrico e tartárico^{43,110}. Já é bem conhecido na literatura, que é necessário a utilização de um eletrólito que

dissolva parcialmente o filme de óxido durante o crescimento. Com esta finalidade, ácidos como, por exemplo, o fosfórico, o oxálico e o sulfúrico têm sido utilizados. Por outro lado, podem ser obtidos filmes não porosos em solução de adipato de amônio⁴⁹ ou em solução de H_3BO_3 neutralizado com NH_4OH ^{43,45,111}. O ácido crômico, sendo um forte agente oxidante, é de interesse devido às peculiaridades do processo de anodização e as propriedades dos óxidos obtidos.

Em geral, a anodização do alumínio pode resultar em dois tipos diferentes de filmes de óxido: um filme anódico tipo “barreira”, e um filme de óxido poroso. A camada de óxido barreira é uma camada de óxido de espessura uniforme que suporta um alto campo elétrico.

O filme de óxido do tipo barreira é uma camada extremamente fina, compacta e sem estrutura porosa. Estes filmes podem ser formados por anodização em soluções neutras ($5 \leq \text{pH} \leq 7$), onde a camada de óxido anódico não é quimicamente afetada e permanece praticamente insolúvel. O grupo de eletrólitos utilizados para a formação de filmes anódicos tipo “barreira” inclui ácido bórico, borato de amônio, tartarato de amônio, tetraborato em etileno glicol, ácido perclórico com etanol e alguns eletrólitos orgânicos, como ácido cítrico, ácido málico, ácido succínico e ácido glicólico⁴³. Já os filmes de óxido poroso foram obtidos principalmente a partir da anodização do alumínio em soluções ácidas, como H_2SO_4 , $\text{H}_2\text{C}_2\text{O}_4$, H_3PO_4 e ácido crômico (H_2CrO_4), onde o filme de óxido poroso resultante é apenas moderadamente solúvel ^{49,110,112–114}. A transição de um filme do tipo barreira para o tipo poroso ocorre facilmente. O tempo de anodização é um fator importante e responsável pelo desenvolvimento de uma estrutura porosa.

REHIM et al. ¹¹⁵ relata a obtenção de filmes galvanostáticos de AAP, utilizando ácido crômico, onde a anodização produz um crescimento típico de óxido de barreira, uma vez que a cinética revela uma subida linear do potencial, e, portanto, um aumento da sua espessura, com o tempo até o momento de

oscilação potencial dramático (para o momento da ruptura elétrica do filme). Filmes do tipo barreira de alumina anódica crescem, sob um campo elétrico alto, a partir da migração de íons O^{2-} através do filme de óxido pré-existente e a sua reação com o Al na interface metal/óxido. O provável mecanismo de movimento iônico é a substituição de íons de oxigênio pelo alumínio.

Dados experimentais mostraram que os efeitos da temperatura e da concentração sobre o diâmetro dos poros podem ser totalmente diferente para condições potencioestáticas ou galvanostáticas de anodização^{34,43,50,60}.

Quando aplicado um potencial constante durante a anodização do alumínio, em solução de H_3PO_4 , o diâmetro do poro obtido depende da temperatura e a concentração do eletrólito não influencia significativamente o diâmetro dos poros⁶⁰.

Portanto, as características estruturais da AAP dependem das condições experimentais em que foi realizada a anodização. Na **Erro! Fonte de referência não encontrada.** é mostrado um diagrama esquemático representando os parâmetros químicos e eletroquímicos que podem influenciar nas características estruturais e morfológicas dos filmes de alumina anódica porosa.

2.5- Cinética de Formação da AAP

Arranjos hexagonais de nanoporos podem facilmente ser formados por anodização do alumínio aplicando uma determinada corrente elétrica constante (regime galvanostático) ou um potencial elétrico constante (regime potencioestático). O crescimento do óxido anódico inclui quatro etapas que são facilmente detectáveis através do monitoramento da dependência da corrente ou potencial com o tempo de anodização¹¹⁰. A FIGURA 2.6 traz uma ilustração esquemática da cinética de crescimento da AAP em regime galvanostático (A) e regime potencioestático (B), juntamente com suas zonas de anodização (C).¹¹⁰

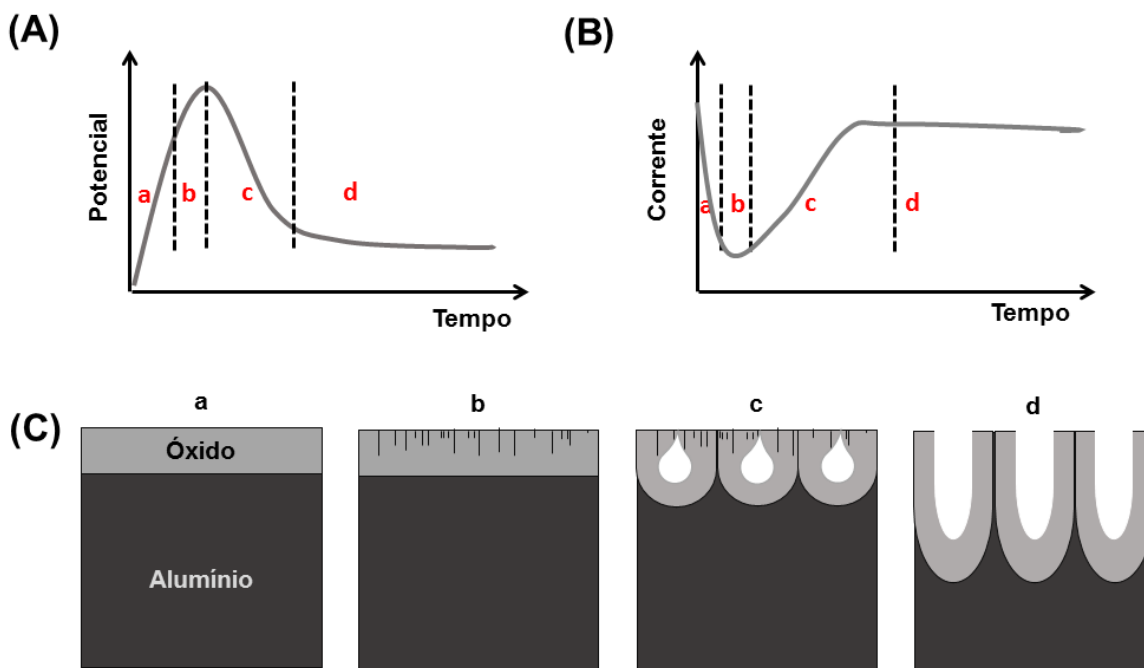


FIGURA 2.6- Curvas de crescimento da AAP em regime galvanostático (A) e potenciostático (B), com suas zonas de anodização, a, b, c, d. (C) Estágios de desenvolvimento dos filmes de alumina anódica porosa.¹¹⁰

Quando uma corrente constante é aplicada para o crescimento da AAP, o potencial aumenta com o tempo até atingir um máximo, e depois diminui gradualmente até atingir um potencial estacionário (FIGURA 2.6(a)).

Por outro lado, quando um potencial constante é aplicado para o crescimento da AAP, a corrente sofre uma queda rápida com o tempo de anodização até atingir um mínimo, e depois aumenta gradualmente até atingir um valor estacionário (FIGURA 2.6 (B)).

A FIGURA 2.7 mostra as curvas cinéticas de crescimento das estruturas de AAP anodizadas em regime galvanostático em $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ de H_2SO_4 (A); $0,2 \text{ mol L}^{-1}$ de $\text{H}_2\text{C}_2\text{O}_4$ (B); e $0,4 \text{ mol L}^{-1}$ de H_3PO_4 (C) aplicando densidades de corrente de 25, 10 e 5 mA cm^{-2} , respectivamente, junto com suas zonas de

anodização 1, 2, 3, 4 e uma ilustração esquemática do desenvolvimento da AAP para cada zona de anodização.

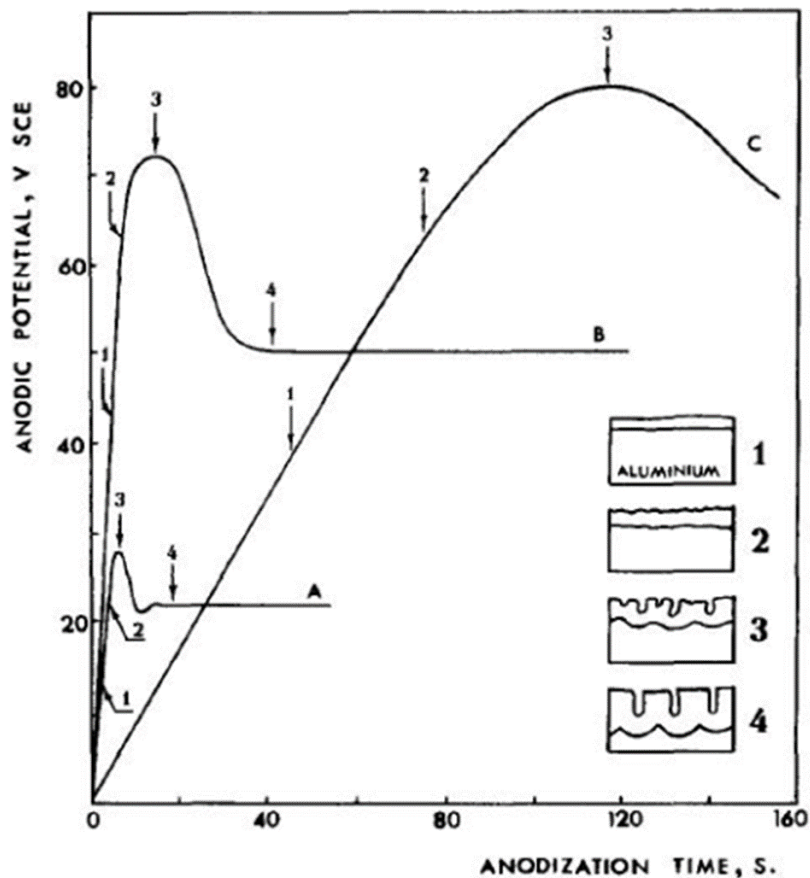


FIGURA 2.7- Curvas cinéticas de crescimento das estruturas de AAP anodizadas em regime galvanostático em $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ de H_2SO_4 (A); $0,2 \text{ mol L}^{-1}$ de $\text{H}_2\text{C}_2\text{O}_4$ (B); e $0,4 \text{ mol L}^{-1}$ de H_3PO_4 (C) aplicando densidades de corrente de $25, 10$ e 5 mA cm^{-2} , respectivamente, junto com suas zonas de anodização 1, 2, 3, 4 e uma ilustração esquemática do desenvolvimento da AAP para cada zona de anodização. ¹¹⁶

Na etapa 1, uma camada de óxido começa a ser formada. Logo depois, na etapa 2, aparecem algumas falhas e rachaduras na superfície do óxido formado e na etapa 3 aparecem poros precursores muito irregulares. Finalmente,

na etapa 4, uma estrutura porosa em estado estacionário é formada, constituída por células cilíndricas muito juntas, cada uma contendo um poro no centro e separado do alumínio por uma camada de óxido tipo barreira de forma semiesférica.

Como pode ser observado na FIGURA 2.8, a aparência destas curvas cinéticas revela os estágios característicos de desenvolvimento da estrutura de AAP, independentemente da temperatura do eletrólito, isto é, elas apresentam uma queda na densidade de corrente até atingir um mínimo, para logo aumentar e permanecer constante. O perfil das curvas cinéticas é independente do potencial de anodização⁴³.

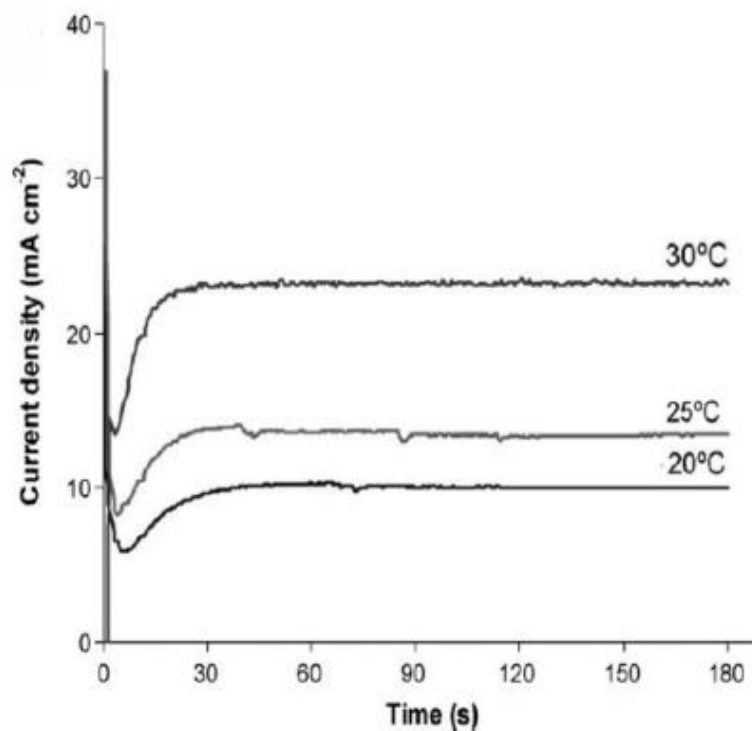


FIGURA 2.8- Curvas cinéticas de crescimento da AAP anodizadas em regime potencioestático para 0,3 mol L⁻¹ H₂C₂O₄ em diferentes temperaturas.⁴³

A anodização no regime potencioestático tem sido comumente utilizada para a fabricação de filmes de AAP altamente ordenados. Recentemente,

ZARASKA et al.^{35,118} reportaram curvas cinéticas de crescimento da AAP para H_2SO_4 , $\text{H}_2\text{C}_2\text{O}_4$ e H_3PO_4 . A FIGURA 2.8, mostra curvas cinéticas de crescimento da AAP anodizadas em $0,3 \text{ mol L}^{-1}$ de $\text{H}_2\text{C}_2\text{O}_4$ em regime potenciostático e para diferentes temperaturas.

Em 2002, REHIM et al.⁴⁹, apresentaram uma revisão sobre anodização galvanostática de alumínio em soluções ácidas. Foram realizados estudos da cinética de crescimento de filmes anódicos formados sobre a superfície de alumínio de alta pureza por anodização em condições galvanostáticas em densidades de corrente na faixa de $5 \text{ a } 75 \text{ mA cm}^{-2}$ em soluções de ácido crômico, sulfúrico, fosfórico, cítrico, tartárico e oxálico, a diferentes temperaturas. Neste trabalho, foi demonstrado que a solução de ácido crômico produz uma típica curva de crescimento de óxido barreira em qualquer temperatura e o crescimento de óxido nas outras soluções de anodização ocorreu de diferentes maneiras, dependendo da temperatura. Um aumento da camada de óxido barreira foi observado em temperaturas inferiores a 30°C . Acima desta temperatura, o crescimento da camada combinada de óxido barreira/poroso é observado. Em todos os casos, a taxa de crescimento da camada de óxido barreira, aumenta com o aumento da densidade de corrente de anodização e concentração de ácido, ao mesmo tempo que esta diminui com o aumento da temperatura.

PARKHUTIK et al.^{116,117} investigaram a cinética do crescimento e da morfologia e estrutura de filmes anódicos formados por anodização do alumínio em ácido crômico e/ou ácido sulfúrico sob condições galvanostáticas. Os autores relataram que, em baixas densidades de corrente, o óxido poroso é formado, enquanto que em maiores densidades de corrente, há promoção da formação de óxidos tipo barreira. Os óxidos anódicos formados nestas soluções são amorfos e contêm uma mistura de AlO_4 tetraédricos e AlO_6 octaédricos. Também foi estudada a cinética de crescimento de filmes porosos anódicos em alumínio sob condições galvanostáticas em soluções de ácido, $15\% \text{ w/v}$ H_2SO_4 e H_3PO_4 . Nesse

trabalho definiu-se que taxa de crescimento da espessura dos filmes de AAP aumenta com o tempo de anodização, a densidade de corrente e a temperatura do banho.

ZARASKA et al.³⁵ realizou uma série de ensaios potencioestáticos em duas etapas, em diferentes condições, a fim de investigar a influências dos parâmetros da anodização sobre a taxa de crescimento dos filmes de óxido.

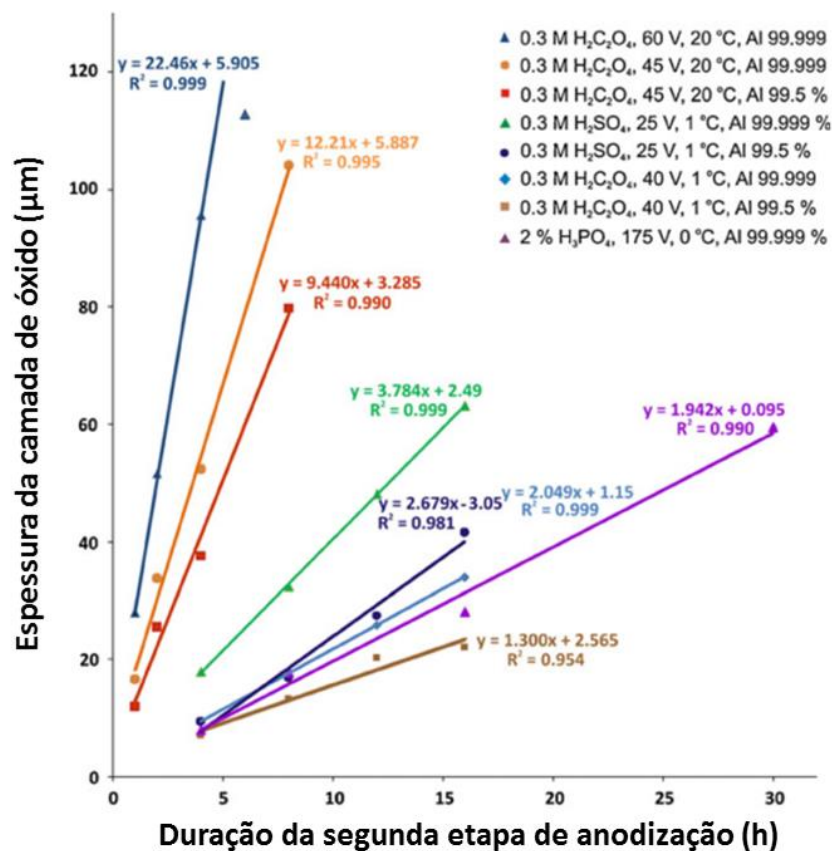


FIGURA 2.9- A dependência da espessura da camada de óxido sobre a duração da segunda etapa de anodização é ilustrada, para diferentes condições de anodização e materiais de partida, com a finalidade de estudar a influência dos parâmetros da anodização sobre a taxa de crescimento do filme de óxido.³⁵

A dependência da espessura da camada de AAP sobre a duração da segunda etapa de anodização é mostrada na FIGURA 2.9, para várias condições de anodização e materiais de partida.

2.6- Nanopartículas de prata (nAg)

Modificações químicas na membrana, como pela adição de espécies químicas na composição da membrana ou a “decoração” dos poros, têm sido propostas a fim de aumentar a permeabilidade da membrana durante a filtração, mantendo propriedades esterilizantes. Devido ao seu efeito antimicrobiano, a adição de partículas de TiO_2 na estrutura e na superfície da membrana foi proposta como um método eficaz para diminuir os problemas causados pelo entupimento.^{12,28,29,33}

Muitos filtros cerâmicos produzidos comercialmente são impregnados com prata coloidal, que serve como uma etapa adicional de desinfecção e evita a formação de biofilme sobre o filtro, diminuindo os danos causados pelo entupimento.⁷

As nanopartículas de prata com efeitos antimicrobianos podem interagir com microrganismos por meio de uma variedade de mecanismos. Os principais mecanismos antimicrobianos relatados na literatura encontram-se resumidos na FIGURA 2.10¹⁰.

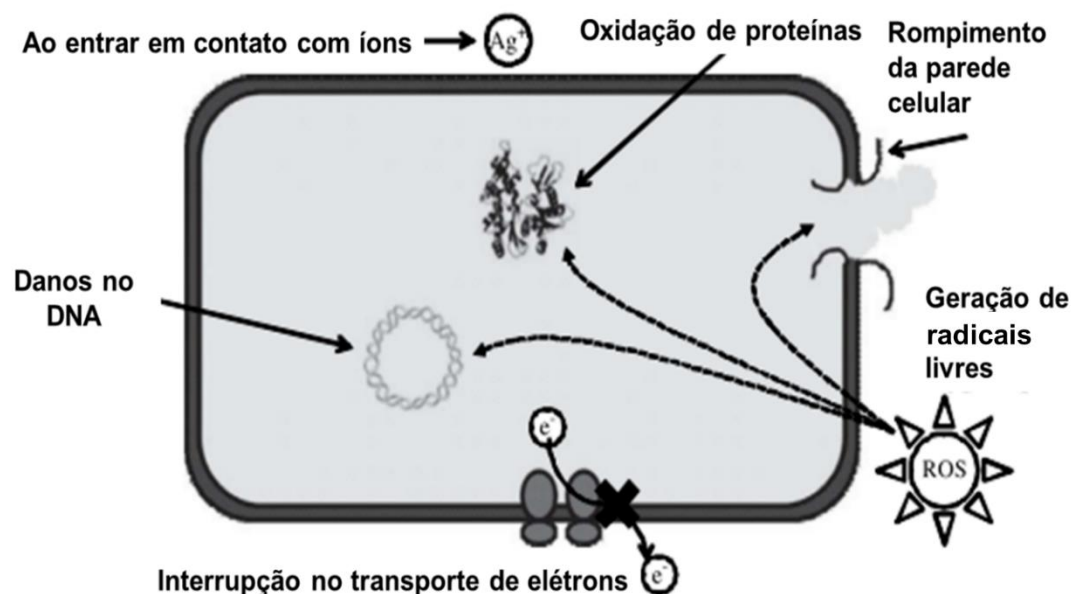


FIGURA 2.10- Vários mecanismos de ação antimicrobiana exercida por nanomateriais. Adaptado de LI et al. ¹⁰

As nAg podem interagir diretamente com as células microbianas, por exemplo, interrompendo a transferência de elétrons trans-membrana, penetrando na célula, oxidando os componentes celulares, ou produzindo produtos secundários (por exemplo, radicais livres ou íons de metais pesados dissolvidos), que causam danos irreversíveis à estrutura celular.^{7,10}

A prata e alguns outros metais são usados há séculos para armazenar água potável, e as propriedades bactericidas de pequenas quantidades desses metais são bem conhecidas.^{17,119} No entanto, o mecanismo de toxicidade da prata ainda é desconhecido. Algumas hipóteses sugerem que os íons de prata interagem com os grupos tiol das proteínas, resultando na inativação de enzimas responsáveis pela respiração da célula, levando ao acúmulo de radicais livres.¹²⁰ Também já foi proposto que os íons Ag^+ impedem a replicação do DNA e afetam a estrutura e permeabilidade da parede celular.^{13,16,17,119,121}

Muitos filtros cerâmicos produzidos comercialmente contêm prata coloidal com a finalidade de ser um elemento adicional na desinfecção da água, além de evitar a formação de biofilme sobre o filtro.

Em relação às nAg, alguns mecanismos têm sido indicados para explicar a maior intensidade da propriedade antimicrobiana das nanopartículas em relação ao material, como: (1) a adesão das nanopartículas à superfície da célula altera as propriedades da membrana. As nanopartículas de prata degradam os lipopolissacarídeos que formam a parede celular e acumulam-se dentro da membrana através da formação de “buracos”, provocando grande aumento na permeabilidade da membrana; (2) nAg de prata penetram no interior da célula, resultando em danos ao DNA e (3) a dissolução das nAg resulta em íons Ag⁺ nocivos.¹²²

Propriedades físico-químicas desempenham um importante papel na atividade antimicrobiana das nAg. Em geral, as partículas com menos de 10 nm são mais tóxicas para as bactérias, tais como *Escherichia coli* e *Pseudomonas aeruginosa*.¹²² Nanopartículas de prata de 1 a 10 nm inibem a ligação de certos vírus a células hospedeiras.

A área superficial das nanopartículas de prata é muito maior resultando assim em maior eficácia como material bactericida. Nanopartículas de prata já foram utilizadas em aplicações envolvendo a filtração de água. Aplicações pontuais de filtração incluem nanopartículas de prata em espumas de poliuretano e filtros de cerâmica.^{10,16,17,122}

Em relação aos estudos de eletrodeposição de nanopartículas de prata em alumina, até o momento, a preparação de grandes quantidades de materiais heterogêneos contendo monodispersões de nanopartículas está se tornando um dos gargalos que impedem o desenvolvimento de dispositivos comerciais. Nesse sentido, muitas referências podem ser encontradas na literatura que descrevem os métodos de preparação de nanopartículas que só permanecem monodispersas e

não incorporados às matrizes rígidas. Além disso, é bastante comum, que as nanopartículas, devido à sua grande superfície de contato, possam induzir processos de agregação.^{44,123-125} No presente estudo, onde o caráter individual das nanopartículas é uma característica crucial para a aplicação, outros métodos para obtenção de nanopartículas devem ser empregados.

ESTEBAN-CUBILLO et al.¹²⁴ estudaram a possibilidade de preparar uma grande quantidade de nanopartículas metálicas suportadas em matrizes dielétricas (pó de alumina), a fim de evitar processos de aglomeração e possíveis problemas de saúde que podem ser causados quando esses sistemas são utilizados em produtos comerciais ligados a consumo humano, como a purificação de água.

Neste sentido, alguns pesquisadores já desenvolveram métodos para deposição de nanopartículas de prata em filmes de AAP, para os mais diversos fins: catálise¹²⁶⁻¹²⁸, suporte para medidas de Raman¹²⁹ e próteses¹²².

WANG et al.¹²⁸ depositaram nanopartículas de prata uniformemente nos poros da AAP, utilizando um método químico. Como precursor, íons Ag^+ foram complexados com amônia e depois, houve redução dos íons Ag^+ adicionando uma quantidade em excesso de acetaldeído.

ZHICHENG LU et al.¹²⁹ desenvolveram um método para a preparação de filmes de alumina decorados com nanopartículas de prata através da infiltração de $\text{Ag}(\text{NH}_3)_2^+$, e em seguida, reduzindo a $\text{Ag}(\text{NH}_3)_2^+$ a Ag^0 utilizando o formaldeído. O ciclo de deposição foi repetido algumas vezes, de forma a decorar apenas a superfície dos filmes de alumina.

3- Objetivos

O presente trabalho destina-se a contribuir no desenvolvimento de tecnologias alternativas para purificação de água, através do desenvolvimento de membranas de ultrafiltração de água.

Primeiramente será apresentado um estudo sobre a obtenção de membranas de alumina anódica porosa – AAP através da anodização galvanostática de folhas de alumínio de baixo custo usadas para proteção de fogão.

Um planejamento fatorial 2^3 foi realizado para a otimização dos parâmetros e envolveu os seguintes fatores: densidade de corrente anódica, tipo de eletrólito e concentração dos ácidos utilizados como eletrólitos. Deseja-se controlar o tamanho de poro bem como a espessura da membrana, além de obter um sistema de baixo custo e de fácil implementação.

Após a otimização dos parâmetros para obtenção das membranas de AAP a partir do substrato escolhido, a primeira parte deste trabalho consiste no desenvolvimento de membranas porosas com poros de até $0,22 \mu\text{m}$ de diâmetro, que possibilitam a retenção de bactérias cujo tamanho médio é cerca de $0,2 \mu\text{m}$.

Uma outra possível abordagem é a deposição de nanopartículas de prata nas paredes internas dos poros da AAP. Neste caso, mesmo utilizando uma membrana de alumina com diâmetro de poros maiores, a ação bactericida da prata destruiria os agentes patogênicos.

Como já mencionado, as metodologias existentes hoje permitem a construção de membranas de AAP com poros de cerca de $1 \mu\text{m}$ de diâmetro. Estes poros não são retos (no sentido do fluxo) levando a uma significativa perda de carga durante o processo de purificação da água. A utilização de membranas com poros maiores que $0,22 \mu\text{m}$ tem como principal vantagem sobre a descrita acima,

onde o tamanho de poro impede a passagem de bactérias, a menor susceptibilidade ao entupimento.

Utilizando os resultados obtidos, na segunda parte do trabalho, será desenvolvida uma membrana porosa com poros de diâmetro maior, que ao ser utilizada como filtro para ultrafiltração, espera-se que também seja eficaz na remoção dos agentes patogênicos, através da ação bactericida da prata depositada sobre as paredes dos poros.

Em todas as etapas, será avaliada principalmente a capacidade dessas membranas na retenção de bactérias, com e sem a adição de nanopartículas de prata, nesse caso, a fim de otimizar o fluxo de água dessas membranas, visando a aplicação no protótipo.

4- MATERIAL E MÉTODOS EXPERIMENTAIS

4.1- Técnicas Empregadas

4.1.1- Anodização

A técnica de anodização galvanostática será empregada neste trabalho em duas etapas, sendo que a densidade de corrente utilizada será uma das variáveis do planejamento fatorial para investigar a sua influência sobre as membranas obtidas.

4.1.2- Planejamento Fatorial

Planejamento fatorial é uma ferramenta estatística que proporciona ao pesquisador estimar uma propriedade de interesse, podendo esta ser o rendimento de uma reação, por exemplo, a concentração de reagentes para fornecer um determinado produto, ou até mesmo a porosidade de uma membrana ou seu fluxo. Essa propriedade de interesse é chamada de resposta, e as variáveis que influenciam esta resposta são chamadas de fatores. A função que descreve o nível dessa influência é chamada de superfície de resposta. O objetivo final é descobrir quais os níveis desses fatores que produzem a resposta adequada à investigação que está sendo realizada¹³⁰.

As variáveis podem se influenciar mutuamente e o valor mais adequado para uma variável pode depender do valor da outra, ou seja, ocorre interação entre os fatores. Portanto, são muitas as informações que podem ser extraídas de um sistema. Usando planejamentos experimentais pode-se extrair do sistema em estudo o máximo de informação útil, com um número mínimo de experimentos.

Neste trabalho, foram empregados dois planejamentos fatoriais, um 2^4 para mapear o sistema e um 2^3 para analisar as variáveis mais significativas. Um

total de 16 e 8 experimentos foram realizados nestes dois estudos, respectivamente. Os fatores investigados foram a densidade de corrente – empregada na anodização galvanostática – o tipo do eletrólito (ácido fosfórico ou oxálico), a concentração deste último, a temperatura e o tempo de anodização. As respostas investigadas foram a porosidade das membranas, seus fluxos e suas espessuras após as anodizações galvanostáticas, em duplicata.

De modo a se estudar as condições de obtenção de filmes de alumina porosa com poros de tamanho controlado, um planejamento fatorial foi montado com a finalidade de se estudar quais fatores são mais relevantes. Esta etapa foi importante, pois para este tipo de alumínio de baixa pureza, não são encontradas na literatura condições que sejam aplicadas diretamente a este caso. Embora a anodização potencioestática forneça filmes com redes porosas mais uniformes, a anodização galvanostática foi preferida neste trabalho por obter mais filmes espessos em tempos menores, o que reduz os custos com gastos energéticos na produção das membranas. Deste modo, foi realizado um planejamento fatorial 2^3 com os seguintes fatores: concentração do eletrólito, tipo de eletrólito e densidade de corrente. Estes 3 fatores são tidos como mais influentes na ordenação dos poros. A primeira amostra escolhida foi uma folha de alumínio vendida comercialmente em rolos de 30 cm x 7,5 m com espessura de 12 μm .

Em seguida, foi analisado o efeito do tempo de anodização e a necessidade de eletropolimento e de tratamento térmico nas membranas obtidas. Além disso, também foi investigada a possibilidade de se usar outros tipos de alumínio vendidos comercialmente e, portanto, com um grau de pureza inferior. Foram testadas as folhas de alumínio empregadas na confecção de latas de refrigerante, as usadas como protetor de fogão e como embalagem de alimentos.

Durante a análise quimiométrica dos dados obtidos, após escolha do melhor substrato a ser utilizado para fabricação das membranas, três respostas foram estudadas, também utilizando um planejamento fatorial: diâmetro dos

poros obtidos (D_p), espessura das membranas (H) e fluxo de água (ϕ), como é mostrado na TABELA 4.1.

TABELA 4.1- Planejamento Fatorial 2^3 para obtenção da melhor membrana para a aplicação.

Variáveis	Fatores	Valores	
		-1	1
1	Densidade de corrente (mA cm^{-2})	3	8
2	Concentração eletrólito (mol L^{-1})	0,1	0,5
3	Tipo eletrólito	Ácido Fosfórico	Ácido Oxálico

PLANEJAMENTO FATORIAL 2^3				RESPOSTAS
Experimento	Fator 1	Fator 2	Fator 3	Diâmetro do poro (μm)
	Densidade de corrente (mA cm^{-2})	Concentração do eletrólito (mol L^{-1})	Tipo de Eletrólito	
1	-1	-1	-1	Espessura (μm)
2	1	-1	-1	
3	-1	1	-1	
4	1	1	-1	
5	-1	-1	1	Fluxo (L h^{-1})
6	1	-1	1	
7	-1	1	1	
8	1	1	1	

Foram realizados oito experimentos ($2^3 = 8$ experimentos) e os efeitos principais e efeitos cruzados (entre dois ou três fatores) foram estimados a fim de se obter a melhor condição experimental para fabricação das membranas de AAP para filtração de água. Os ensaios foram realizados em duplicata e a

distribuição t de Student com 8 graus de liberdade ($\nu = 8$) e intervalo de confiança de 95% (0,025), isto é, 2,306, foi utilizada para calcular o limite de confiança e o desvio padrão (DP) associado a cada resposta do planejamento fatorial.

4.1.3- Microscopia

A caracterização morfológica das membranas de alumina anódica porosa foi realizada por microscopia eletrônica de varredura (MEV), utilizando um microscópio ZEISS, modelo DSM-940A, do Laboratório de Caracterização Morfológica do Laboratório Interdisciplinar de Eletroquímica e Cerâmica - LIEC da Universidade Federal de São Carlos – UFSCar.

As amostras utilizadas foram obtidas a partir dos experimentos gerados no planejamento fatorial quando se alteravam condições como a densidade de corrente, tipo de eletrólito e concentração do ácido. A análise da vista superior, inferior e lateral das membranas não requer nenhum tratamento especial nas amostras.

Para determinação do diâmetro dos poros (D_p) e espessura das membranas (H), foram utilizadas as imagens da vista superior e lateral, respectivamente.

4.1.4- Ensaio microbiológico

O ensaio microbiológico consiste em verificar a eficácia das membranas de alumina anódica porosa na retenção de bactérias de uma solução de água contaminada. Neste sentido, as amostras de “água contaminada” foram preparadas utilizando a bactéria *Escherichia coli*, de acordo com a norma 62 do Ministério da Agricultura ¹³¹ que oficializa os métodos analíticos para análises microbiológicas para controle de produtos de origem animal e água.

Para realização dos testes, um funil de vidro de borosilicato com placa de vidro sinterizado (Merck-Millipore®, modelo XX15 047 00), de 47 mm de diâmetro, foi utilizado como sistema de filtração a vácuo, ilustrado na FIGURA 4.1. A bactéria *Escherichia coli* foi escolhida para realização desse ensaio por ser um dos agentes patogênicos mais comumente encontrados na água para o consumo humano.¹³²

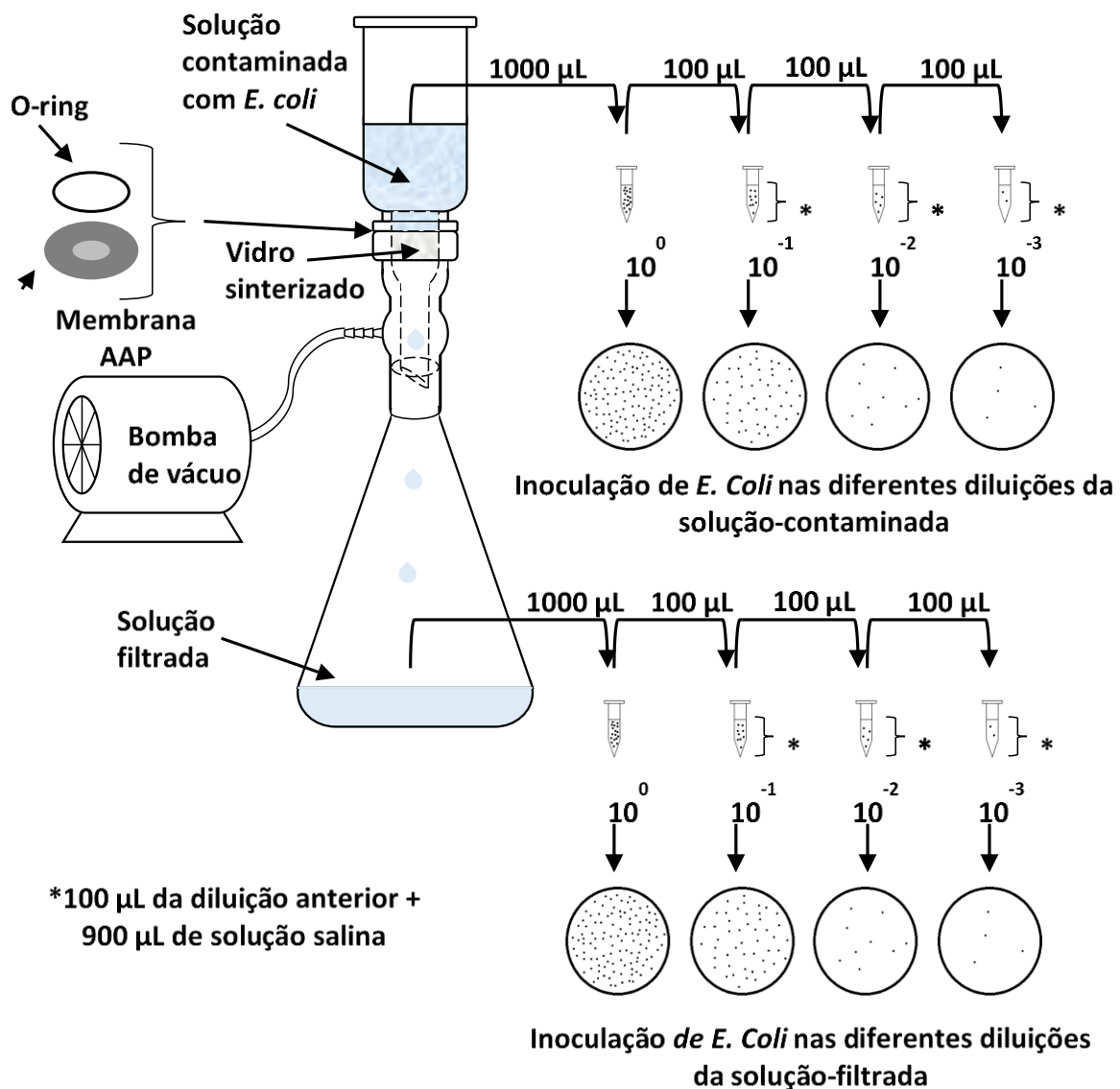


FIGURA 4.1- Sistema de filtração para teste biológico e metodologia de diluição para a inoculação das bactérias.

O sistema de filtração, adquirido especialmente para realização dos ensaios microbiológicos, foi autoclavado e montado com a membrana de alumina anódica porosa e a seguir a solução contaminada com *Escherichia coli* foi filtrada utilizando este sistema. O filtrado e a solução filtrante foram analisados por meio de cultura de bactérias em placas de ágar-ágar. Este meio é bastante empregado em microbiologia como meio sólido de cultura de bactérias. As placas foram deixadas a 60°C em estufa por 24 h para crescimento das colônias e posterior análise da eficiência da retenção de microrganismos pelas membranas.

4.1.4.1- *Microrganismo*

Para a realização dos experimentos foram utilizadas as cepas de *Escherichia coli* BL21 transformadas com o plasmídeo pET28a, que contém o gene que confere resistência ao antibiótico canamicina. Todos os testes foram realizados na presença de antibiótico canamicina, a fim de evitar alguma contaminação que poderia dificultar a análise dos resultados.¹³³

As cepas foram conservadas em criotubos com meio Luria Bertani (LB) com 10% (v/v) de glicerol e mantidos em ultra freezer a -80°C.

4.1.4.2- *Meios de Cultivo*

Para o crescimento do microrganismo, dois diferentes meios foram utilizados com finalidades específicas: meio LB líquido e meio LB sólido.

O meio LB líquido foi utilizado para manutenção e crescimento das bactérias.

O meio LB sólido foi utilizado durante os ensaios quando era necessário realizar a determinação da concentração de células viáveis (em unidades formadoras de colônias -UFC- por mL de meio de cultivo).

A composição dos meios de cultura utilizados é apresentada na TABELA 4.2.

TABELA 4.2- Composição do meio Luria Bertani (LB).

Componente	Concentração (g L⁻¹)
Triptona	10
Extrato de levedura	5
NaCl	10
Ágar (<i>apenas para meio sólido</i>)	20

Para a preparação de 1,0 L de solução meio LB, seguiu-se o seguinte protocolo:

- 1) Adição de 900 mL de água destilada e agitação até completa dissolução dos sólidos, exceto ágar (quando meio sólido);
- 2) Adição do ágar (quando meio sólido) e agitação até completa dissolução;
- 3) Ajuste do pH para 7,0 utilizando NaOH;
- 4) Ajuste do volume da solução para 1 L;
- 5) Esterilização do meio de cultura em autoclave a 120°C, durante 20 minutos.

Quando meio sólido, o procedimento para preparo das placas de Petri, que foram utilizadas na avaliação da retenção de microrganismos pela membrana, seguiu-se o seguinte protocolo:

- 1) Retirou-se o frasco de meio com ágar derretido da autoclave e deixou-se arrefecer até aproximadamente 50 °C;
- 2) No fluxo laminar, retirou-se ligeiramente a tampa da placa de Petri estéril, e adicionou-se de 15 a 20 mL de meio em cada placa. Imediatamente após, cobriu-se cada placa com a tampa novamente.

3) Deixou-se o meio solidificar na placa.

4) A placa foi guardada na posição invertida (a placa que contém o gel ficou para cima).

4.1.4.3- *Cultivo com Escherichia coli e preparo da solução padrão com concentrado de bactérias*

Para preparo do cultivo com *Escherichia coli*, inicialmente um criotubo contendo 50 µL de suspensão de células foi utilizado para inocular 50 mL de meio LB suplementado com o antibiótico canamicina (50 µg mL⁻¹), em um tubo tipo Falcon 50 mL, sob agitação a 37°C, durante aproximadamente 16 horas.

A seguir, 100 µL da solução contendo o cultivo de bactérias foram adicionados em 100 mL de solução salina estéril, NaCl 0,9%, e essa foi denominada a **solução padrão concentrada de bactérias**.

4.1.4.4- *Filtração do meio contendo E. coli*

Antes da montagem do sistema de filtração, as membranas de AAP são esterilizadas em álcool 70%, pois as mesmas ficam muito frágeis após sucessivas autoclavagens, ou deformadas após o processo.

O sistema de filtração, previamente esterilizado, foi montado dentro da capela de fluxo laminar. Utilizando bomba de vácuo (Marconi, modelo MA 057/1), a solução contaminada passa pela membrana de AAP e o filtrado é plaqueado para quantificação das células viáveis.

O sistema de filtração consiste em um funil com suporte para a membrana de alumina e um kitassato coletor e é apresentado na FIGURA 4.2.

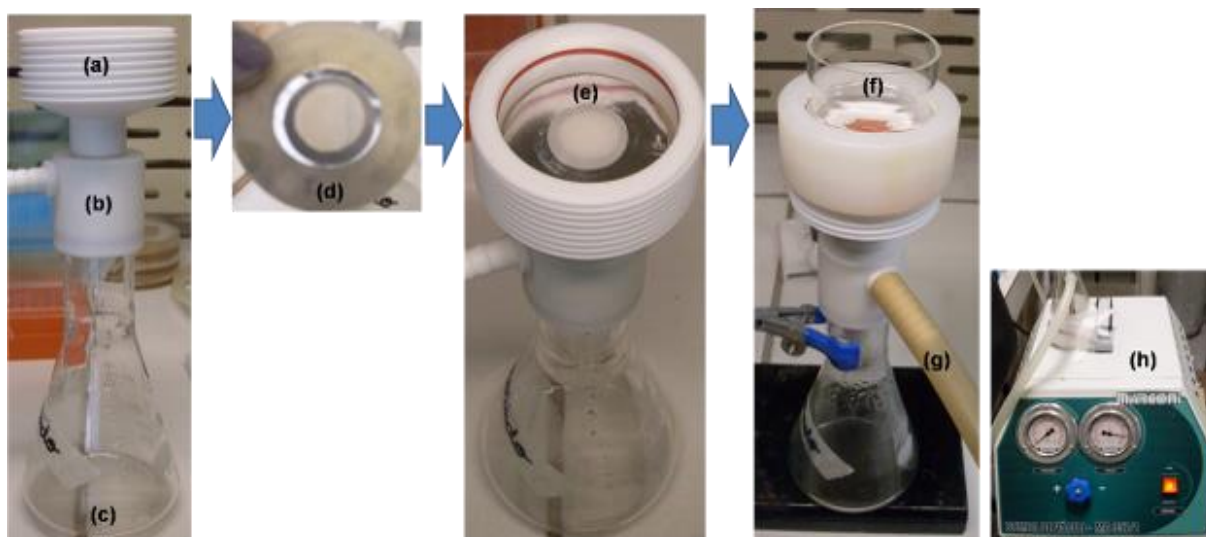


FIGURA 4.2- Sistema de filtração montado para o ensaio microbiológico. Funil de Teflon (a), Kitasato com encaixe de Teflon (b e c), membrana de AAP (d), membrana posicionada no funil (e), copo que fixa a membrana entre dois anéis de vedação (f) e tubo para o vácuo (g) gerado pela bomba (h).

A filtração da água contaminada com *E. coli* seguiu o procedimento descrito a seguir:

1. Primeiramente, todo o sistema de filtração foi esterilizado em autoclave a 120°C para evitar a contaminação do filtrado por fontes externas. Em seguida, as membranas foram esterilizadas por imersão em álcool 70% por 5 min, método que se mostrou eficaz e a membrana não apresentou problemas de fragilidade.
2. Então, o sistema de filtração foi montado em uma capela com fluxo lamelar. A membrana foi posicionada sobre uma placa de vidro sinterizado e polido, que é acoplada a um funil de vidro. Em cima destes, uma peça de vidro e um anel de vedação prendem e dão fixação as peças.

3. O sistema foi submetido a um vácuo de 120 mmHg e uma solução salina com concentração controlada da bactéria *Escherichia coli* foi submetida a filtração, cujo preparo está descrito na parte experimental deste relatório.
4. Após a filtração, o meio contaminado e o filtrado são analisados em placas de cultura com ágar-ágar (agarose) que é bastante empregado em microbiologia como meio sólido de cultura de bactérias. As placas foram deixadas a 60°C em estufa por 24 h antes das análises do filtrado.

4.1.4.5- *Plaqueamento e Determinação de Células Viáveis*

A solução filtrada foi utilizada para preparar quatro soluções diluídas (em solução salina): 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} , e 10^{-4} UFC mL⁻¹ (unidades formadoras de colônia por mililitro).

As amostras da solução filtrada e as quatro soluções diluídas foram estriadas em placas de Petri contendo meio LB-ágar, suplementado com canamicina ($50 \mu\text{g mL}^{-1}$) e mantidas a 37 °C. O volume de amostra utilizado para fazer cada placa foi de 80 μL .

Após incubação das placas, por 24 horas, as colônias que cresceram foram contadas para estimar a eficiência de filtração de membranas de alumina anódica porosa. Os experimentos foram realizados em duplicata e, como controle, utilizou-se a solução padrão “contaminada” e suas quatro soluções diluídas, também plaqueadas. A FIGURA 4.1 ilustra o procedimento de diluição e inoculação das amostras de solução contaminada e solução filtrada.

4.2- Equipamentos

4.2.1- Célula eletroquímica

A FIGURA 4.3(a) apresenta a foto da célula eletroquímica de Teflon utilizada nas anodizações de amostras de alumínio, onde o óxido é crescido em apenas um dos lados da amostra para a produção das membranas de AAP. A FIGURA 4.3(b) mostra a tampa da célula que possui uma camisa de vidro para controle de temperatura do eletrólito dentro da célula. Na célula, se encontra embutido um motor elétrico DC comum de 6 V para realizar a agitação mecânica da solução através de uma haste de Teflon. Por fim, existe também uma entrada para o contra-eletródo de Pt (CE). A FIGURA 4.3(c) apresenta o copo da célula visto de cima mostrando ao fundo o molde de Teflon. O raio interno do orifício deste molde é variável e expõe a área a ser anodizada de alumínio como é melhor observado na FIGURA 4.3(d). A vedação entre o copo da célula (c), o molde (d) e a mostra de alumínio a ser anodizada, exposta no centro desta peça, é feita por anéis de vedação de Viton. A fixação entre estas três últimas peças é feita por parafusos posicionados uniformemente ao redor da base da célula, como mostra a FIGURA 4.3(a), onde a tampa, o copo e o molde estão fixados na base da célula. A FIGURA 4.3(e) mostra esta base que apresenta no centro uma placa Peltier, posicionada sobre um cooler de resfriamento comum, para controle de temperatura no eletrodo de trabalho (ET), sendo que em cima da placa térmica se encontra o contato elétrico para o eletrodo de trabalho, FIGURA 4.3(f) feito de uma placa de cobre FIGURA 4.3(g).

A seguir, encontram-se fotos da célula eletroquímica utilizada nos ensaios de anodização e na FIGURA 4.4, está a representação gráfica da célula apresentada.

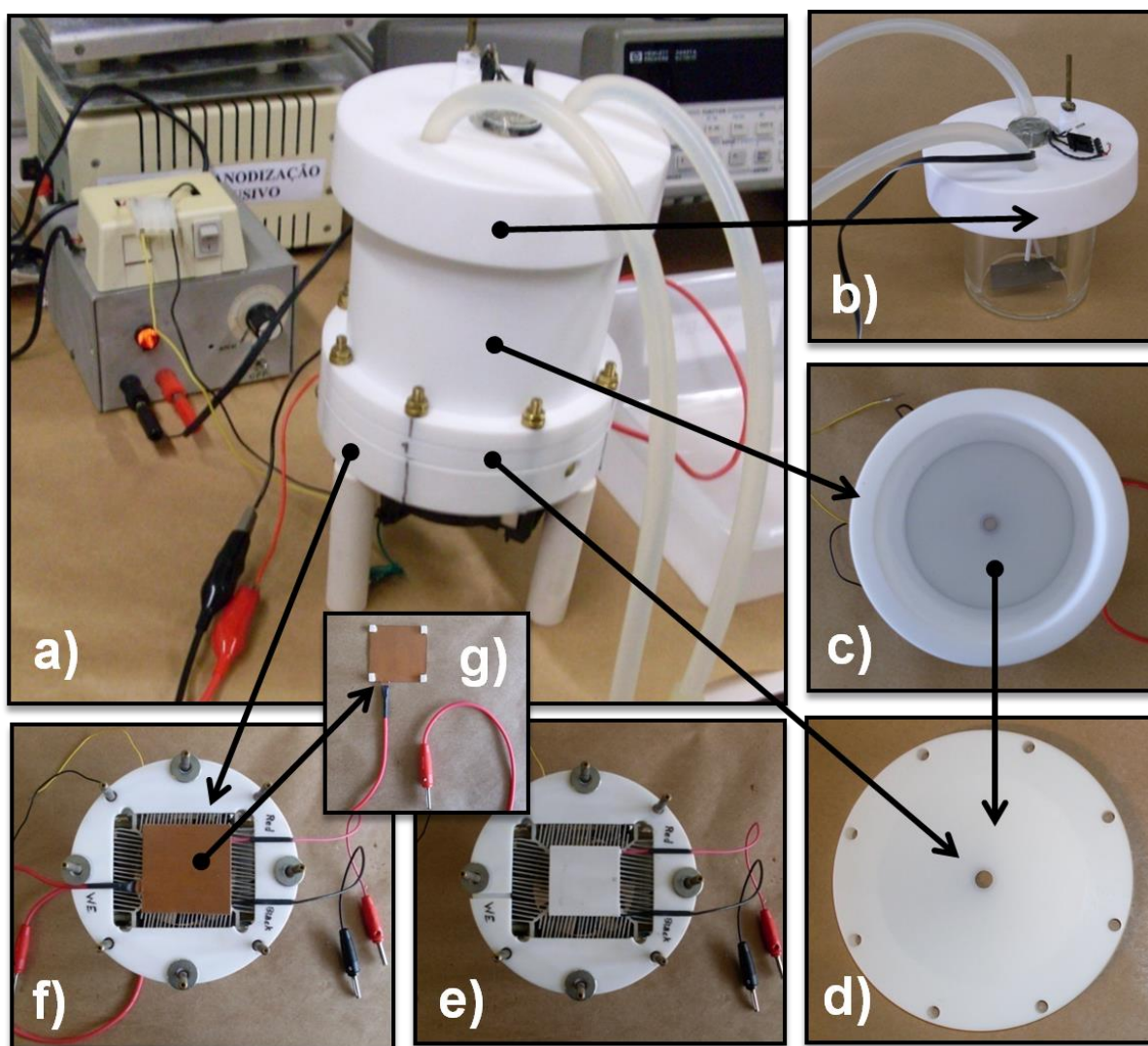


FIGURA 4.3- Foto da célula de Teflon e suas diversas partes (a). Tampa da célula com camisa de vidro para manter a temperatura da solução, com agitador mecânico embutido para agitar a solução através de uma haste de Teflon e entrada para o contra eletrodo de Pt (b). Copo da célula visto de cima (c) mostrando ao fundo o molde de Teflon com raio do orifício interno variável para anodizar diferentes áreas de amostras de alumínio (d). Base da célula que apresenta ao centro a placa Peltier, posicionada sobre um cooler de resfriamento comum, para controle de temperatura no eletrodo de trabalho (e). Acima desta última placa térmica se encontra o contato elétrico para o eletrodo para o eletrodo de trabalho (f) feito de uma placa de cobre (g).

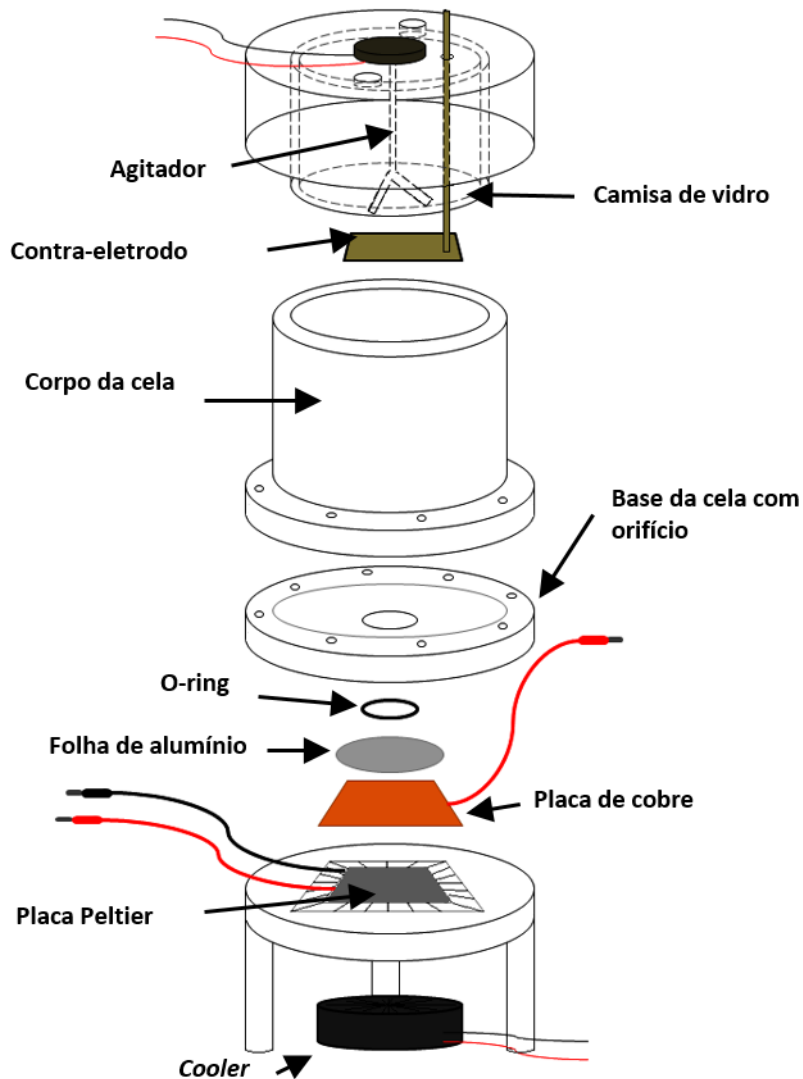


FIGURA 4.4- Representação gráfica da célula eletroquímica utilizada

A placa Peltier é alimentada por uma fonte AC/DC para fornecer a voltagem de 4,5 V, FIGURA 4.5(a). O efeito Peltier resfria o lado superior da placa, onde o alumínio está afixado, e aquece o outro. Para aumentar a eficiência de resfriamento, o calor transferido para o lado inferior é removido por um sistema de resfriamento (*cooler*). Este sistema e o motor da agitação mecânica são alimentados por transformadores AD/DC de corrente e potência fixos, FIGURA 4.5(b).

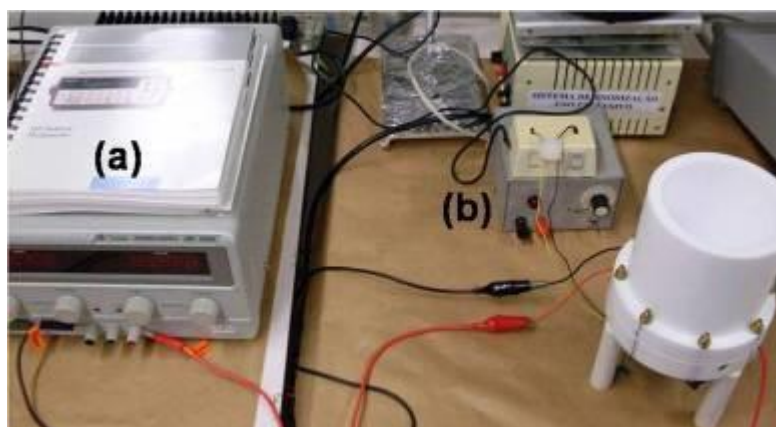


FIGURA 4.5- Foto da Fonte AC/DC de controle da placa Peltier (a) e dos transformadores de corrente e potencial fixos do sistema de resfriamento e da agitação mecânica (b).

4.2.2- Sistema de anodização

O sistema usado nas anodizações galvanostáticas é apresentado na FIGURA 4.6 onde, em (a) é mostrado o computador com o programa HPVEE para aquisição digital dos dados de corrente em função do tempo, em (b) a fonte AC/DC de 600 V e 100 mA para a anodização galvanostática, em (c) o multímetro interfaceado pela HPIB ao PC, em (d) a fonte AC/DC de 4,5 V e 2 A da placa Peltier, em (e) a fonte do cooler e da agitação mecânica, em (f) a célula eletroquímica de Teflon (FIGURA 4.3) e em (g) o banho termostático utilizado para controlar a temperatura da solução (g).

Primeiro, foi selecionada a corrente com a ajuda do multímetro exibido na FIGURA 4.6(c). Esta corrente está relacionada a densidade de corrente escolhida para o experimento a qual é proporcional a área do molde de Teflon que expõem a amostra de alumínio a ser anodizada. Em seguida, este mesmo multímetro realiza a coleta dos dados de potencial em função do tempo da anodização através da sua interface com o computador, FIGURA 4.6 (a) e (c). Ao mesmo tempo, a fonte AC/DC da FIGURA 4.6(d), fornece energia para dissipador o calor gerado no eletrodo de trabalho durante o crescimento da camada de Al_2O_3 .

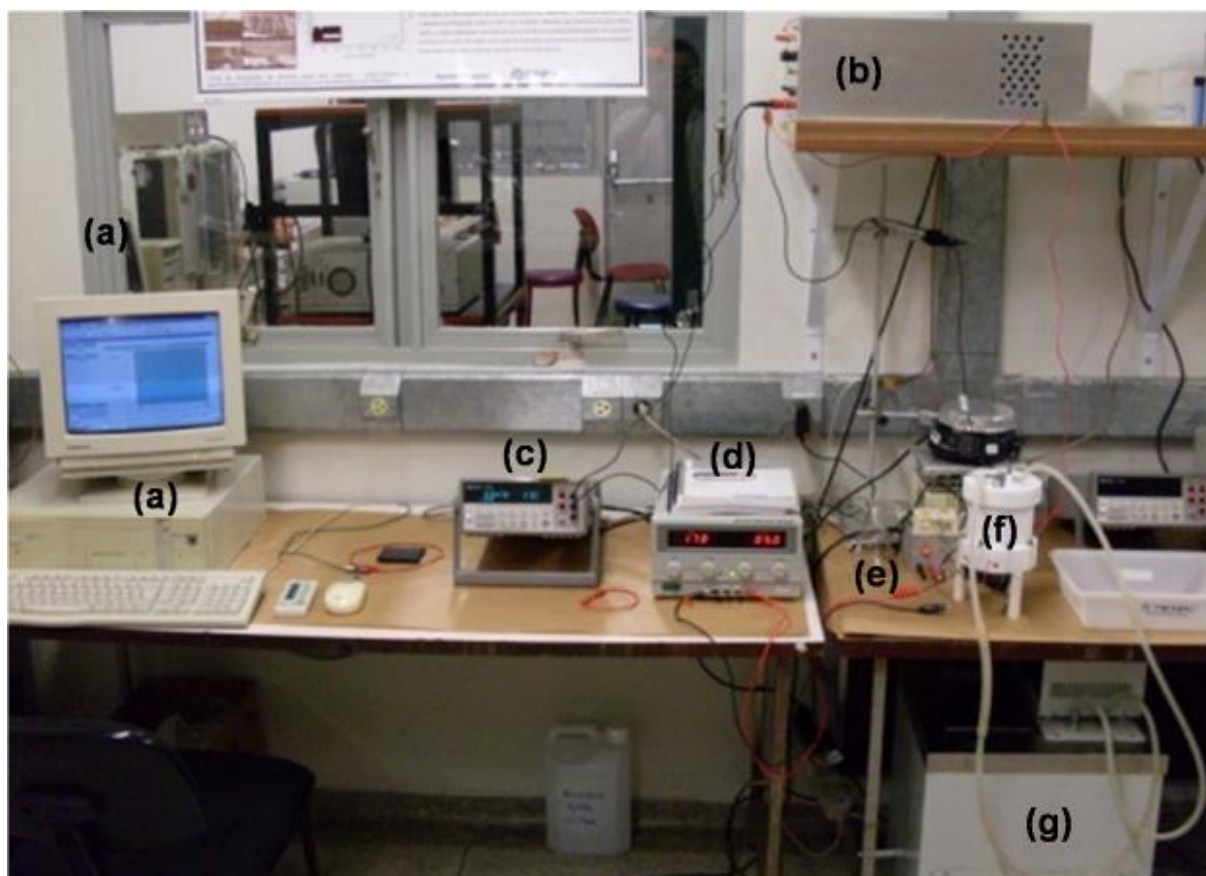


FIGURA 4.6- Visão geral do sistema de anodização montado com: Computador com o programa HPVEE para aquisição dos dados (a); multímetro conectado pela porta GPIB ao PC (b); fonte AC/DC de 600 V e 100 mA para a anodização galvanostática (c), fonte AC/DC de 4 V e 2 A para a placa Peltier (d); fonte do *cooler* e agitação mecânica (e); célula eletroquímica de Teflon (f); banho termostático (g).

4.2.3- Fonte AC/DC

A fonte AD/DC de 600 V e 100 mA utilizada nas anodizações galvanostáticas é mostrada na FIGURA 4.7. Na figura, é possível observar os ajustes de corrente contínua (a), a chave que aciona a ligação para o circuito externo (b) e os polos onde a célula eletrolítica é conectada (c). O eletrodo de trabalho – a folha de alumínio – é ligado ao polo positivo para forçar a oxidação do metal e a posterior formação do óxido de alumínio. Por fim, o contra eletrodo – placa de platina – é ligado ao polo negativo para fechar o circuito.

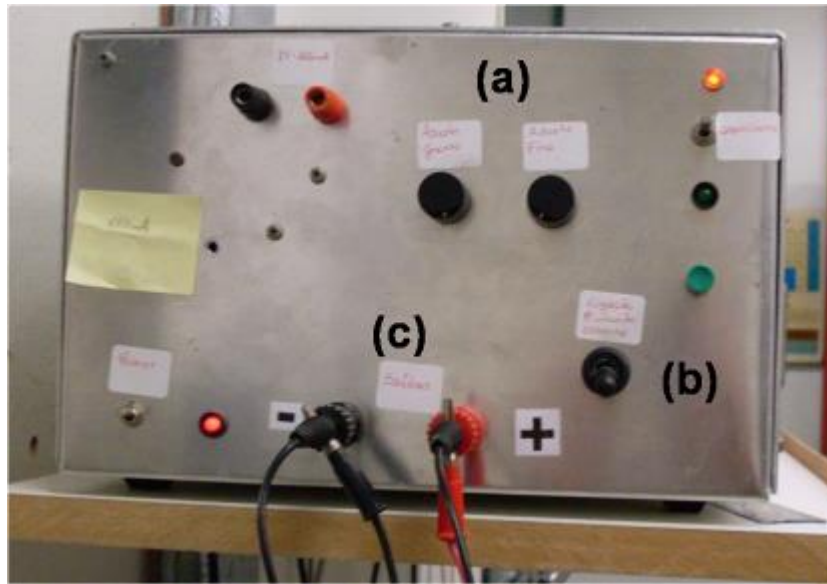


FIGURA 4.7- Fonte AC/DC de 600 V e 100 mA, de fabricação própria, utilizada na realização das anodizações galvanostáticas.

4.2.4- Fluxômetro

A permeabilidade é definida como uma propriedade física de materiais porosos, a qual determina o fluxo de fluido através destes quando aplicado um gradiente de pressão. Em outras palavras, permeabilidade é a resistência que o material poroso impõe à passagem do fluxo. Para medir esta resistência (permeabilidade) é de fundamental importância o uso das equações que melhor descrevam o processo em questão, ou seja, o material poroso e o fluido utilizado.

Uma equação usada na literatura que descreve o escoamento de um fluido através de um meio poroso é conhecida como lei de Darcy²⁹, Equação 1, onde L (m) é a espessura do corpo poroso, ΔP (Pa) é o gradiente de pressão, μ (Pa s) é a viscosidade do fluido, v_s (m s^{-1}) a velocidade de saída do fluido e, por fim, k_l (m^2) a constante de permeabilidade Darciana, que é dependente apenas da estrutura porosa. Esta lei propõe uma relação linear entre o gradiente de pressão (dP/dx) aplicada no material poroso e a vazão de saída do fluido utilizado no processo.

$$\frac{\Delta P}{L} = \frac{\mu}{k_1} V_s \quad (1)$$

A Lei de Darcy oferece a vantagem de ser simples e separar os parâmetros de viscosidade do fluido (μ), da velocidade de escoamento, ou de saída (v_s) e da permeabilidade do corpo poroso (k_1). Entretanto, a equação descrita Darcy apresenta algumas limitações, pois na maioria dos casos, a queda de pressão não é relacionada apenas aos efeitos viscosos representados pelo termo μ/k_1 , mas também aos efeitos inerciais (ou cinéticos). De acordo com a equação de Forchheimer, o gradiente de pressão e a velocidade de escoamento apresentam uma relação parabólica, Equação 2, e não linear como descrito por Darcy.

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

Na equação de Forchheimer¹³⁴ é introduzida uma nova constante, denominada constante de permeabilidade não-Darciana k_2 [m], que também é dependente apenas do material poroso. Além dos elementos descritos anteriormente para a equação de Darcy, tem-se na equação de Forchheimer a densidade do fluido ρ [kg m⁻³].

Na equação de Forchheimer o termo $\mu v_s/k_1$ representa os efeitos viscosos da interação sólido-fluido, enquanto o termo $\rho v_s^2/k_2$ representa os efeitos cinéticos. O fluido pode perder energia por efeitos viscosos de duas maneiras. Primeiro, pelo atrito entre as moléculas do fluido durante o escoamento, neste caso, quanto maior a viscosidade do fluido (μ), maior o atrito e conseqüentemente maior a perda de energia na forma de calor. Segundo, pela interação entre o fluido e as paredes do corpo poroso, a área de contato entre ambos é representada pela constante k_1 . Quanto maior a área de contato, maior a resistência ao escoamento do fluido. A perda de energia associada aos efeitos inerciais durante o escoamento do fluido também é causada por dois fatores, pela turbulência do fluido escoante

e pela tortuosidade do meio poroso. A turbulência do fluido pode ser quantificada pelo número de Reynolds:¹³⁴

$$R_e = \frac{\rho v_s D_{\text{poro}}}{\mu} \quad (3)$$

onde v_s representa a velocidade de escoamento do fluido através do material poroso com poros de diâmetro médio D_{poro} . Quando $R_e > 2100$, o escoamento é considerado turbulento ou caótico, o que aumenta a perda de energia. Portanto, quanto maior a energia cinética do fluido, mais caótico é o escoamento e maior é a perda de pressão, ou energia.

A tortuosidade ¹³⁴ é representada pela razão entre o caminho que o fluido percorre no interior do poro pela espessura do corpo poroso. Quanto mais tortuoso o meio poroso, maior a área de interação entre o fluido e as paredes dos poros, o que potencializa os efeitos viscosos e inerciais que causam a queda de pressão do fluido.

Outro importante fator a ser considerado no ajuste da equação que deve ser usada no estudo da permeabilidade de materiais porosos é a compressibilidade do fluido. Quando líquidos são usados como fluido esse fator pode ser desconsiderado, uma vez que líquidos são incompressíveis. Por outro lado, gases são compressíveis e sofrem expansão durante o escoamento através de um corpo poroso, o que resulta numa maior velocidade de saída do que de entrada do gás.

As equações de Darcy e de Forchheimer podem ser ajustadas para fluidos compressíveis, estas são respectivamente representadas nas Equações 4 e 5, onde P_e [Pa] é a pressão de entrada e P_s [Pa] é a pressão de saída do fluido através do material poroso.

$$\frac{P_e^2 - P_s^2}{2PL} = \frac{\mu}{k_1} V_s \quad (4)$$

$$\frac{P_e^2 - P_s^2}{2PL} = \frac{\mu}{k_1} V_s + \frac{\rho}{k_2} V_s^2 \quad (5)$$

Neste trabalho, o fluxo de N₂ foi determinado por meio de um fluxômetro com medidor de pressão eletrônico (Mod. PR100) e bolhômetro na saída para medir os tempos de vazão. A partir dos dados das medidas de vazão de gás nitrogênio, e utilizando a lei de Darcy e a equação de Forchheimer para fluidos não compressíveis, o fluxo de água foi determinado para cada membrana utilizando a Equação 2 para se encontrar k_1 e k_2 para as membranas em fluxo de N₂, em seguida, os fluxos de água das membranas foram estipulados pela Equação 5 para uma pressão de 1,5 atm.

O fluxômetro usado nas medidas de fluxo é apresentado na FIGURA 4.8, onde é possível observar a câmara de entrada de gás nitrogênio (N₂) (a), através da válvula de fluxo de ajuste grosso (b) e de ajuste fino (c), o ponto onde a membrana é fixada (d), e a câmara de saída de gás (e). Também é possível verificar o medidor de diferença de pressão (f) entre as câmaras (a) e (e), o qual é conectado no parêmetro medidor de pressão (Mod. PR100) (g), onde as escalas em mmHg e mmH₂O, podem ser acessadas com a chave (h). Como a diferença de pressão entre P_i e P_o é conhecida e sabendo que $P_o = P_{ext}$, então P_i pode ser determinada. Um cilindro de N₂ é conectado a entrada de gás (c) para as medidas de fluxo através da membrana que ao final tem que passar pelo bolhômetro (i). O gás de saída tem sua vazão mensurada por meio do bolhômetro, onde o tempo de deslocamento de uma bolha de sabão é medido para um volume fixo de uma pipeta graduada de 25 mL.

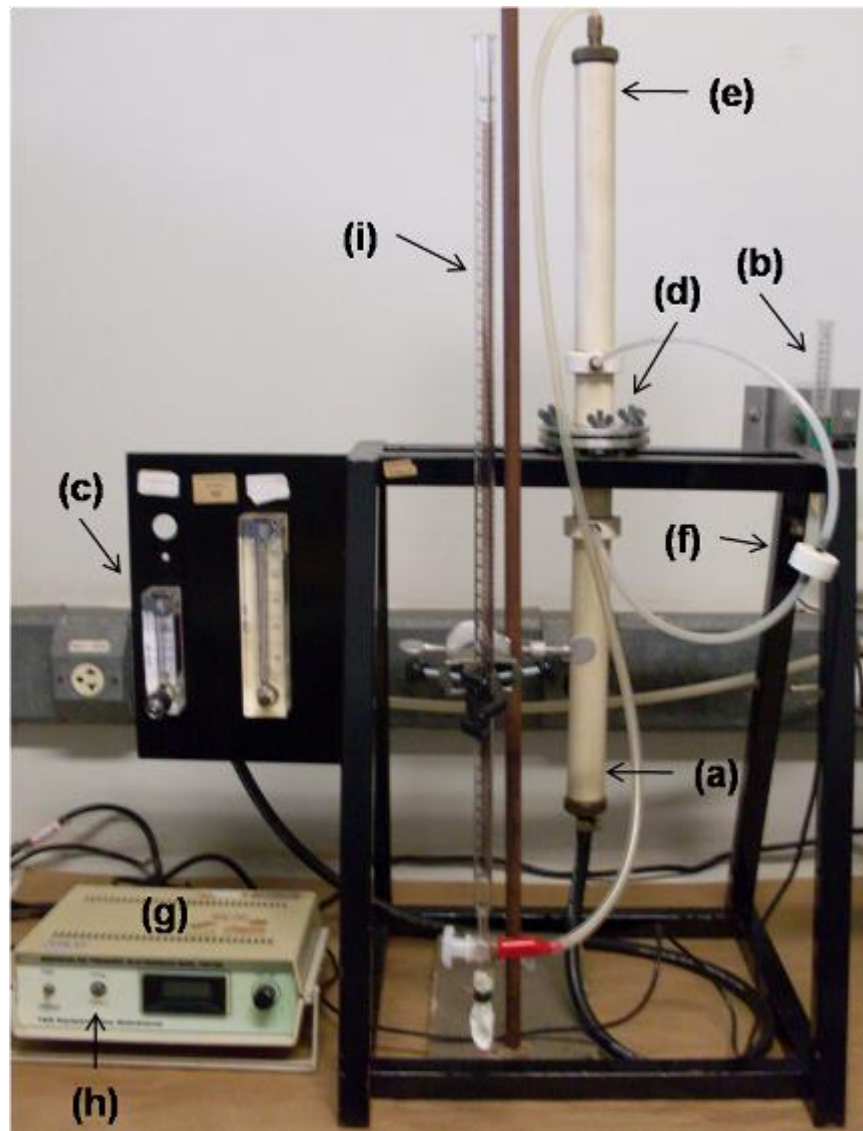


FIGURA 4.8- Foto do fluxômetro, com medidor de pressão e bolhômetro.

4.3- Parte Experimental

4.3.1- Amostra de alumínio

De modo a se estudar as condições de obtenção de filmes de alumina porosa com poros ordenados e de tamanho controlado, um planejamento fatorial foi montado com a finalidade de se estudar quais fatores são mais relevantes. Esta etapa foi importante, pois o alumínio anodizado comumente encontrado na

literatura é de alta pureza^{20,25,35,42,46,49,66,114,117,135-142}, sendo muito caro para ser empregado em um projeto onde um dos objetivos é preparar amostras de baixo custo. Portanto, focando a redução de custos, o alumínio metálico utilizado na fabricação das membranas é um alumínio comum, que foi adquirido em supermercados da região de São Carlos – SP. Algumas amostras de alumínio que foram analisadas para as anodizações são mostradas na FIGURA 4.9: folhas de papel alumínio comercial de espessura de 12 μm (a), folhas empregadas na confecção de latas de alumínio com espessura de 90 μm (b), folhas usadas na confecção de protetores de fogão, espessura de 25 μm (c) e folhas usadas em confecção de embalagens para proteção térmica de alimentos, espessura de 46 μm (d).

A folha de alumínio foi especialmente escolhida de modo que esta possuísse os dois lados espelhados e poucos amassados de processos de dobragem. Com isto, a etapa de eletropolimento pôde ser descartada, a qual seria necessária para deixar a superfície do alumínio extremamente plana o que produziria um crescimento uniforme dos poros a partir de sua camada barreira. Tal procedimento, ou seja, a escolha correta do alumínio reduziu ainda mais os custos de fabricação das membranas.

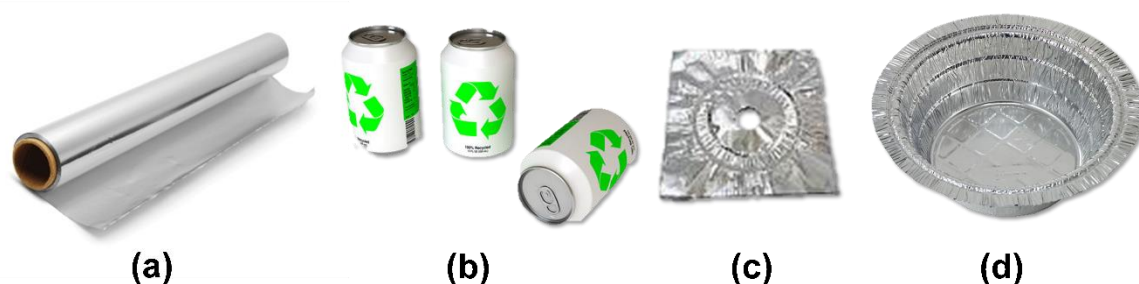


FIGURA 4.9- Amostras de alumínio investigadas para anodização.

Além dos fatores mencionados acima, o tipo de anodização escolhido para desenvolvimento das membranas de filtração foi muito importante na avaliação da viabilidade do projeto. Embora a anodização potencioestática forneça filmes com redes porosas mais uniformes, a anodização galvanostática foi preferida neste trabalho por obter filmes espessos e em tempos menores, o que reduz os custos com gastos energéticos na produção das membranas.

Deste modo, foi realizado um planejamento fatorial 2^3 com os seguintes fatores: concentração do eletrólito, tipo de eletrólito e densidade de corrente. Estes 3 fatores são tidos como mais influente na ordenação dos poros. A primeira amostra escolhida foi uma folha de alumínio vendida comercialmente em rolos de 30 cm x 7,5 m com espessura de 12 μm .

Em seguida, foi analisado o efeito do tempo de anodização e a necessidade de eletropolimento e de tratamento térmico das membranas obtidas. Além disso, também foi investigada a possibilidade de se usar outros tipos de alumínio vendidos comercialmente e, portanto, com um grau de pureza inferior. Foram testadas as folhas de alumínio empregadas na confecção de latas de refrigerante, as usadas como protetor de fogão e como embalagem de alimentos.

4.3.2- Reagentes e soluções

Os reagentes e soluções utilizados estão listados na TABELA 4.3, onde as duas primeiras soluções (1 e 2) foram utilizadas como eletrólitos nas anodizações realizadas no planejamento fatorial em dois níveis de concentração cada. Como as anodizações foram conduzidas em duas etapas⁶⁷, a terceira solução (3) foi utilizada para remover o óxido de alumínio da primeira anodização. A quarta (4) solução foi empregada para remover a camada de alumínio base do outro lado da folha anodizada, expondo a camada barreira de óxido de alumínio do fundo dos poros⁷⁴. Já a última solução (5), foi empregada para remover esta camada barreira, tornando assim a membrana final permeável a líquidos e gases.

TABELA 4.3 - Reagentes e soluções com suas procedências utilizados nos ensaios piloto e também nos ensaios realizados no planejamento fatorial.

Nº	Reagentes	Concentração (mol L ⁻¹)	Procedência
1	Ácido Fosfórico (H ₃ PO ₄)	0,5 e 0,1	Mallinckrodt
2	Ácido Oxálico (H ₂ C ₂ O ₄)	0,5 e 0,1	Sigma-Aldrich
3	CrO ₃ / H ₃ PO ₄	0,2 em 0,4	Merck / Mallinckrodt
4	CuCl ₂	0,1 em HCl 20% (V/V)	Merck / Quemis
5	Ácido Fosfórico (H ₃ PO ₄)	5% (V/V)	Mallinckrodt

4.3.3- Preparação das membranas de AAP

Para preparar as membranas para filtração de água, os filmes de alumina anódica porosa, teriam que ser suportados em alguma superfície. Neste caso optou-se por esta superfície ser a própria folha de alumínio. Como pode ser visto no fluxograma para obtenção das membranas, FIGURA 4.10, passo “A”, uma área foi delimitada com ajuda do molde de Teflon que era posicionado no fundo da célula. A primeira etapa de anodização foi feita durante 0,5 h ou 1 h, em condição galvanostática, utilizando ácido oxálico ou fosfórico, respectivamente. O tempo de anodização para os ensaios feitos utilizando o ácido fosfórico é maior que o tempo de anodização dos que utilizam o ácido oxálico, porque a velocidade de crescimento dos filmes em ácido fosfórico é menor.

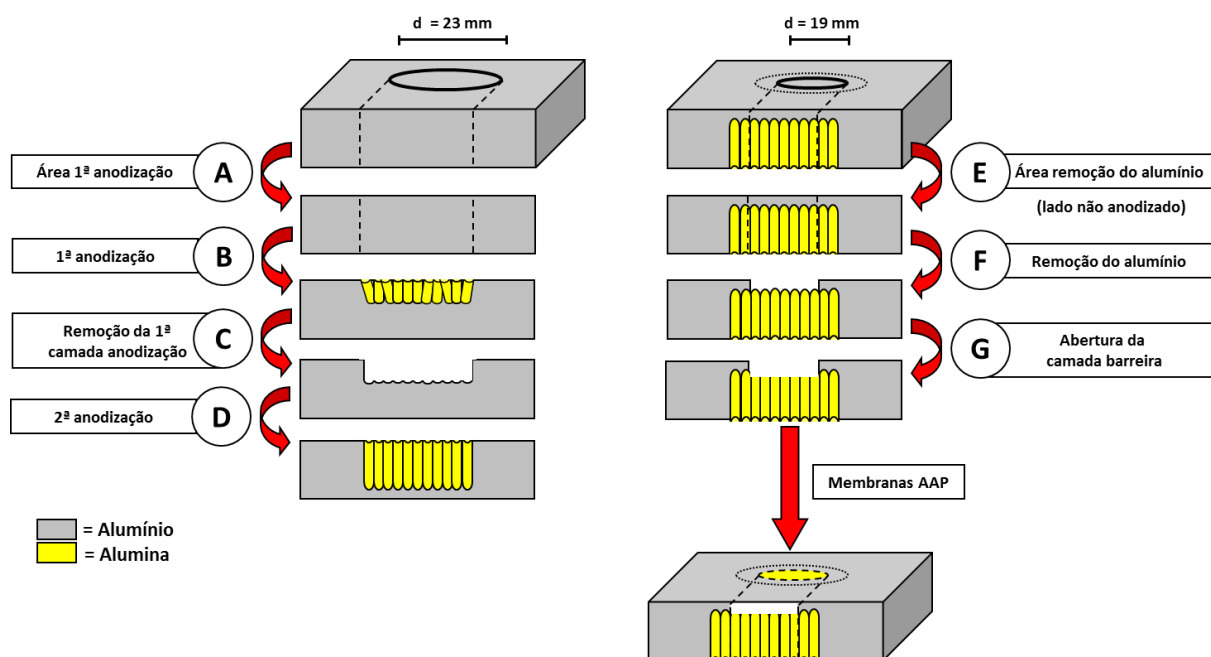


FIGURA 4.10- Fluxograma da parte experimental envolvendo todas as etapas de anodização: Determinação da área anodizada (A), primeira anodização (B), dissolução do óxido da primeira anodização (C), segunda anodização (D), determinação de uma área menor do lado não anodizado (E), remoção do alumínio não anodizado (F) e abertura da camada barreira (fundo dos poros) (G) para a obtenção da membrana final.

Após a primeira etapa de anodização, passo “B”, o óxido formado é removido com a ajuda de solução $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ de CuCl_2 (Merck) em 20% HCl (Quemis; % volume) (ver TABELA 4.3), mantida sob agitação a 65°C por 1 h, sendo esta remoção o passo “C” da FIGURA 4.10. O passo “C” é ilustrado na FIGURA 4.11. Em seguida, a segunda etapa de anodização, passo “D” da FIGURA 4.10, ocorreu sob as mesmas condições da primeira etapa, durante 1,5 h, quando utilizado o ácido oxálico ou 2,5 h, se utilizado o ácido fosfórico, na mesma região delimitada, na qual o óxido da primeira anodização foi removido. Nesta etapa, o tempo de anodização é maior a fim de obter filmes de alumina mais espessos.

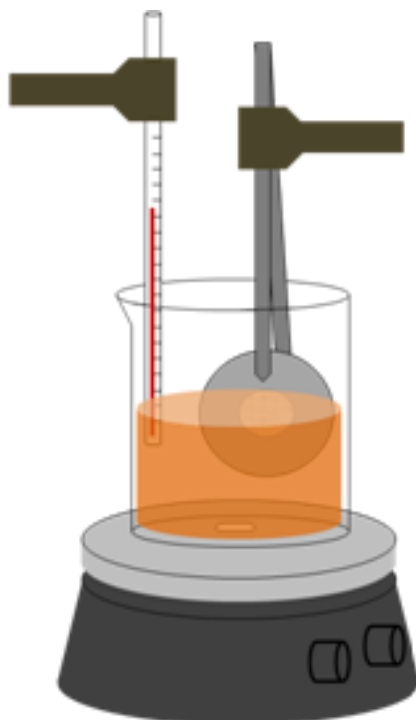


FIGURA 4.11- Ilustração do procedimento ataque químico sob agitação e aquecimento a 65°C referente ao passo “C” da FIGURA 4.10.

A realização de duas etapas de anodização para obtenção do filme de alumina anódica porosa é descrito na literatura por MASUDA e FUKUDA³⁶ e tem a finalidade de aumentar o grau de ordenamento da estrutura porosa de óxido, pois os poros da segunda anodização são guiados pelos sítios de nucleação da primeira anodização.⁵⁵

Após a etapa “D”, da FIGURA 4.10, a membrana é retirada da célula eletroquímica e colocada sobre uma placa de vidro com o lado anodizado para baixo. O mesmo tipo de molde de Teflon foi utilizado novamente para delimitar a área de ataque químico no alumínio não anodizado, mas agora com um diâmetro menor (diâmetro = 1,9 cm), como mostra o passo “E” da FIGURA 4.10. A solução de 0,1 mol L⁻¹ de CuCl₂ (Merck) em 20% HCl (Quemis; % volume), da TABELA 4.3, foi empregada nesta etapa para remover a camada de alumínio base, expondo a camada barreira de óxido de alumínio do fundo dos poros^{65,134}, como mostra o passo “F” da FIGURA 4.10. O CuCl₂ tem a função de proteger o óxido de

alumínio do ataque do HCl, que dissolveu o alumínio metálico. O alumínio remanescente dá estabilidade mecânica necessária para a aplicação da membrana para ensaios de filtração de água. Por fim, o passo “G” da FIGURA 4.10 apresenta a remoção da camada barreira, onde a solução 5% (% volume) H_3PO_4 (Mallinckrodt), da TABELA 4.3, foi utilizada, em temperatura ambiente, para remover esta última camada, durante 15 minutos. Após esse tempo, a membrana era lavada com água destilada e seca à temperatura ambiente. A abertura dos poros da membrana foi otimizada a fim de se obter as melhores condições para essa etapa. Concluiu-se que a abertura dos poros é otimizada repetindo-se o procedimento acima descrito por 4 vezes, a fim de obter mais poros abertos.

É importante destacar que para manter o outro lado da membrana protegido da ação do ácido fosfórico, foram utilizadas algumas gotas de tampão acetato ($\text{pH} = 7,0$) para neutralizar a solução ácida assim que a camada de óxido barreira era perfurada.

Esta última etapa torna a membrana final permeável a líquidos e gases e, devido ao emprego de uma área de ataque químico menor entre os passos “D” e “E” da FIGURA 4.10, a membrana porosa fica suportada na própria folha de alumínio.

Para um melhor entendimento do processo, é mostrado na FIGURA 4.12 o molde de Teflon de tamanho menor que tem a finalidade de delimitar a área de ataque químico sobre o alumínio da base dos poros (lado não anodizado). Este molde foi fixado sobre uma placa de vidro com a ajuda de grampos, como mostra FIGURA 4.12(a). Já as FIGURA 4.12(b) e FIGURA 4.12(c), mostram o emprego da solução 4 (TABELA 4.3) para a remoção da camada de alumínio não anodizada como descrito anteriormente e a FIGURA 4.12(d) mostra o posicionamento da membrana sobre a placa de vidro e sob o molde de Teflon.

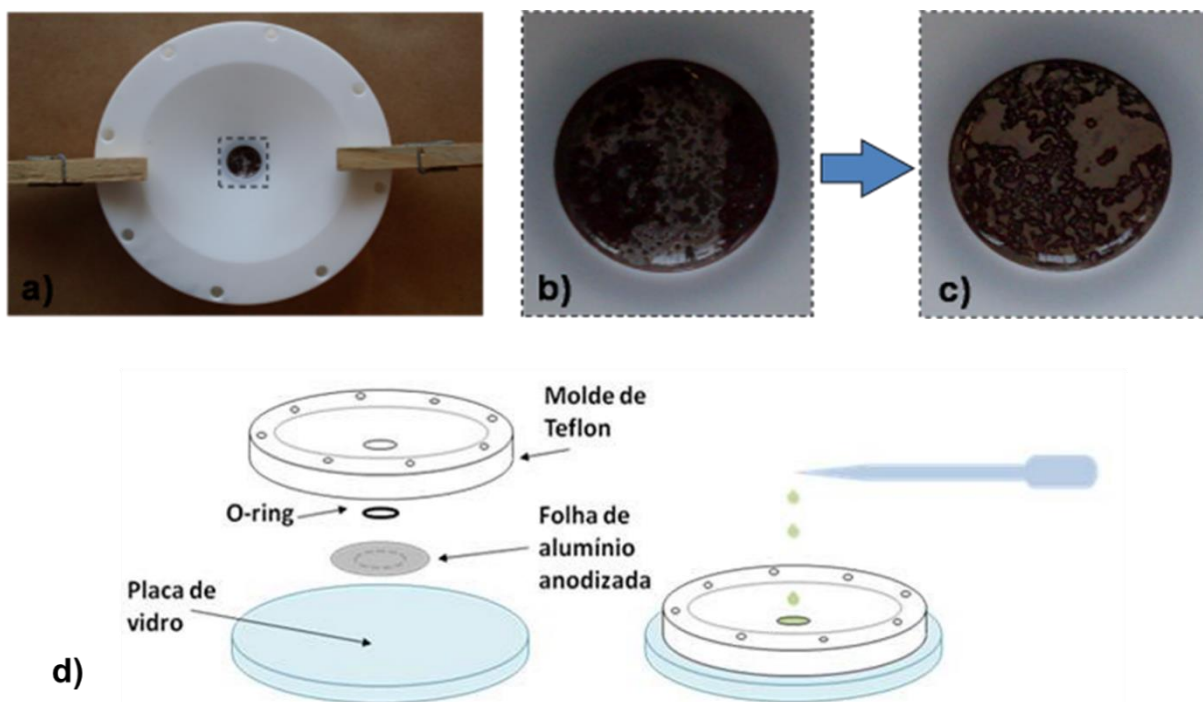


FIGURA 4.12- Molde de Teflon utilizado nos passos E, F e G da FIGURA 4.10(a). Etapa de remoção da camada barreira de alumínio da base dos poros do outro lado da folha, passo “F” (b) e (c). Diagrama esquemático do posicionamento da membrana sobre a placa de vidro e sob o molde de Teflon (d).

Após a obtenção das membranas, foram feitas caracterizações morfológicas por FEG para quantificar a espessura e porosidade média da camada de óxido.

A quantificação da porosidade média foi realizada pelo tratamento quantitativo das imagens de FEG com o programa *ImageJ*, e a partir desses dados, foi obtido o diâmetro dos poros (D_p). Em alguns casos, a membrana possuía uma dupla rede de poros.¹¹⁴

Com o software *ImageJ*, a imagem obtida foi binarizada selecionando a rede de poros de interesse pelo ajuste do *threshold* da imagem. Para a binarização o histograma das imagens em tons de cinza (256 níveis) é bipartido de modo a separar o fundo com a parede dos poros (bit 0) dos poros

propriamente ditos (bit 1)¹⁴³. A partir deste cálculo, uma área média foi determinada e a partir desta um diâmetro médio de porosidade junto com o desvio padrão para este cálculo. Em alguns casos, a membrana apresentava uma dupla rede de poros. Para o tratamento destas imagens foi selecionado a rede secundária menor de poros que é a limitante para o fluxo através da membrana.²⁷

Por fim, foram realizadas medidas de fluxo em N₂ para se extrapolar uma vazão de água para as membranas em L h⁻¹ com o sistema descrito na FIGURA 4.8.

4.3.4- Deposição química de nanopartículas de prata nas membranas de alumina anódica porosa

O procedimento para deposição química de nanopartículas de prata nas membranas de alumina anódica porosa foi adaptado do procedimento descrito por LU et al.¹²⁹

A membrana escolhida para a deposição das nanopartículas de prata foi aquela que possuía uma boa relação entre diâmetro de poro e a espessura, com o objetivo de otimizar o fluxo de água e ser mecanicamente resistente. Todos os reagentes utilizados foram de grau analítico. O nitrato de prata foi utilizado como fornecedor de íons prata, amônia 40% foi utilizada como agente complexante e formaldeído como agente redutor no processo. Todos os ensaios foram realizados à temperatura ambiente.

Para a deposição química das nanopartículas de prata, a solução precursora de diaminoprata (Ag(NH₃)²⁺) foi preparada gotejando solução de amônia concentrada em 20 mL de solução 0,1 mol L⁻¹ de AgNO₃ até que o precipitado gerado imediatamente após a primeira gota de amônia fosse dissolvido completamente, resultando em uma solução completamente transparente.

A seguir, montou-se o sistema de filtração com a membrana de alumina anódica porosa no suporte. Adicionou-se 1 mL da solução de diaminoprata até que a membrana porosa ficasse totalmente embebida, pois é muito importante que a solução esteja totalmente absorvida pelos poros da membrana. A seguir, adicionou-se o mesmo volume de formaldeído e a bomba de vácuo foi ligada para que as soluções fossem distribuídas ao longo de todos os poros, a fim de evitar o entupimento da membrana.

Assim que as soluções atravessam a membrana, o procedimento é repetido por mais 2 vezes para aumentar a concentração de nanopartículas de prata ao longo das paredes dos poros da membrana. Após esses dois ciclos, a membrana é retirada do suporte, lavada com água destilada e deixada secar à temperatura ambiente por 2 h, para que possa ser utilizada nos ensaios microbiológicos.

5- RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1- Estudo preliminar da síntese e caracterização das membranas de alumina

5.1.1- Planejamento Fatorial 2^4 – Estudo $E_{\text{máx}}$

As primeiras análises foram realizadas utilizando folhas de papel alumínio de 12 μm de espessura (FIGURA 4.9(a)) por meio de um planejamento fatorial 2^4 . As variáveis escolhidas foram: a temperatura da solução eletrolítica, a densidade de corrente empregada nas anodizações galvanostáticas, a concentração do eletrólito e o tempo de anodização. Como mostra a TABELA 5.1, estas variáveis foram investigadas em dois níveis totalizando 16 experimentos, que nesta etapa não foram realizados em duplicata.

Para estas análises, apenas a primeira anodização foi empregada e a variável analisada foi o potencial de pico ($E_{\text{máx}}$) das cronopotenciometrias obtidas em cada condição experimental.

TABELA 5.1- Planejamento fatorial 2^4 realizado para as amostras de papel alumínio de 12 μm de espessura.

Fatores	Parâmetros	Níveis 2^4	
		-1	1
1	Temperatura ($^{\circ}\text{C}$)	15	20
2	Densidade de Corrente (mA cm^{-2})	5	8
3	Concentração ácido oxálico (mol L^{-1})	0,1	0,3
4	Tempo (s)	1500	3600

TABELA 5.2- Experimento fatorial 2^4 com base no potencial de pico da anodização.

Experimentos	Fatores (2^4)			
	Temperatura (°C)	Densidade de corrente (mA cm ⁻²)	Concentração ácido oxálico (mol L ⁻¹)	Tempo (s)
	Fator 1	Fator 2	Fator 3	Fator 4
1	15	5	0,1	1500
2	20	5	0,3	1500
3	15	5	0,3	1500
4	20	5	0,1	1500
5	15	8	0,3	1500
6	20	8	0,1	1500
7	15	8	0,1	1500
8	20	8	0,3	1500
9	15	5	0,1	3600
10	20	5	0,3	3600
11	15	5	0,3	3600
12	20	5	0,1	3600
13	15	8	0,3	3600
14	20	8	0,1	3600
15	15	8	0,1	3600
16	20	8	0,3	3600

A FIGURA 5.1 apresenta duas cronopotenciometrias do planejamento fatorial 2^4 detalhado na TABELA 5.2. Como já mencionado, nas anodizações galvanostáticas uma corrente pré-determinada é aplicada ao sistema enquanto se monitora o perfil do potencial com o tempo de anodização. Deste modo, as cronopotenciometrias podem ser representadas como a diferença de

potencial em função da densidade de carga típica durante a anodização. Esta representação facilita a comparação entre as curvas para análises das distintas condições experimentais investigadas.

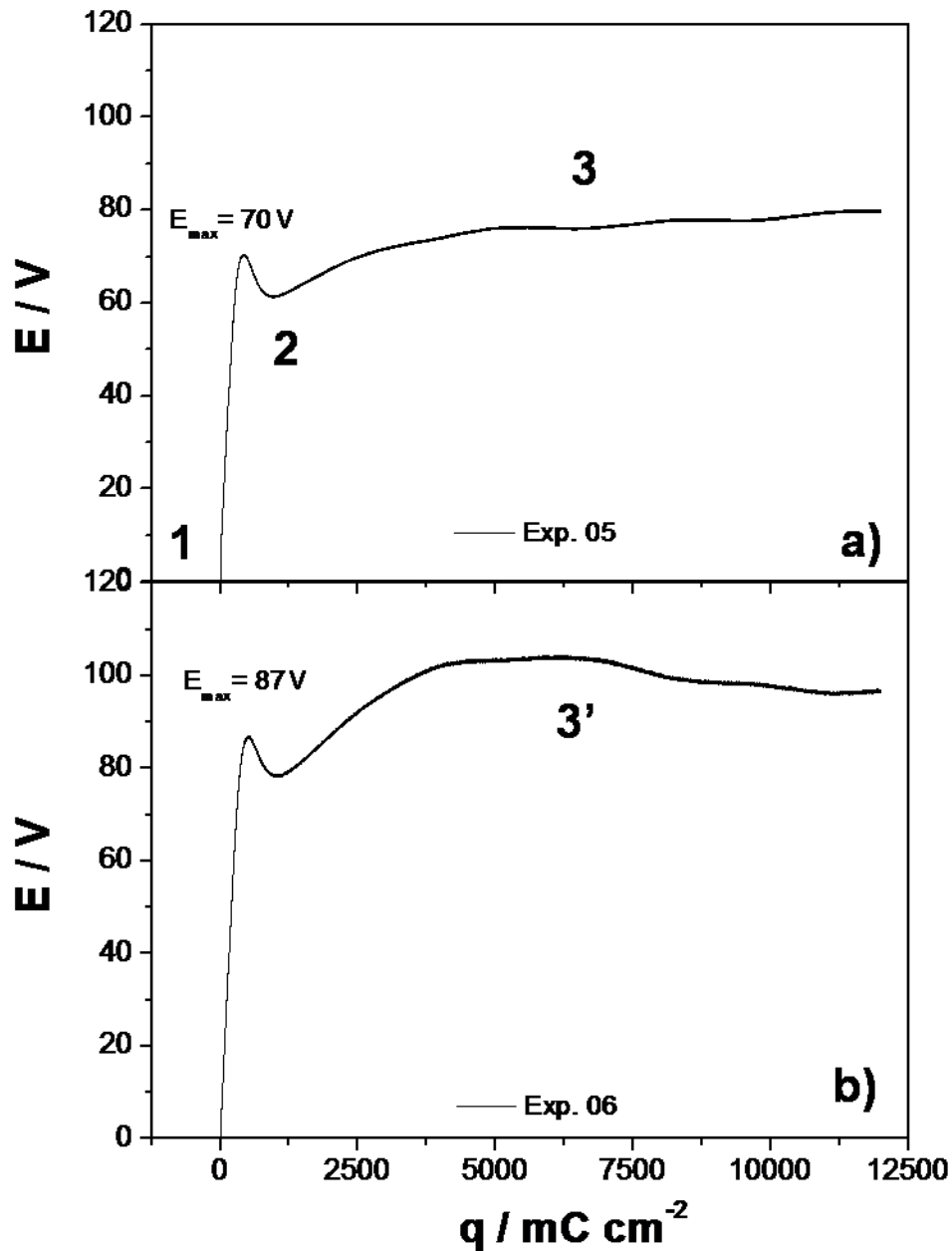


FIGURA 5.1- Diferença de potencial em função da densidade de carga típica durante a anodização de folhas de papel alumínio nas condições experimentais listadas na TABELA 5.2 para o experimento 5 (a) e para o experimento 6 (b). A densidade de corrente empregada foi $8 mA cm^{-2}$.

A FIGURA 5.1(a) mostra três regiões distintas durante a anodização. A primeira, região 1, apresenta um aumento linear de potencial com a densidade de carga. Tal comportamento corresponde ao crescimento da camada barreira na interface metal/solução⁴³. Após esta região linear, a velocidade de crescimento diminui e o potencial atinge um valor máximo (E_{\max}), região 2. Neste ponto, começam a se formar os poros no óxido de alumínio em crescimento e, ao mesmo tempo, o processo de dissolução do óxido assistido pelo campo começa a ocorrer³⁴. A última região (região 3) corresponde a um comportamento estacionário do sistema e é onde as velocidades de formação dos poros na interface metal/óxido e a dissolução na base dos poros são iguais.

A FIGURA 5.1(b) apresenta a região 3' que foge do comportamento estacionário do sistema. Este comportamento foi encontrado em algumas amostras, quando é feita anodização das folhas de papel alumínio (ver FIGURA 4.9). Como esta é a matéria-prima com maior concentração de impurezas de todas as amostras escolhidas para o estudo, acredita-se que seja esta a razão da deformidade nesta região do gráfico. Como será visto mais adiante, anodizações em folhas usadas na confecção de protetores de fogão, não apresentam este perfil na curva de potencial.

Para estudar a influência dos parâmetros utilizados sobre as cronopotenciometrias, os E_{\max} obtidos em todas as condições foram analisados e seus efeitos principais e de interação foram calculados segundo o procedimento descrito na literatura¹³⁰. Estes resultados são apresentados na FIGURA 5.2, onde é possível observar que as variáveis apontadas como significativas são a densidade de corrente e a concentração do ácido. A mudança de tempo nas anodizações não apresentou influência na curva.

A temperatura teve pouca influência no valor de E_{\max} , como pode ser observado na FIGURA 5.2, devido ao tipo de célula eletroquímica utilizada que,

como descrito na parte experimental, tem um controle adicional de temperatura no eletrodo de trabalho, através da placa Peltier. Por esta razão a célula termostaticada, com controle de temperatura do eletrólito e também na base (eletrodo de trabalho), foi utilizada nestas anodizações e nas etapas futuras, sendo a solução com temperatura mantida em 20°C e variações na temperatura de crescimento dos filmes de alumina anódica porosa eram obtidas a partir do controle da voltagem da placa Peltier.

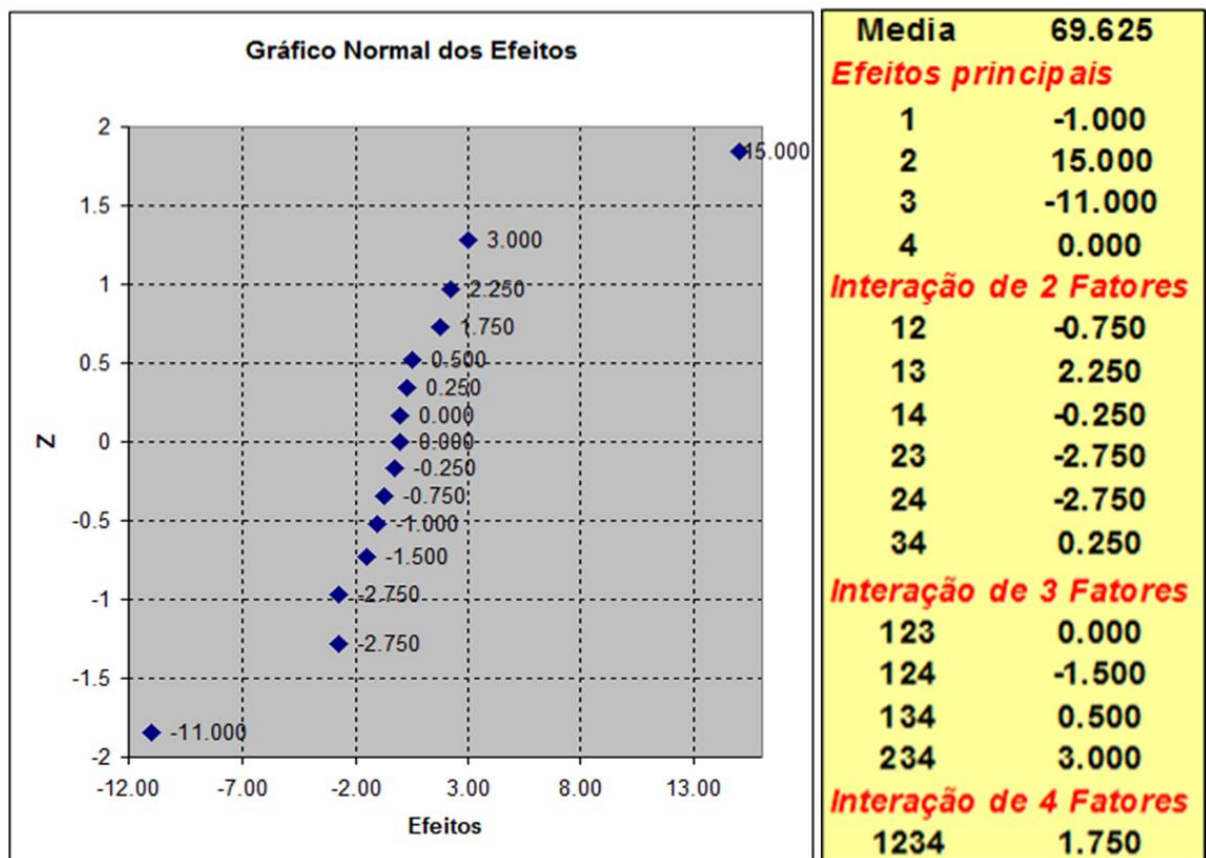


FIGURA 5.2- Gráfico normal dos valores dos efeitos calculados para o planejamento fatorial completo 2^4 no estudo do E_{max} .

O filme de alumina anódica porosa se desenvolve em meio ácido devido ao processo de dissolução assistida pelo campo na interface óxido/eletrólito (camada barreira). Segundo o modelo de PATERMARAKIS e PAPANDREADIS¹⁴⁴, a geometria do poro depende da relação entre a velocidade

de dissolução química nas paredes do poro e a velocidade de dissolução assistida pelo campo na camada barreira. Uma vez que o processo de dissolução é exotérmico, o calor produzido na base do poro pode provocar um aumento localizado de temperatura e levar à formação de poros com geometria mais complexa, como os poros ramificados ou “*branched pores*”, que são poros “não-passantes”, ou seja, há o impedimento do fluxo.

5.1.2- Estudos das etapas de anodização nos diferentes substratos de Al

A FIGURA 5.3 apresenta a análise da camada de óxido formada em folha de alumínio de 12 μm de espessura após a anodização galvanostática com ácido oxálico 0,1 mol L⁻¹, por 3600 s, obtida a uma densidade de corrente 8 mA cm⁻². Como pode ser observado, na FIGURA 5.3(a), não é encontrado o aspecto de colmeia, ou arranjo de poros hexagonais²⁵. Na visão lateral desta amostra, fica claro o baixo ordenamento dos poros, FIGURA 5.3(b).

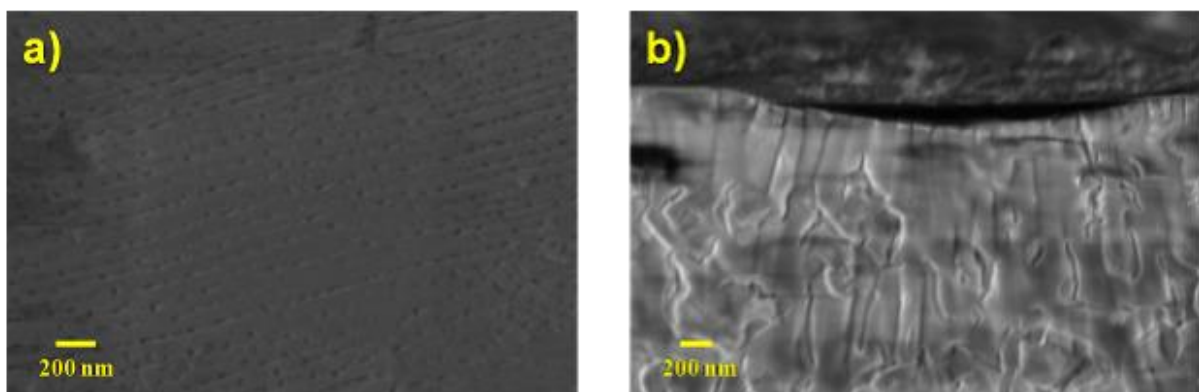


FIGURA 5.3- Micrografias de FEG da superfície (a) e da lateral (b) da camada de AAP após a primeira anodização galvanostática de uma folha de alumínio comercial (espessura de 12 μm) submetida uma densidade de corrente de 8 mA cm⁻² por 3600 s em solução ácido oxálico 0,1 mol L⁻¹.

A fim de aumentar o grau de ordenamento da rede porosa, as anodizações foram conduzidas em duas etapas como proposto por MASUDA e FUKUDA⁶⁷. Para tanto, a primeira providência tomada foi a troca do tipo de substrato de alumínio utilizado para um com maior espessura. Foram testadas amostras de folhas de alumínio utilizadas em latas de refrigerante e também folhas de alumínio utilizadas na proteção de fogão. Após a primeira etapa de anodização, a primeira camada do filme foi removida e uma nova anodização foi conduzida na mesma região do substrato marcada pelo primeiro crescimento da camada de óxido. Esta etapa corresponde a “Etapa C” da FIGURA 4.10.

A FIGURA 5.4 apresenta dois exemplos de micrografias da superfície após a segunda etapa de anodização. O substrato utilizado no preparo da amostra da FIGURA 5.4(a) foi o alumínio utilizado na confecção de latas de refrigerante e na FIGURA 5.4(b), foram utilizadas as folhas de alumínio usadas em protetores de fogão vendidos comercialmente para uso doméstico. O aspecto de colméia é observado na FIGURA 5.4(b), que mostra um maior ordenamento da superfície, o que não se aplica na FIGURA 5.4(a).

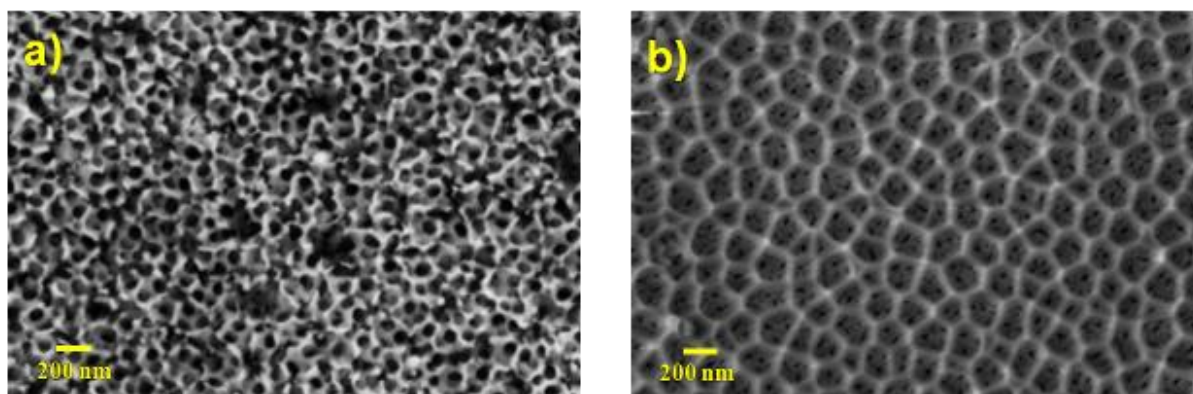


FIGURA 5.4- Micrografias de FEG da superfície da camada de AAP. (a) Folha de Alumínio usada na confecção de latas de refrigerante. (b) Folha de Alumínio vendida comercialmente folhas para proteção de fogão (espessura de 25 μm). Para os dois materiais, a anodização galvanostática foi realizada em duas etapas. Densidade de corrente de 8 mA cm^{-2} em solução ácido oxálico 0,1 mol L^{-1} (a) solução ácido fosfórico 0,1 mol L^{-1} (b).

A ideia de se comparar essas diferentes fontes de alumínio era agregar maior espessura às membranas, já que estas folhas têm 90 e 25 μm , respectivamente.

Neste ponto, é possível observar outra variável importante no ordenamento do filme poroso: a influência da rugosidade da superfície do metal. A rugosidade da superfície das amostras de alumínio usadas em latas de refrigerante é muito maior devido a deformação do alumínio, que não é totalmente plano e possui uma camada polimérica para proteção do material. A remoção da camada protetora e o eletropolimento da folha a ser anodizada agregam mais etapas produção da membrana.

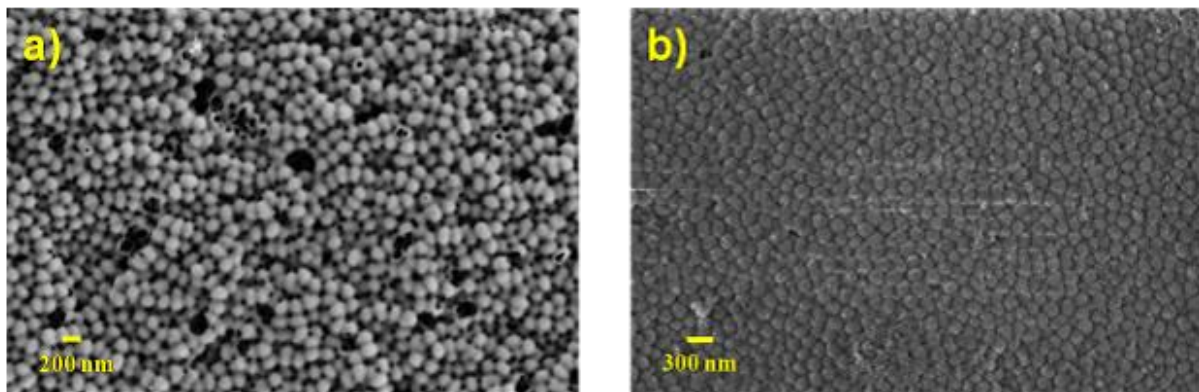


FIGURA 5.5- Micrografias de FEG da superfície da camada barreira do fundo dos poros. (a) Folha de Alumínio usada na confecção de latas de refrigerante. (b) Folha de Alumínio vendida comercialmente folhas para proteção de fogão (espessura de 25 μm). Para os dois materiais, a anodização galvanostática foi realizada em duas etapas. Densidade de corrente de 8 mA cm^{-2} em solução ácido oxálico 0,1 mol L^{-1} (a) solução ácido fosfórico 0,1 mol L^{-1} (b).

O alto grau de rugosidade das folhas de alumínio usadas na confecção de latas de refrigerante influencia diretamente o crescimento da camada barreira do fundo, como pode ser observado nas micrografias do fundo dos poros que são apresentadas na FIGURA 5.5. Assim, se fosse necessário utilizar este

material como matéria-prima para o desenvolvimento das membranas de filtração, uma etapa de eletropolimento teria que ser adicionada ao processo, o que acarretaria no aumento dos custos da produção das membranas de AAP.

Para facilitar e reduzir os custos da produção das membranas, o alumínio deve ser escolhido levando-se em consideração a importância de apresentar baixa rugosidade superficial, nenhuma aplicação de películas de proteção, poucos amassados e a menor quantidade de impurezas possível. Neste contexto, dentre amostras analisadas, os melhores resultados foram encontrados para a folha de alumínio usada em protetores de fogão (25 μm).

5.2- Desenvolvimento das membranas de AAP

5.2.1- Planejamento Fatorial 2^3 em folhas de Al

Nessa parte do trabalho, a necessidade foi primeiramente obter uma camada anódica que tivesse uma alta densidade de poros com tamanhos maiores que 100 nm, no máximo 200 nm com a maior espessura possível desses filmes. Muitos fatores influenciam bastante na morfologia da camada de alumina anódica: intensidade da corrente, tipo de eletrólito, a concentração do eletrólito e temperatura.

Após os estudos apresentados, o alumínio empregado na confecção das folhas para proteção de fogão (FIGURA 4.9(c)), eleito o substrato mais promissor, foi o escolhido para o desenvolvimento das membranas de AAP, devido a qualidade e ordenamento dos poros após as duas etapas de anodização, espessura adequada para obtenção de membranas com resistência mecânica suficiente para a aplicação.

Um novo planejamento fatorial foi realizado envolvendo as variáveis mais significativas do mapeamento do sistema juntas, com uma alteração na concentração dos eletrólitos utilizados: ácido fosfórico e oxálico (de 0,1 a 0,5 mol

L⁻¹, ao invés de 0,1 a 0,3 mol L⁻¹) e nos valores das densidades de corrente utilizadas durante as medidas (3 e 8 mA cm⁻², ao invés de 5 e 8 mA cm⁻²). Os novos valores de concentração de eletrólito e densidades de corrente foram escolhidos visando otimizar os resultados dos cálculos dos efeitos, aumentando a diferença entre os níveis dos fatores escolhidos, melhorando a visualização da variação das propriedades dos filmes a partir dos estudos dos efeitos observados. Este novo planejamento está descrito na TABELA 5.3, logo abaixo.

TABELA 5.3- Planejamento fatorial 2³, temperatura da solução eletrolítica em 20°C e do eletrodo de trabalho em aproximadamente 10°C. Amostras de alumínio (c) da FIGURA 4.9.

Variáveis	Parâmetros	Níveis 2 ³	
		-1	1
1	Densidade de corrente (mA cm ⁻²)	3	8
2	Eletrólito	H ₃ PO ₄	H ₂ C ₂ O ₄
3	Concentração do eletrólito (mol L ⁻¹)	0,1	0,5

As variáveis densidade de corrente, tipo de eletrólito utilizado e concentração do eletrólito, foram investigadas em dois níveis, resultando em um total de 8 experimentos realizados em duplicata, enumerados na TABELA 5.4.

A temperatura foi mantida em 20°C para todos os 8 experimentos realizados. Foram consideradas três tipos de respostas a fim de se escolher a melhor membrana para o teste biológico para aplicação das membranas como barreira física à passagem de microrganismos: a morfológica (espessura e tamanho dos poros) e a análise dos fluxos (L h⁻¹).

Nesta etapa, as respostas investigadas serão a porosidade média das membranas, a espessura e o fluxo de água através das membranas. Esta última

resposta foi estimada pela passagem de gás N₂ através da membrana, seguindo o procedimento apresentado em seções anteriores.

TABELA 5.4- Planejamento Fatorial 2³, mostrando as condições experimentais para execução das membranas

<i>Ensaio</i>	<i>Parâmetros</i>		
	Fator 1	Fator 2	Fator 3
	Densidade de corrente (<i>j</i>) [mA.cm ⁻²]	Concentração do eletrólito [mol.L ⁻¹]	Tipo de eletrólito
1	3	0,1	H ₃ PO ₄
2	8	0,1	H ₃ PO ₄
3	3	0,5	H ₃ PO ₄
4	8	0,5	H ₃ PO ₄
5	3	0,1	H ₂ C ₂ O ₄
6	8	0,1	H ₂ C ₂ O ₄
7	3	0,5	H ₂ C ₂ O ₄
8	8	0,5	H ₂ C ₂ O ₄

5.2.2- Cronopotenciometrias

Algumas cronopotenciometrias são apresentadas na FIGURA 5.6 e foram obtidas no estudo para definição das condições experimentais do planejamento fatorial 2³ apresentado na TABELA 5.4. Estas cronopotenciometrias são apresentadas como a diferença de potencial em função da densidade de carga típica durante a anodização, com a densidade de corrente igual a 8 mA cm⁻², empregada nos experimentos. A FIGURA 5.6 (a) e (b) apresentam o experimento 3 e a FIGURA 5.6 (c) e (d) apresentam o experimento

8 da TABELA 5.4. A primeira etapa de anodização é mostrada na FIGURA 5.6 (a) e (c) a qual foi removida da superfície do alumínio para a segunda etapa de anodização ser realizada, a qual pode ser vista na FIGURA 5.6 (c) e (d).

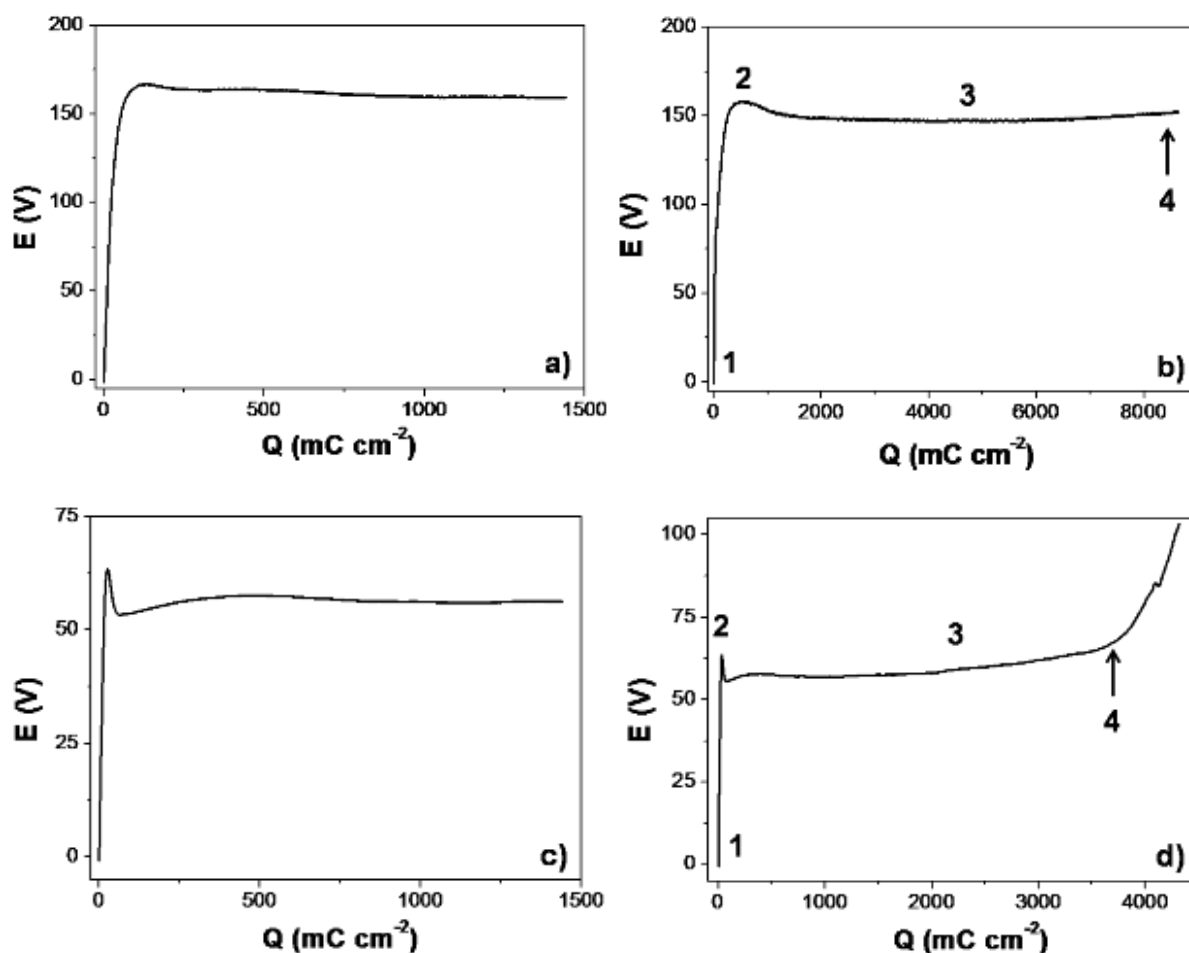


FIGURA 5.6- Cronopotenciometrias de folhas de papel alumínio utilizadas na confecção de protetores de fogão para o experimento 3 (a e b) e 8 (c e d) da TABELA 5.4 para a primeira anodização (a e c) e para a segunda (b e d). Densidade de corrente empregada de 8 mA cm^{-2} .

As três regiões distintas observadas e comentadas na FIGURA 5.1 (a e b) são novamente observadas aqui na FIGURA 5.6. Uma nova região pode ser observada, destacada na FIGURA 5.6 (d), o ponto 4, onde ocorre um repentino

aumento do potencial. Neste ponto, a folha de alumínio foi totalmente convertida em óxido. A partir dessa análise, foi preferível em todas as anodizações seguintes terminar antes de ponto.

As FIGURA 5.7 e FIGURA 5.8 apresentam as curvas típicas de potencial em função do tempo da anodização do alumínio em meio de ácido fosfórico (H_3PO_4) ou ácido oxálico ($H_2C_2O_4$) dos oito experimentos realizados no planejamento fatorial descrito na TABELA 5.4. Cada gráfico corresponde a um ensaio e já estão representadas as duas etapas. A primeira etapa (linha de cor preta) correspondente a primeira anodização e a segunda etapa (cor vermelha), correspondente a segunda anodização.

Para os experimentos que utilizaram ácido fosfórico como eletrólito (ensaio 1, 2, 3 e 4), a primeira etapa foi de 1 h e a segunda etapa foi de 2,5 h. Para os experimentos que utilizaram o ácido oxálico como eletrólito (ensaio 5, 6, 7 e 8), a primeira etapa foi de 30 min e a segunda etapa foi de 1 h. Isso porque o ácido fosfórico dissolve o filme de alumina, assim é necessário um maior tempo de anodização, a fim de se obter uma membrana mais espessa.

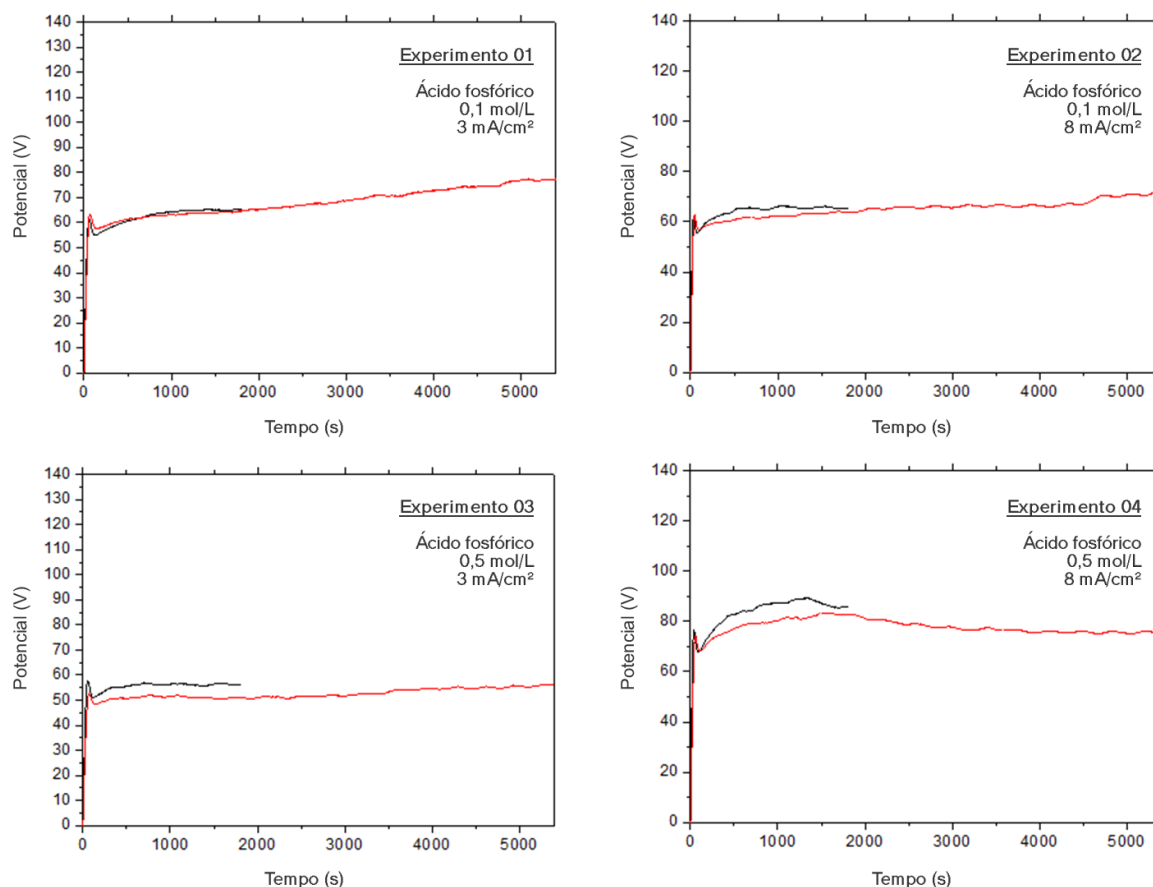


FIGURA 5.7 - Cronopotenciometrias de folhas de papel alumínio utilizadas como protetores de fogão, para os experimentos de 01 até 04 do planejamento fatorial descrito na TABELA 5.4. Densidade de corrente empregada de 3 ou 8 mA cm⁻². Primeira etapa de anodização (cor preta), com duração de 3600 s (para ácido fosfórico) e a segunda etapa de anodização (cor vermelha), com duração de 9000 s (para ácido fosfórico).

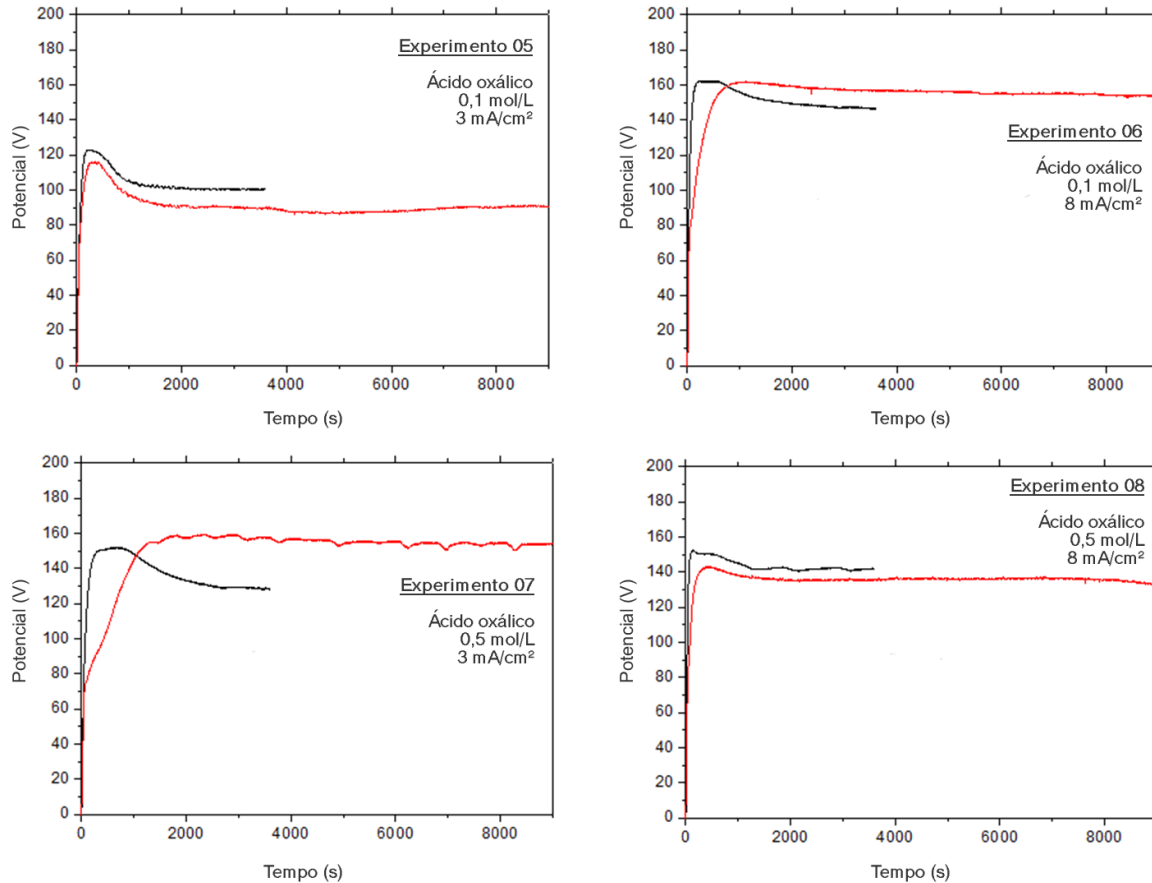


FIGURA 5.8- Continuação das cronopotenciometrias, para os experimentos 05 a 08 do planejamento fatorial descrito na TABELA 5.4. Densidade de corrente empregada de 3 ou 8 mA cm⁻². Primeira etapa de anodização (cor preta), com duração de 1800 s (para ácido oxálico) e a segunda etapa de anodização (cor vermelha), com duração de 5400 s (para ácido oxálico).

Observa-se que o valor do máximo de potencial varia de acordo com o tipo de ácido utilizado e com a corrente aplicada. Uma vez que, a espessura do filme de óxido formado é uma função do máximo de potencial⁴³, os filmes formados utilizando o ácido fosfórico como eletrólito são menos espessos. Isto é resultado do processo de dissolução do óxido que é mais solúvel a ácido fosfórico⁴³.

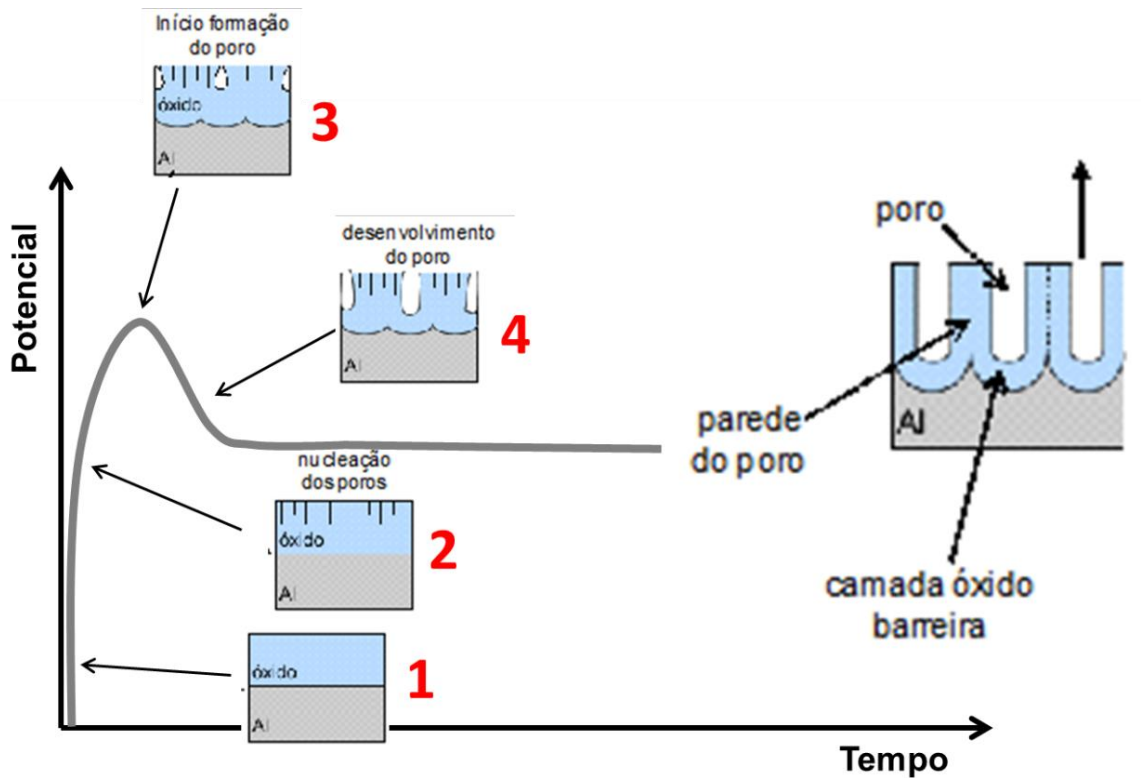


FIGURA 5.9- Potencial anódico em função do tempo durante anodização do alumínio em solução de ácido, em condição de anodização galvanostática. Representação esquemática do mecanismo de desenvolvimento da estrutura nanoporosa de alumina em relação ao potencial em função do tempo⁵⁰.

A FIGURA 5.9 mostra a variação do potencial anódico em função do tempo. Em destaque, tem-se a esquematização das etapas de formação da estrutura nanoporosa em relação ao potencial anódico em função do tempo. A primeira fase é caracterizada pela elevação abrupta do potencial (1). O aumento do potencial anódico em relação ao tempo, no início é praticamente linear, mas é gradualmente desacelerada até um valor máximo de potencial. Quando o potencial diminui, são gerados os núcleos da estrutura porosa (2). Na fase seguinte esses núcleos são transformados em pequenas bolsas (3) e, em seguida, os poros (4). As unidades porosas do sistema se desenvolvem, cobrem gradualmente toda a superfície e são auto organizadas. A fase final é a fase de estado estacionário, onde o potencial anódico aumenta ligeiramente. A estrutura porosa final já foi estabelecida no

início deste estágio. Em seguida, essa estrutura é reproduzida com algumas mudanças. Como o potencial anódico é variável durante a fase "estacionária", pode-se dizer que esse é um estado *quasi*-constante, como descrito por PATERMARAKIS⁵⁰.

5.2.3- Caracterização morfológica

A FIGURA 5.10 mostra a membrana de alumina anódica porosa após a finalização de todas as etapas descritas na FIGURA 4.10.

A fim de garantir estabilidade mecânica, assim como inibir o vazamento de solução contaminada durante o processo de filtração, a folha de alumínio metálico ((FIGURA 5.10 (A)) é mantida nas bordas da membrana. O centro da membrana, que é a região parcialmente transparente, corresponde à própria membrana de alumina anódica porosa (FIGURA 5.10 (B)) e o anel escuro é a membrana porosa sobreposta à base de alumínio (FIGURA 5.10 (C)).

Como já descrito no capítulo anterior, etapas A e E da FIGURA 4.10, a finalidade da membrana porosa possuir diferentes diâmetros de ambos os lados da folha de alumínio é o de melhorar a resistência mecânica do conjunto de filtração.

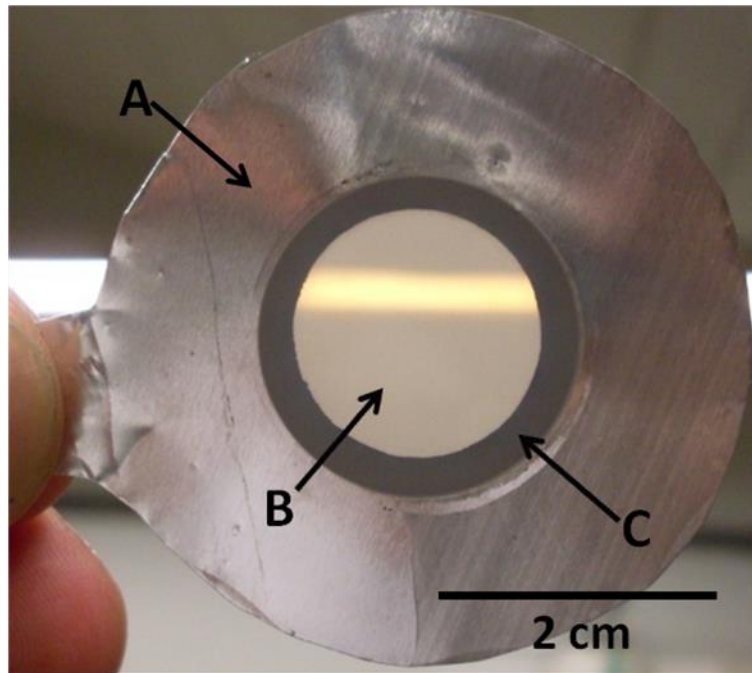


FIGURA 5.10- Fotografia da membrana obtida após o procedimento de remoção do alumínio e da base dos poros. Marcações: A: Folha de alumínio, B: membrana de alumina anódica porosa após todos os passos descritos na seção experimental e C: a membrana porosa sobre a folha de alumínio (resistência mecânica)

As oito membranas anodizadas nas diferentes condições experimentais do planejamento fatorial 2^3 descrito na TABELA 5.4, foram caracterizadas por FEG e são apresentadas na FIGURA 5.11. Para tanto, as membranas foram quebradas e submetidas a 3 diferentes tipos de análise para cada experimento.

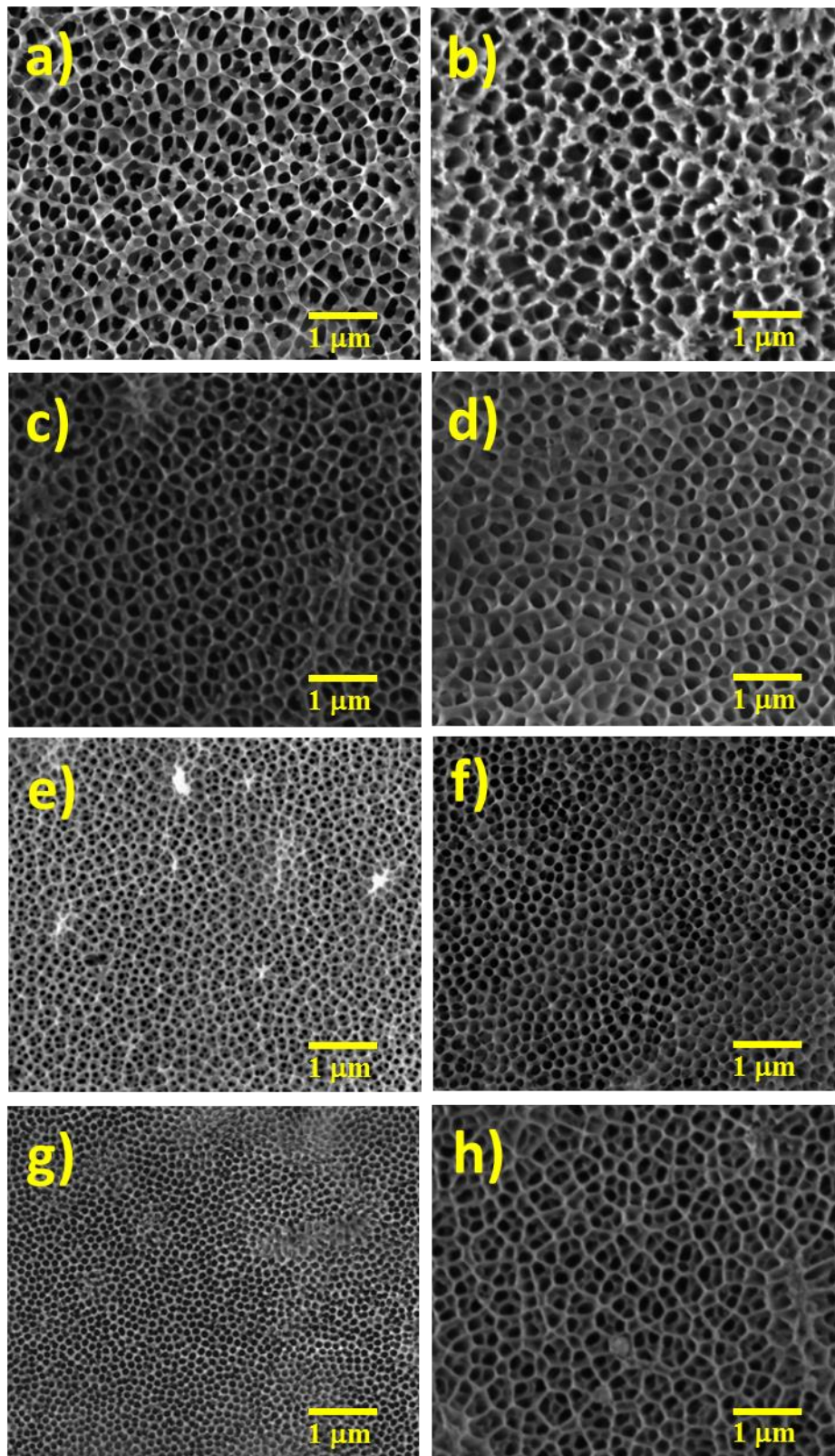


FIGURA 5.11- Micrografias de FEG das medidas do planejamento fatorial 2^3 para as oito amostras nas condições experimentais: 1 (a), 2 (b), 3 (c), 4 (d), 5 (e), 6 (f), 7 (g) e 8 (h), da TABELA 5.4.

A primeira análise das imagens obtidas através do FEG foi para se obter uma visão do topo de modo a verificar a distribuição dos poros e seu tamanho médio. A segunda foi para verificar a eficácia da abertura da camada barreira do fundo dos poros, que corresponde a “Etapa G” da FIGURA 4.10. A última análise foi feita na fratura da membrana para se verificar a espessura do filme e se seus poros apresentavam bifurcações.

Os resultados da análise morfológica das membranas obtidas segundo as condições experimentais do planejamento fatorial 2^3 , descrito na TABELA 5.4, são apresentadas na FIGURA 5.11. Como pode-se observar, há uma mudança significativa nas membranas dependendo da condição empregada na preparação da amostra. Foi possível controlar os diâmetros médios dos poros, D_p , e os valores médios foram de aproximadamente 55 nm (FIGURA 5.11 (e)) até aproximadamente 200 nm (FIGURA 5.11 (c)). Este tipo de análise foi necessário uma vez que o alumínio empregado neste trabalho foi pouco investigado na literatura. É importante notar que a baixa qualidade da ordenação dos poros não é importante para a aplicação dessas membranas. Os resultados de porosidade média serão listados na próxima seção, bem como o procedimento cálculo de tamanho médio e distribuição de poros, utilizando o programa *ImageJ*.

Foram feitas análises morfológicas do fundo dos poros (camada barreira), antes e após o ataque químico com solução de ácido fosfórico, descrito na metodologia experimental. Os resultados da abertura da base dos poros através da dissolução da camada barreira, são apresentados na FIGURA 5.12.

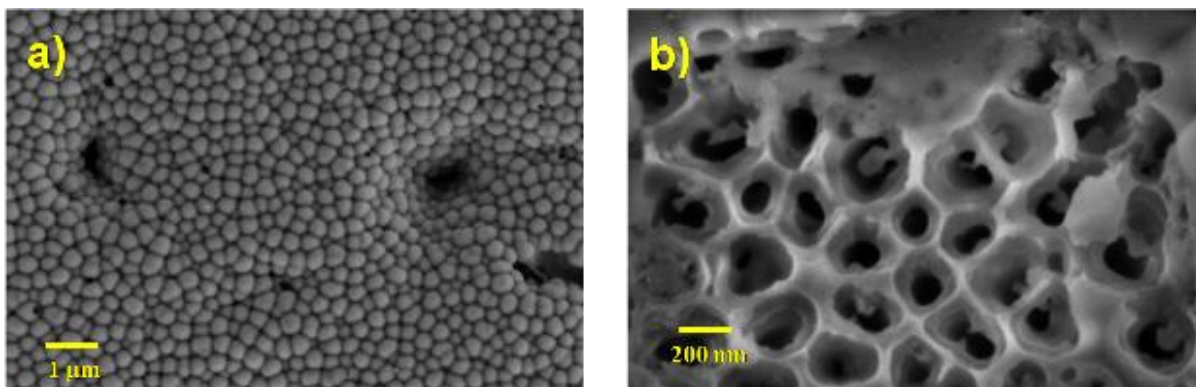


FIGURA 5.12- Micrografias de FEG das medidas do planejamento fatorial 2^3 . Condição experimental 4 (ácido fosfórico, $0,5 \text{ mol L}^{-1}$, densidade de corrente empregada de 8 mA cm^{-2}). Antes (a) e após (b) o ataque com a ácido fosfórico (solução 5 da TABELA 4.3).

A FIGURA 5.12 mostra o resultado do procedimento de abertura da camada de barreira para o experimento 4. A abertura da camada de barreira foi otimizada e o procedimento descrito na seção experimental foi utilizado para remover o fundo dos poros das membranas produzidas, permitindo fluxo através das membranas.

Estes resultados foram utilizados no cálculo da porosidade das membranas, descritos a seguir.

5.2.4- Cálculo da Porosidade Média das Membranas

Os resultados da porosidade média são listados na TABELA 5.5, junto com a variância calculada para cada análise, feita em duplicata. Estes resultados foram determinados a partir do tratamento das imagens de FEG com o programa *ImageJ*.

TABELA 5.5- Experimento fatorial 2^3 , temperatura da solução eletrolítica em 20°C e do eletrodo de trabalho em aproximadamente 10°C .

Experimentos	Fatores (2^3)			Resultados
	Fator 1	Fator 2	Fator 3	Diâmetro do poro (nm)
	<i>Densidade de corrente</i> (mA cm ⁻²)	<i>Concentração do eletrólito</i> (mol L ⁻¹)	<i>Tipo de eletrólito</i>	
1	3	0,1	H ₃ PO ₄	148±59
2	8	0,1	H ₃ PO ₄	192±78
3	3	0,5	H ₃ PO ₄	125±46
4	8	0,5	H ₃ PO ₄	164±61
5	3	0,1	H ₂ C ₂ O ₄	54±20
6	8	0,1	H ₂ C ₂ O ₄	105±36
7	3	0,5	H ₂ C ₂ O ₄	73±27
8	8	0,5	H ₂ C ₂ O ₄	121±44

A imagem foi binarizada selecionando a rede de poros de interesse através do ajuste do *threshold* da imagem. Para a binarização da imagem, o histograma das imagens em tons de cinza (256 níveis) é bipartido de modo a separar o fundo com a parede dos poros (bit 0) dos poros propriamente ditos (bit 1)¹⁴³. Deste cálculo uma área média foi determinada e a partir desta um diâmetro médio de porosidade junto com o desvio padrão para este cálculo. Em alguns casos, a membrana apresentava uma dupla rede de poros. Para o tratamento destas imagens foi selecionado a menor de poros (rede secundária), que é a limitante para o fluxo através da membrana, como pode ser visto para alguns experimentos na FIGURA 5.13.

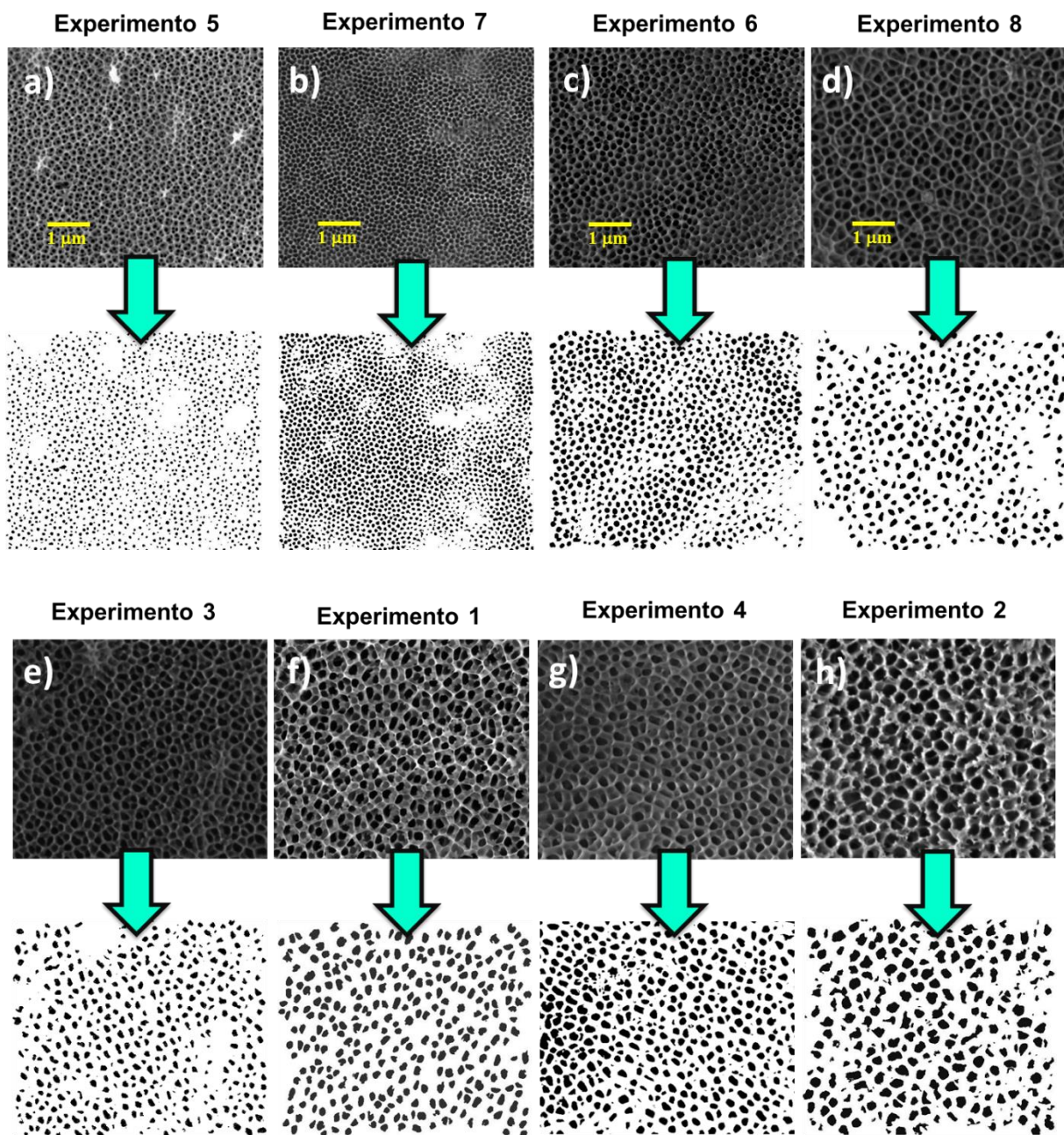


FIGURA 5.13- Ajuste das imagens e seleção da rede secundária de poros utilizando o programa *ImageJ* para todos experimentos, em ordem crescente (a até h) de diâmetro de poro. Acima da micrografia está a identificação do experimento.

Estes resultados foram atribuídos a matriz do planejamento fatorial e seus efeitos principais e de interação foram calculados segundo o procedimento descrito na literatura¹³⁰ e serão apresentados nas próximas seções.

Além do tamanho médio de poros, a espessura afeta de forma importante a resistência mecânica das membranas e estão descritas na seção seguinte.

5.2.5- Medidas de espessura das membranas

As medidas de espessura das membranas foram realizadas para cada condição experimental do planejamento fatorial 2^3 apresentado na TABELA 5.6. As FIGURA 5.15 FIGURA 5.15 apresentam as imagens da secção transversal das membranas que foram usados para medir a espessura dos filmes de alumina anódica porosa, para os oito experimentos.

Pode-se observar que os tubos dos poros das FIGURA 5.15(a) e (b), são relativamente simples, em certas condições, tais como as apresentadas nas FIGURA 5.15 (e), (g) e (h), a formação desses tubos pode ser bifurcada.

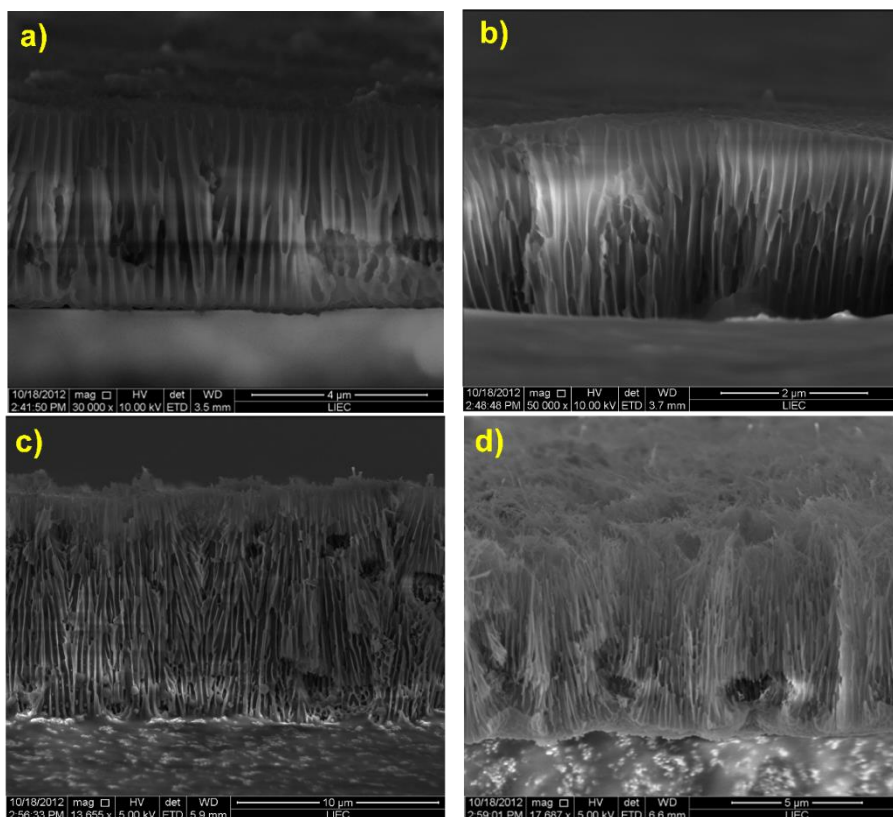


FIGURA 5.14 - Micrografias de FEG das medidas do planejamento fatorial 2^3 . Condição experimental: 1 (a), 2 (b), 3 (c), 4 (d), da TABELA 5.6.

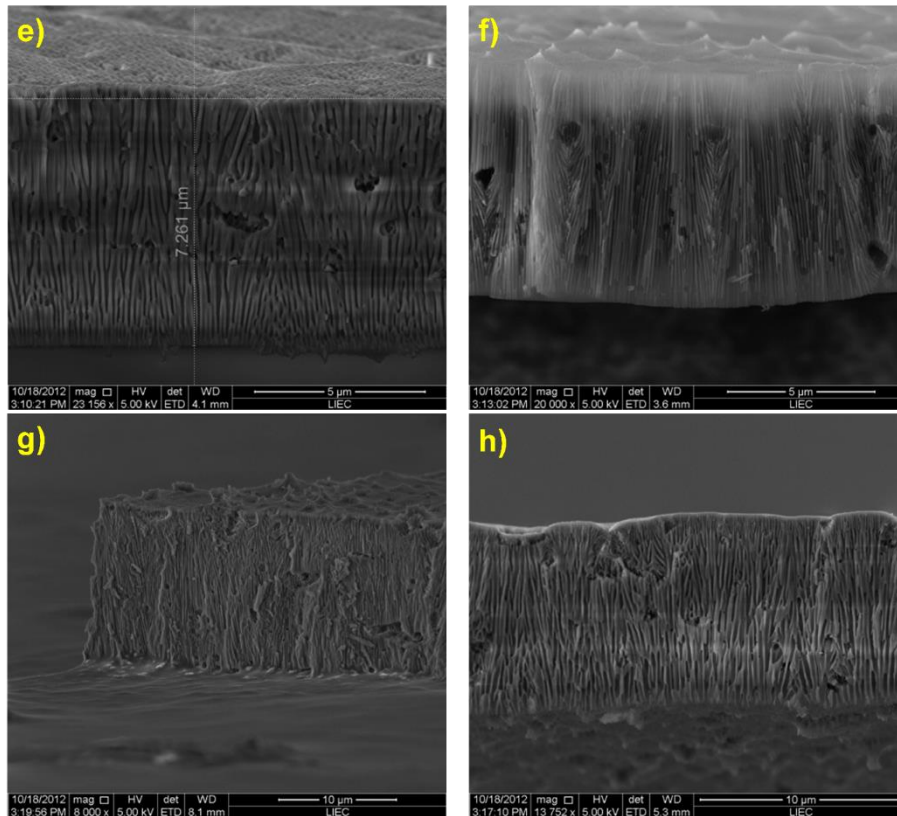


FIGURA 5.15- Micrografias de FEG das medidas do planejamento fatorial 2^3 . Condição experimental: 5 (e), 6 (f), 7 (f) e 8 (h), da TABELA 5.6.

Os resultados das medidas de espessura são apresentados na TABELA 5.6, abaixo. Os valores das espessuras variam de 2 a 13 μm . Esta análise veio a confirmar que existe uma variação grande na espessura das membranas para o planejamento fatorial em análise, o que interfere diretamente na resistência mecânica das membranas e na escolha da melhor membrana para a aplicação final. É importante frisar que o procedimento para fazer a medida de vista lateral de cada amostra é bastante trabalhoso. Por esta razão que esta determinação foi realizada apenas uma vez, de forma que não foi possível calcular o erro experimental nesta medida.

TABELA 5.6- Planejamento fatorial 2^3 , temperatura da solução eletrolítica em 20°C e do eletrodo de trabalho em aproximadamente 4°C .

Experimentos	Fatores (2^3)			Espessura (μm)
	Fator 1	Fator 2	Fator 3	
	<i>Densidade de corrente</i> (mA cm^{-2})	<i>Concentração do eletrólito</i> (mol L^{-1})	<i>Tipo de eletrólito</i>	
1	3	0,1	H_3PO_4	$4,7 \pm 1,0$
2	8	0,1	H_3PO_4	$11,7 \pm 1,0$
3	3	0,5	H_3PO_4	$2,8 \pm 1,0$
4	8	0,5	H_3PO_4	$7,2 \pm 1,0$
5	3	0,1	$\text{H}_2\text{C}_2\text{O}_4$	$7,3 \pm 1,0$
6	8	0,1	$\text{H}_2\text{C}_2\text{O}_4$	$13 \pm 1,0$
7	3	0,5	$\text{H}_2\text{C}_2\text{O}_4$	$7,9 \pm 1,0$
8	8	0,5	$\text{H}_2\text{C}_2\text{O}_4$	$9,3 \pm 1,0$

KOPP et al.¹³⁷ mostraram que filmes de alumina anódica porosa, crescidos em superfícies planas, côncavas e convexas, de alumínio com pureza de 99,999%. Nesse trabalho, a bifurcação dos poros ocorreu quando o diâmetro dos poros atingiu um valor elevado. Além disso, as irregularidades no fundo dos poros alargados, reorientaram as linhas de corrente de campo, iniciando uma dissolução melhorada da camada de barreira, permitindo o desenvolvimento de poros ramificados.

No presente trabalho, por outro lado, devido à utilização de folhas de alumínio 1050 de baixo custo (99,5% de pureza). para anodização, propomos que as irregularidades no crescimento dos poros como, por exemplo, o surgimento de bifurcações, podem ter sido causadas por estas impurezas, comparando o número de bifurcações neste trabalho quando comparado ao trabalho de KOPP¹³⁷.

Outro importante fator que acarreta na a bifurcação dos poros é o aquecimento da camada barreira¹⁴⁵. Na tentativa de reduzir este efeito, todos os

experimentos foram realizados com controle de temperatura sob a folha de alumínio, com a placa Peltier, a fim remover a geração de calor nas amostras durante as etapas de anodização ¹⁴⁴, também com a utilização de agitação mecânica. Sem agitação, a temperatura do eletrólito no fundo dos poros aumenta significativamente, o que acelera dissolução química ⁴³, assim como a formação do óxido ¹⁴⁶, piorando a qualidade dos filmes de alumina.

5.2.6- Apresentação dos efeitos das variáveis estudadas sobre as propriedades das membranas

Os valores médios dos diâmetros dos poros e também das espessuras, para as oito amostras do planejamento fatorial 2^3 , estão representadas no cubo da FIGURA 5.16 e FIGURA 5.17, respectivamente.

Este tipo de representação de dados, conhecida como representação geométrica, é importante para mostrar a distribuição dos dados, deixando clara as mudanças observadas nas respostas obtidas a partir dos fatores estudados. Os eixos do cubo designam cada uma das três variáveis investigadas (TABELA 5.3) e nos vértices do cubo estão os resultados obtidos e os desvios padrão, respectivamente.

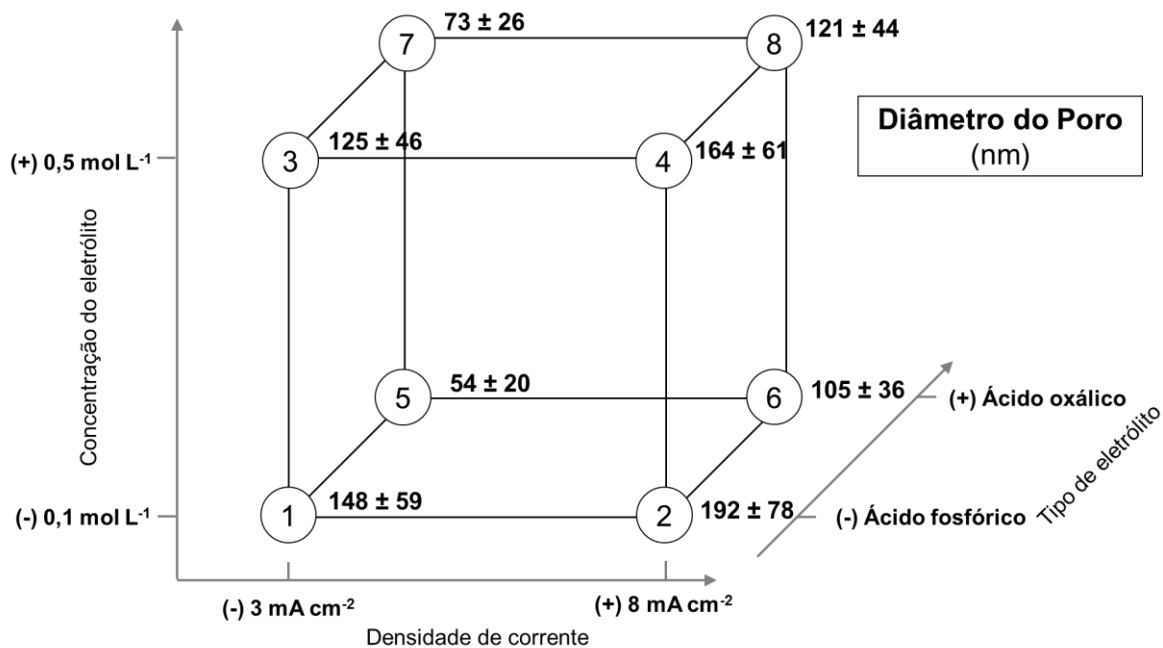


FIGURA 5.16- Interpretação geométrica para os resultados do diâmetro dos poros (μm) das membranas de alumínio anodizado nas condições descritas no Planejamento Fatorial 2^3 da TABELA 5.9.

A determinação do melhor diâmetro de poro é muito importante, uma vez que este é o parâmetro principal responsável por afetar o fluxo de líquido através das membranas, assim como a retenção das bactérias.

As membranas em estudo serão usadas na filtração de água potável e, quando o diâmetro do poro é maior que 200 nm, estes dispositivos não poderão ser utilizados como uma barreira física para agentes patogênicos, tais como *E. coli*. Portanto, membranas de alumina anódica porosa, com diâmetros de poros maiores do que 200 nm não são suficientes para alcançar o objetivo da próxima etapa do trabalho.

Os dados apresentados na FIGURA 5.16, mostram uma diminuição dos diâmetros dos poros quando o ácido fosfórico é trocado pelo ácido oxálico. É descrito na literatura que a uniformidade de diâmetro de poro nos filmes de alumina anódica porosa é fortemente afetado pela capacidade de dissolução do

ácido utilizado como eletrólito na anodização. SULKA⁴³ relatou que o ácido fosfórico é mais agressivo que o ácido oxálico na dissolução do filme, o que resulta num aumento significativo dos poros, tal como observado acima.

O aumento na densidade de corrente também resulta em um aumento nos valores dos diâmetros dos poros (experimentos 2, 4, 6, e 8). SHAWAQFEH¹⁴⁷ mostrou que n diminui com a densidade de corrente da anodização através da seguinte relação:

$$n = n_0 i^{-\alpha} \quad (3)$$

onde n é a densidade dos poros, i é a corrente e n_0 e α são constantes¹⁴⁷. Essa relação está de acordo com os dados apresentados na FIGURA 5.16.

O efeito do aumento da concentração de eletrólito, considerando o erro experimental, quase não tem efeito sobre os valores dos diâmetros dos poros. O planejamento fatorial é o único método que permite mensurar os efeitos cruzados entre as variáveis, tais como o efeito no nível de resposta de uma variável, considerando a mudança de uma segunda variável. Neste estudo, observou-se um efeito cruzado entre a concentração do ácido e o tipo de eletrólito utilizado sobre as respostas obtidas para os diâmetros médios dos poros.

Na FIGURA 5.16 é possível observar que os valores dos diâmetros dos poros diminuem quando a concentração da solução de ácido fosfórico foi aumentada de 0,1 (experimentos 1 e 2) a 0,5 mol L⁻¹ (experimentos 3 e 4). No entanto, de uma forma diferente, os valores dos diâmetros dos poros aumentam quando a concentração de ácido oxálico em solução é aumentada de 0,1 (experimentos 5 e 6) a 0,5 mol L⁻¹ (experimentos 7 e 8), como ilustrado pelas setas da FIGURA 5.16. Uma possível explicação pode estar relacionada ao fato de que o crescimento do óxido ocorrer na interface óxido/metal e, como consequência,

os ânions migram para a camada de barreira, devido ao campo elétrico⁴³. Portanto, diferentes ânions podem causar este efeito cruzado.

Os valores de espessura são exibidos na FIGURA 5.17. Observa-se na imagem que as maiores espessuras das membranas de alumina anódica porosa foram: $13 \pm 1,0 \mu\text{m}$ (experimento 6), $11,7 \pm 1,0 \mu\text{m}$ (experimento 2) e de $9,3 \pm 1,0 \mu\text{m}$ (experimento 8). Este parâmetro é importante pois está diretamente relacionado à resistência mecânica, que deve ser suficientemente elevada para tornar as membranas estáveis durante o processo de filtração, no qual alta pressão pode ser usada^{148,149}.

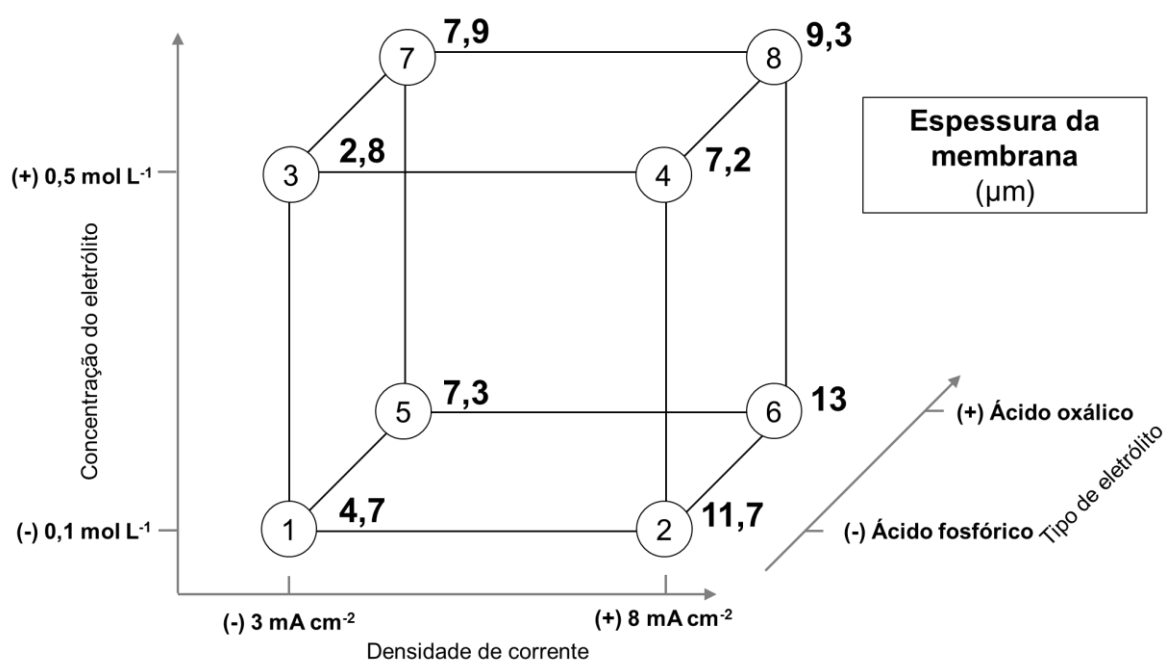


FIGURA 5.17- Interpretação geométrica dos valores obtidos para espessura das membranas (μm) de alumínio anodizado nas condições descritas no Planejamento Fatorial 2^3 da TABELA 5.9.

O efeito das diferentes variáveis estudadas foi uma diminuição nos valores de espessura com o aumento da concentração do eletrólito, o que pode

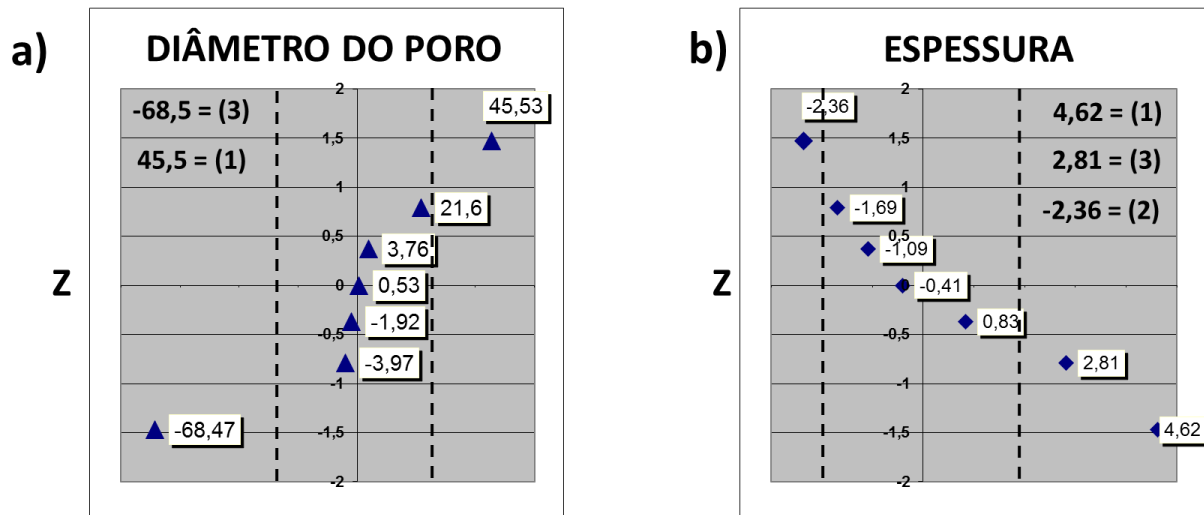
estar relacionado ao aumento da dissolução do filme de óxido⁴³. A agressividade do ácido fosfórico é claramente observada na FIGURA 5.17, pois os ensaios que utilizaram essa solução como eletrólito apresentaram valores de espessura consideravelmente menores (até 2,8 vezes mais baixos), veja os valores para os experimentos 1, 2, 3 e 4. Por fim, quando a densidade da corrente é aumentada de 3 mA cm⁻² para 8 mA cm⁻², foi observado um aumento nos valores de espessura.

Os resultados apresentados na FIGURA 5.16 e FIGURA 5.17 podem ser usados para calcular os efeitos e interações entre estas variáveis para respostas específicas. Os limites de significância foram calculados a partir da variância dos experimentos. A TABELA 5.7 apresenta os resultados para o diâmetro dos poros e a espessura das membranas.

TABELA 5.7 - Principais efeitos e interações estimados para os resultados do planejamento fatorial 2³

EFEITOS E INTERAÇÕES	Estimativa dos efeitos (µm)	
	<i>Diâmetro dos poros</i>	<i>Espessura</i>
Média ± Desvio Padrão (DP)	122,7 ± 0,6	8,0 ± 0,5
Efeitos Principais ± DP		
(1) Densidade de Corrente	45,5 ± 11	4,6 ± 1,0
(2) [Ácido]	-4,0 ± 11	-2,4 ± 1,0
(3) Eletrólito	-68,5 ± 11	2,8 ± 1,0
Interação entre dois fatores ± DP		
(1) X (2)	-1,9 ± 11	-1,7 ± 1,0
(1) X (3)	3,8 ± 11	-1,1 ± 1,0
(2) X (3)	21,6 ± 11	0,8 ± 1,0
Interação entre três fatores ± DP		
(1) X (2) X (3)	0,5 ± 11	-0,4 ± 1,0
Limite de significância (95%)	25,4	2,24

Outra representação bastante usada é o gráfico normal dos efeitos que é apresentado na FIGURA 5.18. A FIGURA 5.18 mostra graficamente os efeitos e interações para os valores médios de diâmetro de poro e de espessura para as membranas de alumina anódica porosa.



Efeitos e Interações

FIGURA 5.18- Gráfico normal dos valores dos efeitos calculados no estudo do diâmetro dos poros (a) e de espessura (b) das membranas de alumínio anodizado nas condições descritas no Planejamento Fatorial 2^3 da TABELA 5.6.

Considerando as mudanças no diâmetro dos poros, observou-se que os principais efeitos foram devido às seguintes variáveis: densidade de corrente e tipo de eletrólito, com $45,5 \pm 11$ e $-68,5 \pm 11$, respectivamente. O sinal negativo no último valor de efeito indica que a mudança do tipo de eletrólito de seu nível baixo (ácido fosfórico) para o nível elevado (ácido oxálico) leva a uma "diminuição" no diâmetro dos poros. Este efeito é provavelmente relacionado à dissolução química do óxido devido ao eletrólito, tal como é sugerido na literatura⁵⁰. É importante notar que, tendo em vista o limite de significância, os efeitos relacionados às interações não têm valores significativos, devido aos valores do desvio padrão calculados.

Levando em conta a espessura do filme, todos os efeitos principais foram significativos. Entre eles, o mais importante é o efeito da densidade de corrente ($4,6 \pm 1,0$) sob a espessura do filme obtido. Os efeitos positivos significam que existe um aumento nos valores da espessura quando a densidade de corrente é aumentada de um valor do nível mais baixo (3 mA cm^{-2}) para um valor num nível mais alto (8 mA cm^{-2}). Este é um resultado esperado, já que de acordo com DIGGLE et al.¹¹¹, o campo elétrico é uma função da espessura do óxido anódico do tipo barreira, a fim de manter uma densidade de corrente constante.

Sendo assim, como conclusões parciais, as principais variáveis que definem os melhores valores de diâmetro dos poros e espessura das membranas são o tipo de eletrólito utilizado e a densidade de corrente. Quanto maior a densidade de corrente, maior a espessura das membranas. Já o tamanho dos poros aumenta com o aumento da concentração de ácido oxálico e a diminuição da concentração de ácido fosfórico acarreta no mesmo efeito.

No entanto, para a construção de um sistema de filtração de água, o fluxo de água é uma resposta muito importante, pois é necessário garantir uma quantidade suficientemente grande de água filtrada, a fim de suprir as necessidades do usuário final. Esta resposta será investigada na próxima seção.

5.2.7- Medidas de fluxo de N_2 através da membrana

A lei de Darcy e equação Forchheimer¹³⁴ propõe um método para correlacionar o fluxo de gás com o fluxo de um líquido. Neste sentido, as medições de permeabilidade a gases com N_2 foram realizadas para estimar a vazão de água através das membranas de alumina anódica porosa, utilizando um planejamento fatorial 2^3 .

O sistema de fluxo usado é apresentado na FIGURA 4.8, na seção experimental. A membrana de AAP é posicionada dentro do suporte de Teflon

apresentado na FIGURA 5.19, o qual é posicionado dentro das duas câmeras de pressão mostradas na FIGURA 4.8(a) e (e), no ponto (d).



FIGURA 5.19- Suporte para a membrana de AAP durante as medidas de fluxo em N_2 . A velocidade de vazão do gás, para um volume fixo visto no bolhômetro, é tabelada junto com a diferença de pressão entre as câmeras para diferentes velocidades de fluxo de entrada de gás no sistema.

A TABELA 5.8 apresentada na FIGURA 5.20 mostra estes resultados agrupados para uma condição experimental do planejamento fatorial. As sucessivas conversões, coluna a coluna, são listadas com as referidas equações usadas.

A equação de Darcy para fluidos compressíveis foi empregada para achar as constantes k_1 e k_2 para fluxo de N_2 através da membrana. Com estas constantes e utilizando agora a equação de Forchheimer para fluidos não compressíveis e os dados para H_2O e N_2 , da TABELA 5.8, a vazão de água de foi estipulada para cada membrana.

TABELA 5.8- Constantes usadas nos cálculos para estimar o fluxo de água através das membranas de AAP.

Substância	μ / Pa s	ρ / Kg m ³
N ₂	1,77 x 10 ⁻⁵	1,185
H ₂ O	8,91 x 10 ⁻⁴	997,05

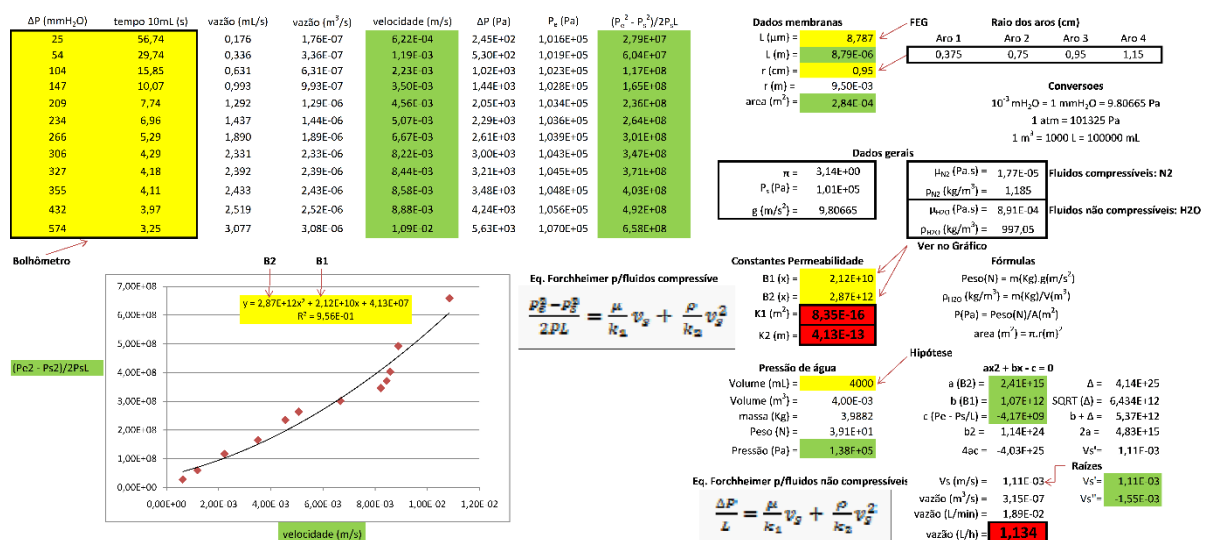


FIGURA 5.20- Planilha elaborada para os cálculos dos fluxos das membranas. Em amarelo se encontra destacado os campos onde os dados experimentais são inseridos, em verde os dados calculados e em vermelho os dados de saída como as constantes de permeabilidade (k_1 e k_2) e a vazão da membrana calculada em L h⁻¹.

Os resultados agrupados para todos os fluxos são apresentados na TABELA 5.9.

TABELA 5.9- Planejamento fatorial 2^3 , temperatura da solução eletrolítica em 20°C e do eletrodo de trabalho em aproximadamente 10°C .

Experimentos	Fatores (2^3)			Fluxo (L h^{-1})
	Fator 1	Fator 2	Fator 3	
	<i>Densidade de corrente</i> (mA cm^{-2})	<i>Concentração do eletrólito</i> (mol L^{-1})	<i>Tipo de eletrólito</i>	
1	3	0,1	H_3PO_4	$2,1 \pm 0,10$
2	8	0,1	H_3PO_4	$0,68 \pm 0,10$
3	3	0,5	H_3PO_4	$0,84 \pm 0,10$
4	8	0,5	H_3PO_4	$0,44 \pm 0,10$
5	3	0,1	$\text{H}_2\text{C}_2\text{O}_4$	$0,30 \pm 0,10$
6	8	0,1	$\text{H}_2\text{C}_2\text{O}_4$	$1,42 \pm 0,10$
7	3	0,5	$\text{H}_2\text{C}_2\text{O}_4$	$0,18 \pm 0,10$
8	8	0,5	$\text{H}_2\text{C}_2\text{O}_4$	$1,1 \pm 0,10$

Para verificar a precisão reprodutibilidade das medidas de fluxo medida, foi realizada a triplicada do experimento 2 do planejamento fatorial 2^3 (em destaque na TABELA 5.9) e os resultados de média, variância e desvio padrão da medida, são apresentados na TABELA 5.10.

TABELA 5.10- Triplicata dos fluxos experimento 3 do planejamento fatorial 2^3 .

Exp.	Triplicatas de Vazão / L h^{-1}			Parâmetros Estatísticos			
	1	2	3	Média	Variância	Desvio Padrão	Erro Padrão
3	0,695	0,778	1,049	0,841	0,03	0,19	0,10

O desvio padrão elevado desta medida de fluxo pode estar atrelado a algumas fontes de erro. A etapa de abertura dos poros da membrana de alumina anódica porosa é provavelmente a principal. Esta hipótese reforça a escolha da membrana pelos dados de espessura, já que todas ficaram abaixo da porosidade média de 200 nm, necessária para a filtração. Outro ponto é que a equação de Forchheimer pode estar prevendo dados incorretos de vazão, uma vez que é feita uma extrapolação de fluxos partindo da análise de um gás e é feita a extrapolação para uma vazão de um líquido, a água.

A representação geométrica dos valores líquidos de fluxo médio e seus principais efeitos e interações são apresentados na FIGURA 5.22 (a) e (b), respectivamente. Estes efeitos e interações foram analisados, dentro do seu limite de significância (ou seja, 0,26; FIGURA 5.22(b), indicado por linhas pontilhadas).

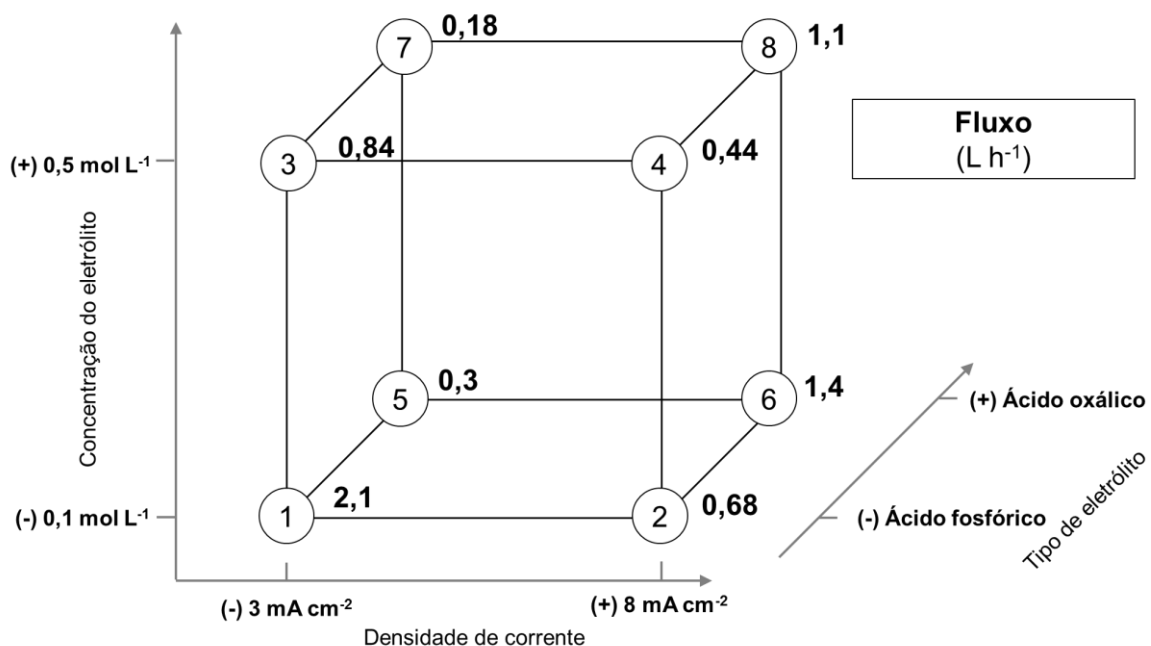


FIGURA 5.21- Interpretação geométrica dos valores médios de fluxo ($L h^{-1}$) das membranas de alumínio anodizado nas condições descritas no Planejamento Fatorial 2^3 da TABELA 5.9.

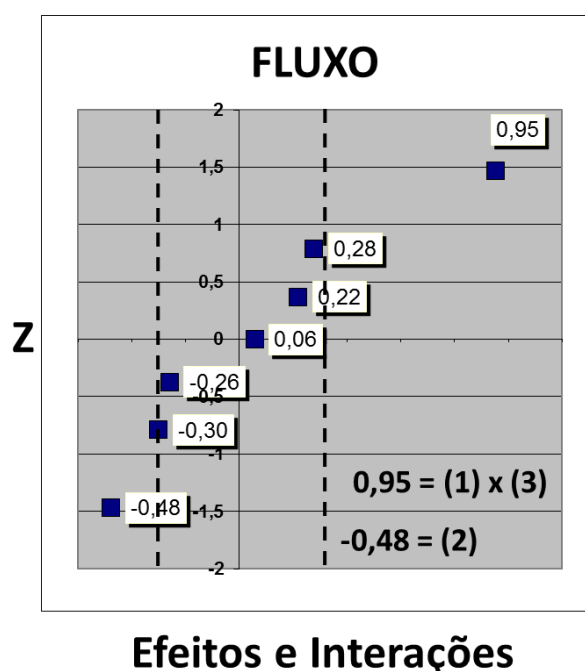


FIGURA 5.22 - Efeitos e interações dos valores médios de fluxo (L h⁻¹) das membranas de alumínio anodizado nas condições descritas no Planejamento Fatorial 2³ da TABELA 5.9.

O efeito de interação entre a densidade de corrente e eletrólito (tipo de ácido) é muito importante, como pode ser visto na FIGURA 5.22 e na TABELA 5.11. A figura mostra um efeito positivo com 0,95 de significância, seguido por um efeito negativo, relacionado à concentração de ácido (-0,48 L h⁻¹). Um efeito cruzado entre estes dois fatores é mostrado na FIGURA 5.21. Isto significa que em uma densidade de corrente menor (3 mA cm⁻²), quando é feita a mudança do nível inferior (ácido fosfórico) para o nível superior (ácido oxálico), observa-se uma redução dos valores médios de vazão de água estimados. Apesar disso, quando a densidade de corrente aumenta (8 mA cm⁻²), também com as mesmas mudanças de nível de ácido, a vazão aumenta.

TABELA 5.11- Principais efeitos e interações estimados para os resultados de fluxo do planejamento fatorial 2³.

EFEITOS E INTERAÇÕES	Estimativa dos efeitos (µm)
	<i>Fluxo</i>
Média ± Desvio Padrão (DP)	0,88 ± 0,5
Efeitos Principais ± DP	
(1) Densidade de Corrente	0,06 ± 0,10
(2) [Ácido]	-0,48 ± 0,10
(3) Eletrólito	-0,26 ± 0,10
Interação entre dois fatores ± DP	
(2) X (1)	0,22 ± 0,10
(1) X (3)	0,95 ± 0,10
(2) X (3)	0,28 ± 0,10
Interação entre três fatores ± DP	
(1) X (2) X (3)	-0,3 ± 0,10
Limite de significância (95%)	0,3

Os resultados agrupados para todos os diâmetros médios, espessura e fluxos são apresentados na TABELA 5.12.

O valor negativo obtido para a concentração de ácido indica uma diminuição na vazão estimada de água, quando a concentração do eletrólito é aumentada, alterando de 0,1 a 0,5 mol L⁻¹ (FIGURA 5.21). Estes efeitos e interações foram analisadas dentro de seus limites de significância.

TABELA 5.12- Planejamento fatorial 2^3 , temperatura da solução eletrolítica em 20°C e do eletrodo de trabalho em aproximadamente 10°C .

Variáveis	Parâmetros			Níveis 2^3			
				-1		1	
1	Densidade de corrente (A cm ²)			3		8	
2	Eletrólito			Ác. Fosfórico		Ác. Oxálico	
3	[Ácido] mol L ⁻¹			0,1		0,5	
Ensaio	1	2	3	DP_{max} (mm H ₂ O)	Fluxo (L h ⁻¹)	Espessura (μm)	Diâmetro médio dos poros (μm)
1	-1	-1	-1	121	2,1 ± 0,13	4,7 ± 1,0	148 ± 11
2	1	-1	-1	147	0,68 ± 0,13	11,7 ± 1,0	192 ± 11
3	-1	1	-1	157	0,84 ± 0,13	2,8 ± 1,0	125 ± 11
4	1	1	-1	237	0,44 ± 0,13	7,2 ± 1,0	164 ± 11
5	-1	-1	1	138	0,3 ± 0,13	7,3 ± 1,0	54 ± 11
6	1	-1	1	232	1,4 ± 0,13	13 ± 1,0	105 ± 11
7	-1	1	1	263	0,18 ± 0,13	7,9 ± 1,0	73 ± 11
8	1	1	1	614	1,1 ± 0,13	9,3 ± 1,0	121 ± 11

Analisando todos os resultados obtidos para diâmetro dos poros, espessura dos filmes e fluxo de líquido através das membranas, as amostras de alumina anódica porosa, preparadas nos ensaios 6 e 8, são as membranas mais indicadas para a etapa seguinte, que consiste na filtração de água contaminada com bactérias do tipo *E. coli*.

Durante as medições de permeabilidade de gás com N₂, todas as membranas foram analisadas até que fossem rompidas, e estes dados foram conclusivos na escolha da melhor membrana para aplicação. Finalmente, as pressões máximas de N₂ (DP_{max}) para as membranas escolhidas foram 232 e 614 mmH₂O para as membranas preparadas em condições 2 e 8, respectivamente.

Portanto, considerando os dados presentes nas FIGURA 5.16, FIGURA 5.17, FIGURA 5.21 e TABELA 5.12 e a pressão máxima suportada pelas membranas, as membranas de alumina anódica porosa preparadas usando as condições descritas para o experimento 8 foram escolhidas para utilização na filtração de água potável. É importante notar que as duas membranas destacadas seriam indicadas para essa finalidade.

Para testar o desempenho das membranas na filtração de agentes patogênicos, foram realizadas uma série de experimentos utilizando a bactéria *E. coli*, um patógeno comumente encontrado em fontes de água não tratada para o consumo humano¹³². Estes resultados serão apresentados na próxima seção.

5.3- Ensaios Microbiológicos

A capacidade de retenção da membrana de alumina anódica porosa para bactérias do tipo *E. coli* foi testada. A bactéria utilizada neste trabalho foi a *E. coli* cepa BL21, transformada com o plasmídeo pET28a. Todos os experimentos foram realizados na presença do antibiótico canamicina, como já descrito em seções anteriores. Desta forma, apenas a cepa de *E. coli* BL21 poderia crescer nas placas de Petri, evitando assim possíveis contaminações externas, que poderiam interferir nas análises.¹³³

A filtração por membrana é frequentemente utilizada, especialmente em testes de esterilidade. Esse método consiste na retenção física do microrganismo na membrana filtrante. Foram realizados testes a fim de comprovar a eficácia das membranas de alumina anódica porosa na esterilização dos meios líquidos, utilizando o sistema de filtração adquirido pelo laboratório para esta finalidade. O sistema de filtração e a metodologia adotada na filtração da solução padrão com *E. coli* foi descrita no Capítulo 4, Material e Métodos.

A etapa do ensaio microbiológico foi readequada a fim de garantir reprodutibilidade nos resultados, envolvendo a otimização de diversas etapas

dentro de todo o processo. A primeira etapa realizada foi a utilização de um sistema de filtração que permitisse a realização do experimento sem comprometimento das membranas, que são mecanicamente frágeis. Assim, o sistema escolhido foi utilizado de modo a evitar, através de rosqueamentos, que tensões mecânicas pudessem ser transferidas às membranas.

Houve também a otimização no processo de esterilização das membranas de AAP, que não resistiram às sucessivas autoclavagens, sendo assim, o método escolhido para esterilização das mesmas foi o banho em etanol 70% durante 5 min, seguido de secagem ao ar. Esse método garantiu o reaproveitamento das membranas que ficavam extremamente quebradiças após a esterilização via autoclave.

A etapa do teste biológico também foi aperfeiçoada a fim de aproximar-se ao máximo dos testes padrão realizados por órgãos fiscalizadores¹⁵⁰. O meio de cultivo das células passou a ser diluído para evitar o acúmulo de material biológico, o chamado “bolo”, na membrana, que acarreta em grande perda do fluxo, inviabilizando a continuidade do teste e também o reaproveitamento da mesma membrana.

Além disso, foi acrescentada e melhorada a etapa de plaqueamento, que possibilitou controlar o grau de retenção obtido nos ensaios através da contagem das colônias da água contaminada e também da água filtrada.

Na FIGURA 5.23 estão as fotos das placas de ágar do meio filtrado após 24 h de incubação. As soluções foram diluídas em solução salina (soluções do filtrado - F0 a F4: 10^0 , 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4} UFC cm^{-2} e soluções do padrão de concentrado bacteriano não-filtrado - C0 a C4: 10^0 , 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4} UFC cm^{-2}). Mesmo em baixas concentrações (C3 ou C4), é possível observar a presença de colônias de bactérias.

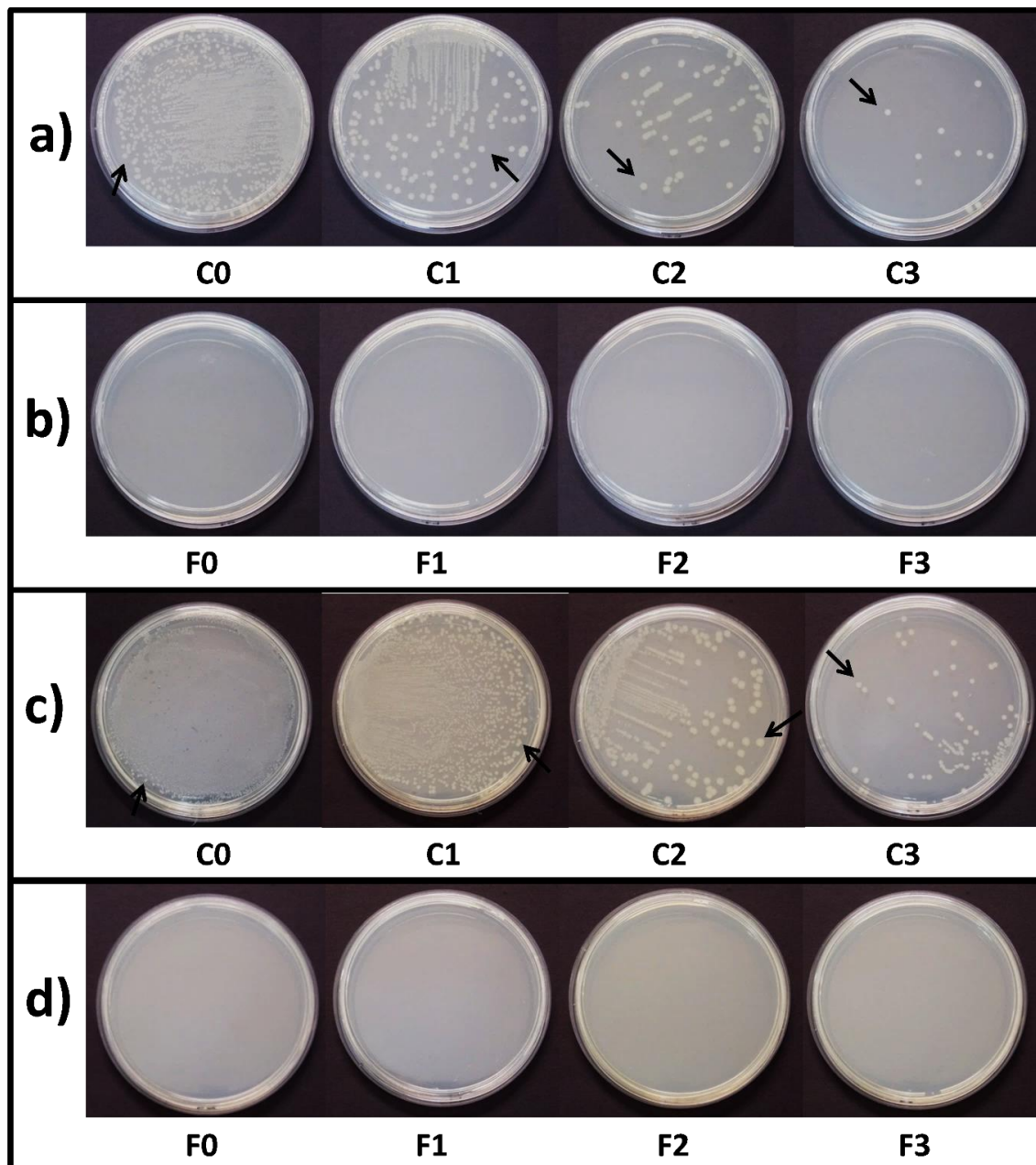


FIGURA 5.23 - Remoção das bactérias da solução de água contaminada utilizando as membranas de alumina anódica porosa (experimento 8 – Planejamento 2³). Placas de Petri em (a) e (c) Solução controle em duplicata, ou seja, a solução contaminada com *E.coli*, antes da filtração. As fotos C0 até C4 correspondem às diluições sucessivas em 10^0 , 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4} CFU cm^{-2} , respectivamente. As linhas (b) e (d) correspondem aos ensaios em duplicata, com as soluções controle após filtração com as membranas de AAP. O filtrado também foi diluído de F0 a F4, com concentrações 10^0 , 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4} CFU cm^{-2} , respectivamente.

Na imagem da FIGURA 5.23, as placas de Petri com a solução padrão “contaminada” estão nas linhas (a) e (c). As placas de Petri incubadas com as soluções pós filtração com as membranas de alumina anódica porosa estão nas linhas (b) e (d).

As FIGURA 5.23(b) e FIGURA 5.23(d) mostram as placas de Petri preparadas com a solução filtrada utilizando a membrana de alumina anódica porosa (o ensaio foi feito em duplicata), em diferentes concentrações. Não foi observado o crescimento de colônias de bactérias em nenhuma das soluções testadas. Portanto, a taxa de filtração das membranas de AAP foi de 100%. O teste biológico foi bem-sucedido, e a membrana de alumina anódica porosa provou ser completamente eficaz na remoção de bactérias através da retenção das mesmas, devido ao tamanho dos poros ser inferior ao tamanho dos agentes patogênicos testados.

Até aqui vimos que foi possível produzir membranas de alumina anódica porosa utilizando folhas de alumínio de baixo custo, com 99,5% de pureza, com um tamanho de poro ajustável, que foi otimizado para a retenção de agentes patogênicos. E utilizando a membrana desenvolvida, foi possível realizar a retenção física de *E. coli*, melhorando assim a qualidade da água para consumo.

Ainda assim, a fim de viabilizar a utilização desse material em sistemas de filtração de água para consumo, é necessário otimizar algumas propriedades das membranas obtidas, principalmente as relacionadas ao fluxo de água através das membranas. O fluxo de água medido através da membrana escolhida (experimento 8) é de aproximadamente 1 L h^{-1} . Para otimizar esse fluxo, podemos aumentar o tamanho dos poros das membranas, mas para garantir a esterilização da água no final do processo, nanopartículas de prata serão incorporadas dentro dos poros da membrana.

5.4- Otimização do diâmetro dos poros para deposição química de nanopartículas de prata

Como foi visto em seções anteriores, os principais fatores que afetam o diâmetro dos poros das membranas são a densidade de corrente e a concentração do eletrólito utilizados. Baseando nos resultados já obtidos, foi escolhida a maior densidade de corrente possível (devido limitações do equipamento utilizado), que foi de 8 mA cm^{-2} , além da utilização como eletrólito o ácido fosfórico, que resultou nos maiores diâmetros de poros obtidos nos ensaios já realizados e a variação da concentração deste de $0,05$ a $0,5 \text{ mol L}^{-1}$, a fim de obter novas membranas de AAP com poros maiores que 200 nm .

Na TABELA 5.13 estão listados os novos experimentos realizados com os respectivos valores de espessura e diâmetro de poros obtidos nos ensaios.

TABELA 5.13- Experimentos para obtenção de membranas de AAP com poros maiores que 200 nm .

Experimentos	<i>Densidade de corrente</i>		<i>Concentração do eletrólito</i>		RESULTADOS	
	<i>(mA cm⁻²)</i>	<i>Eletrólito</i>	<i>(mol L⁻¹)</i>	Poros (nm)	Espessura (µm)	
A1	8	H ₃ PO ₄	0,05	266	3,7	
A2	8	H ₃ PO ₄	0,1	236	7,5	
A3	8	H ₃ PO ₄	0,3	215	9,3	
A4	8	H ₃ PO ₄	0,5	212	4,3	

As micrografias das membranas obtidas estão na FIGURA 4.23. À esquerda estão as imagens da vista lateral das membranas e à direita estão as vistas superiores das membranas de AAP obtidas.

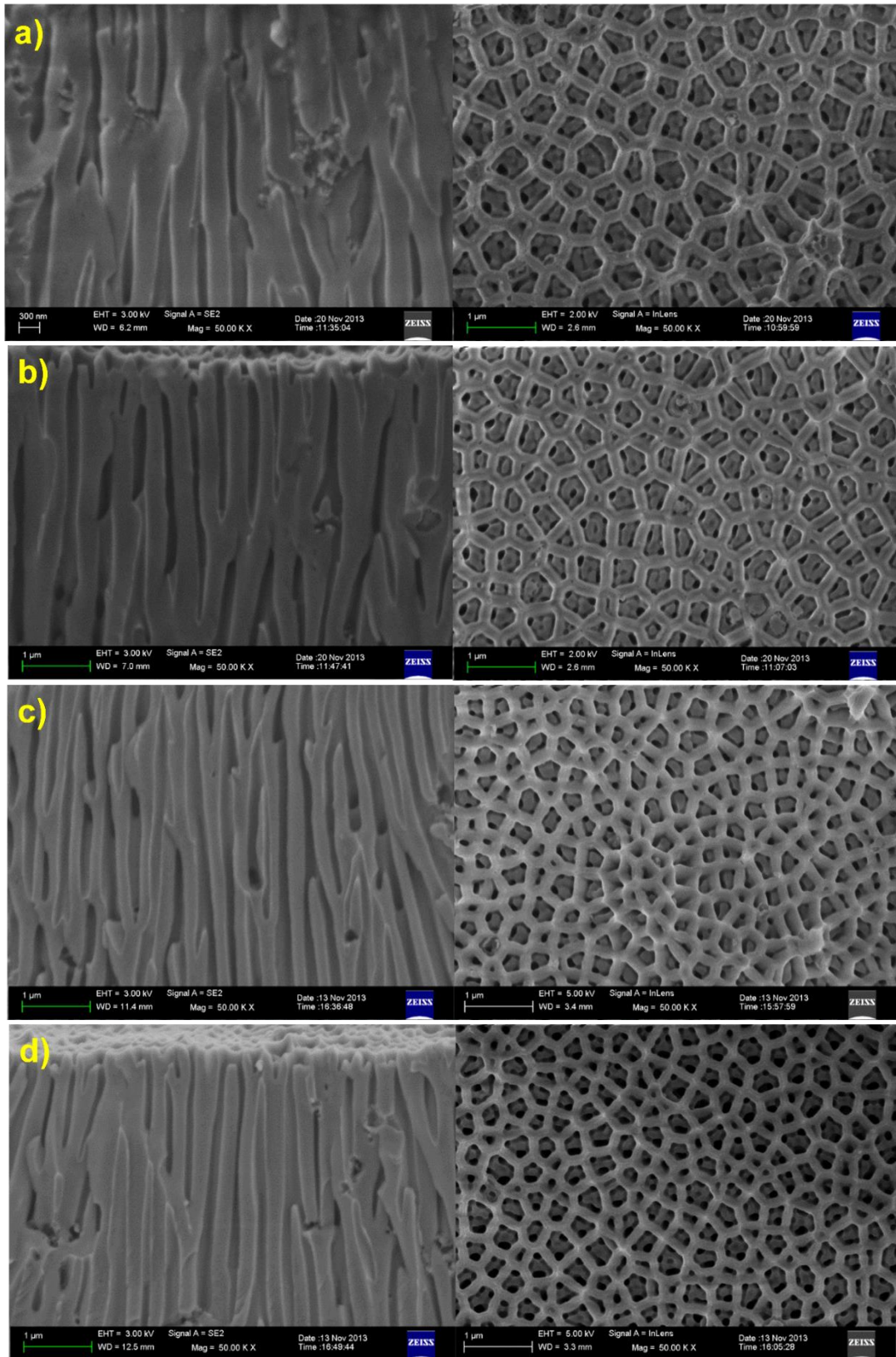


FIGURA 5.24 - Micrografias de FEG da vista lateral e da superfície das membranas de AAP, submetidas a densidade de corrente de 8 mA cm^{-2} , utilizando ácido fosfórico em quatro concentrações diferentes (a) A1: $0,05 \text{ mol L}^{-1}$, (b) A2: $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, (c) A3: $0,3 \text{ mol L}^{-1}$ e (d) A4: $0,5 \text{ mol L}^{-1}$.

A membrana escolhida para a deposição das nanopartículas de prata foi a com a melhor relação entre diâmetro de poro e espessura, visando a otimização do fluxo de água e o fato de ser mecanicamente mais resistente. Além disso, é importante observar a qualidade na distribuição dos poros e a menor quantidade de bifurcações possível.

Dados os pré-requisitos para escolha da melhor membrana para dar andamento ao projeto, foi escolhida a membrana obtida no ensaio A2, cujo diâmetro dos poros não é o maior obtido dentre os ensaios realizados, mas oferece maior resistência mecânica que a membrana obtida no ensaio A1, que não resistiu às etapas de deposição química das nanopartículas de prata.

5.5- Deposição química de nanopartículas de prata nas membranas de AAP

A membrana escolhida para realização dos ensaios de deposição química de nanopartículas de prata foi a desenvolvida no ensaio A2, descrito na TABELA 5.13.

O procedimento seguido para deposição das nanopartículas de prata foi descrito em seções anteriores e está ilustrado na FIGURA 5.25.

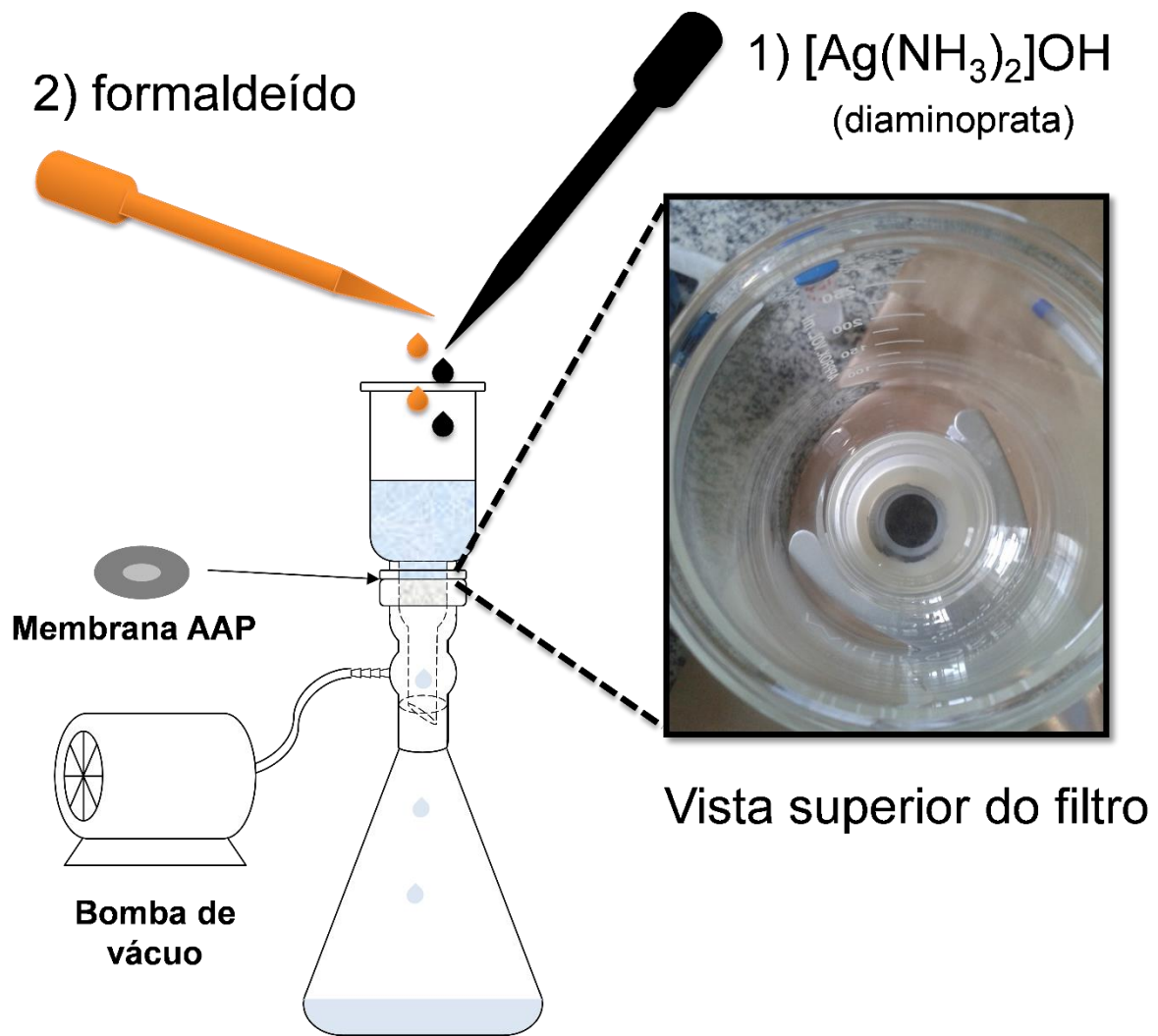


FIGURA 5.25 - Procedimento para deposição de nanopartículas de prata nas membranas de AAP.

Após a deposição química das nanopartículas de prata nas membranas de AAP, estas ficam escurecidas, devido a presença de óxido de prata. A membrana finalizada, após a deposição das nanopartículas de prata, pode ser vista na FIGURA 5.26.

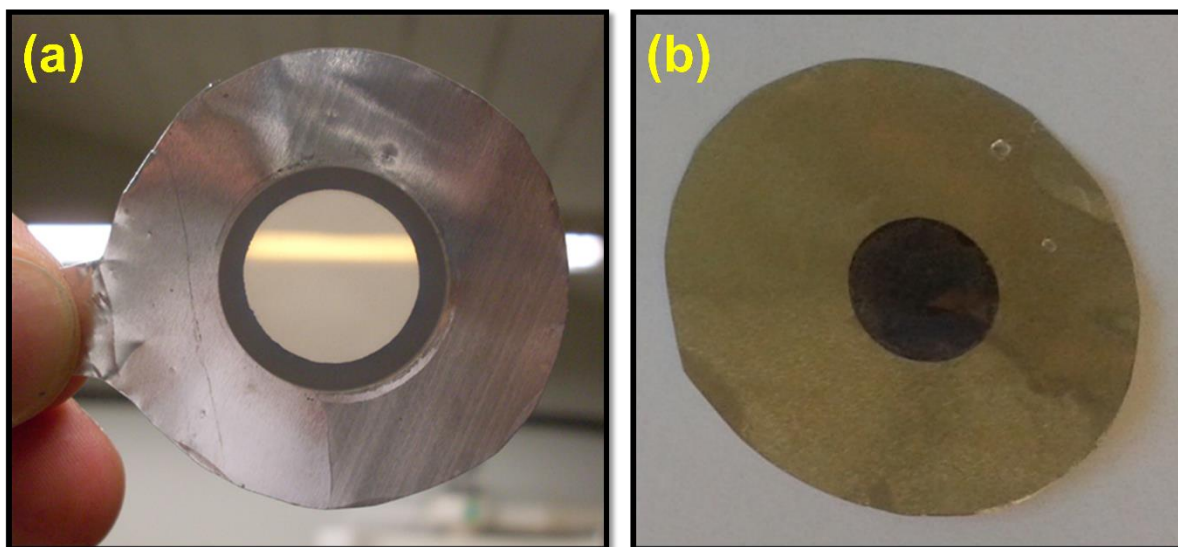


FIGURA 5.26 - Fotografia das membranas finalizadas. (a) Membrana de AAP obtida após o procedimento de remoção do alumínio e da base dos poros. (b) Membrana de AAP obtida após procedimento de deposição de nanopartículas de prata (a membrana porosa fica escurecida).

A FIGURA 5.27(a) mostra a imagem de FEG da membrana de alumina anódica porosa com as nanopartículas de prata depositadas nas paredes dos poros. Pode ser observado na figura que as partículas estão uniformemente distribuídas nas paredes dos poros, devido à infiltração adequada da mistura de $\text{Ag}(\text{NH}_3)_2^+$ e formaldeído dentro dos poros. A FIGURA 5.27(c) e a FIGURA 5.28 mostram a vista superior da membrana de alumina anódica porosa após a deposição das nAg.

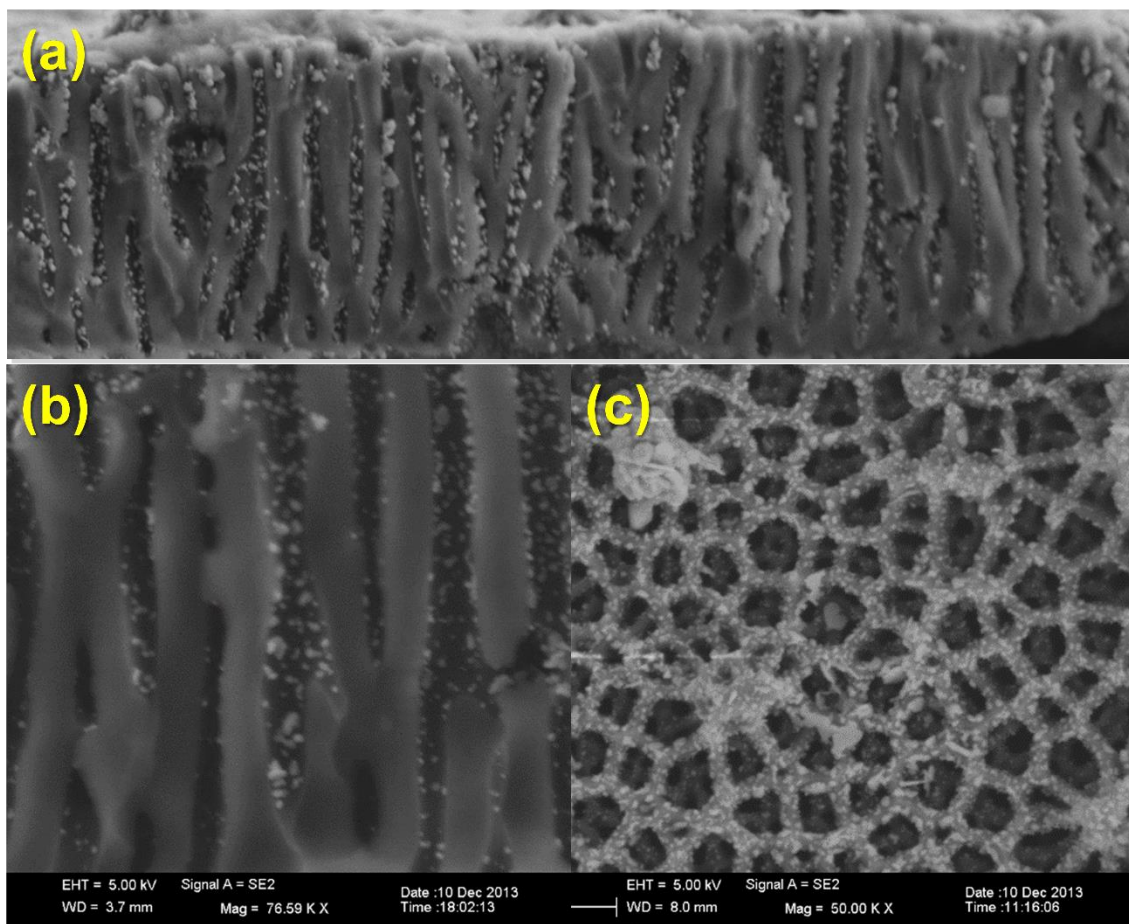


FIGURA 5.27- Imagem de FEG das membranas de alumina anódica porosa. (a) Visão transversal das membranas de AAP onde as nanopartículas de prata foram depositadas. (b) Vista superior das membranas.

Embora as nanopartículas de prata estejam densamente aderidas aos poros das membranas de AAP, essas nanopartículas não bloqueiam a passagem através da membrana, e o gás ou líquido pode fluir livremente. Portanto, essas membranas podem ser aplicadas na filtração de água.

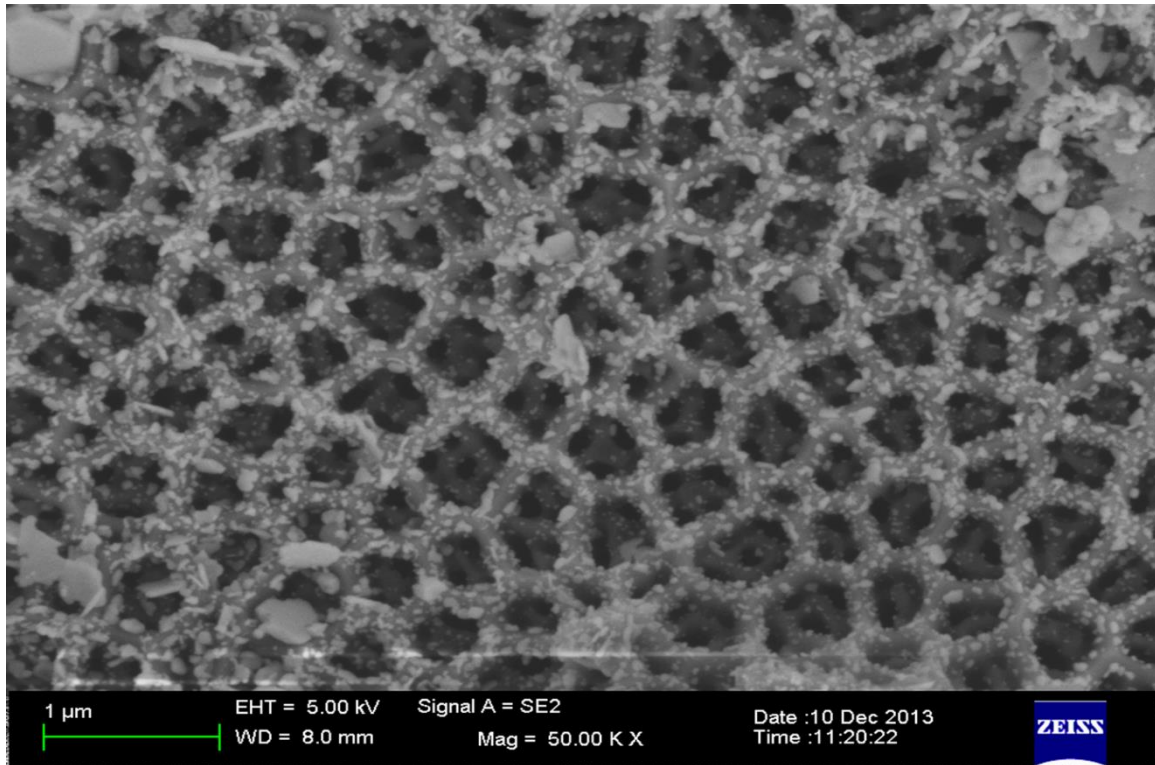
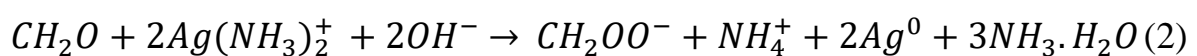


FIGURA 5.28- Imagem de FEG da vista superior das membranas de alumina anódica porosa com nanopartículas de prata depositadas.

O mecanismo de formação das nAg dentro dos poros pode ser considerado da seguinte forma: durante o processo de deposição, o interior dos poros das membranas de AAP atuam como uma pequena célula, na qual as moléculas de $\text{Ag}(\text{NH}_3)_2^+$ e de formaldeído se encontram e reagem formando núcleos de prata. A principal reação química envolvida pode ser representada como¹²⁹:



A equação (1) é a reação de formação do complexo diaminoprata e a equação (2) é uma reação de oxirredução, representando a deposição das nanopartículas de prata na superfície dos poros. Durante o processo de deposição das nanopartículas de prata, a superfície dos poros pode fornecer muitos sítios para a nucleação heterogênea das partículas, a prata coloidal, em suspensão, possui carga negativa em meio básico e por isso adere à superfície dos poros da membrana de AAP, que é um ácido de Lewis com centro de acidez em Al^{3+} . Além disso, com base na análise acima, é seguro prever que é possível obter os nanotubos ou nanofios de prata nos poros das membranas de AAP pelo mesmo método, fornecendo prata suficiente para preenchimento dos mesmos durante o processo.

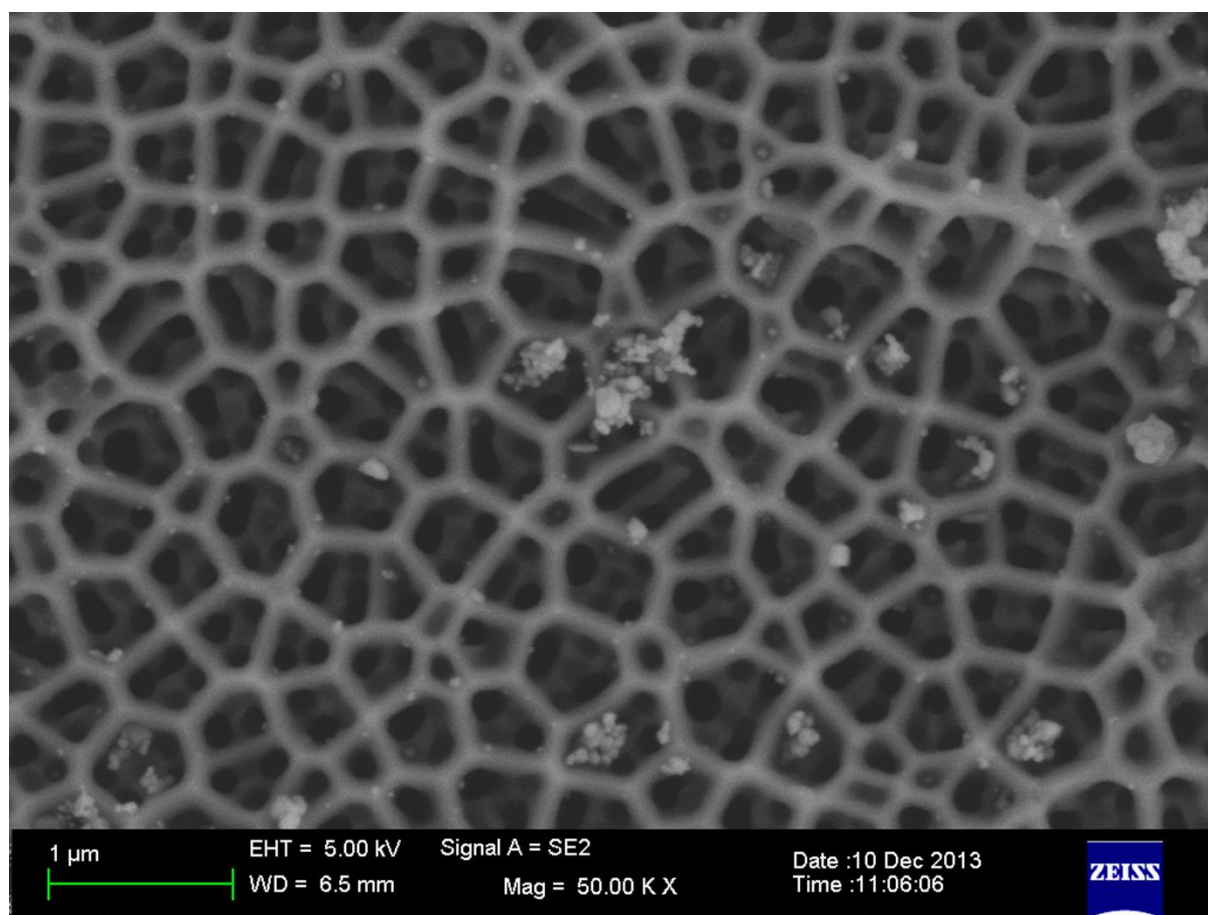


FIGURA 5.29- Membrana de AAP com nanopartículas de prata depositadas. Foi realizado apenas um ciclo de deposição.

Apenas um ciclo de deposição não é suficiente (FIGURA 5.29), pois a distribuição das nanopartículas na membrana é muito baixa, ou seja, muitos espaços sem nanopartículas de prata, o que comprometeria a função esterilizante das membranas.

Quanto maior o número de ciclos de deposição de prata, mais partículas ficam depositadas nos poros da membrana, como pode ser visto na FIGURA 5.30.

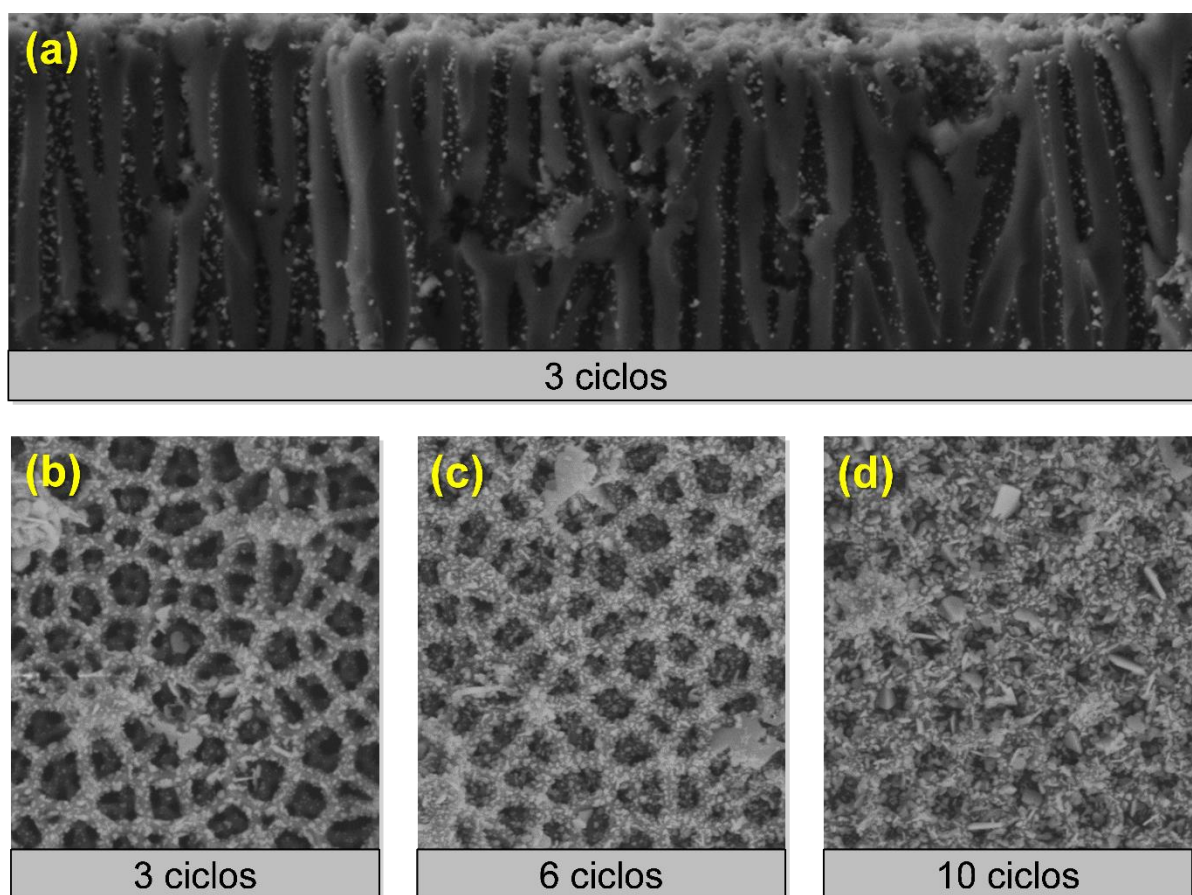


FIGURA 5.30- As imagens de FEG das nanopartículas de prata sobre a superfície das membranas de alumina anódica porosa após (b) três, (c) seis e (d) dez ciclos de deposição de nanopartículas de prata. A figura em (a) é uma imagem da secção transversal da membrana de AAP após três ciclos de deposição.

Após análise das imagens obtidas por FEG, ver FIGURA 5.30, observou-se que as nanopartículas de prata são depositadas homogeneamente sobre as paredes dos poros, após sucessivos ciclos de deposição, até um máximo quando o acúmulo de prata gera ilhas e a deposição fica irregular. Por fim, chegou-se à conclusão que o número ideal de ciclos de deposição de prata é igual a três, a fim de manter as membranas permeáveis e garantir distribuição homogênea das nanopartículas de prata através das membranas de AAP.

5.6- Ensaio microbiológico utilizando as membranas de AAP com nanopartículas de prata depositadas

A capacidade de retenção da membrana de alumina anódica porosa para bactérias do tipo *E. coli* foi testada e comprovada, quando o tamanho dos poros é inferior a 200 nm. A fim de aumentar o fluxo de água através das membranas, foi desenvolvida uma membrana com poros maiores que 200 nm e o ensaio para comprovar a atividade bactericida deste material consistiu em duas etapas:

- 1) Ensaio microbiológico com as membranas de AAP com poros maiores que 200 nm (experimento A2), sem nanopartículas de prata depositadas
- 2) Ensaio microbiológico com as membranas de AAP com poros maiores que 200 nm (experimento A2), com nanopartículas de prata depositadas

A bactéria utilizada nesta etapa, novamente foi a *E. coli* cepa BL21, transformada com o plasmídeo pET28a. Todos os testes foram realizados na presença do antibiótico canamicina, como descrito anteriormente. Desta forma, apenas a cepa de *E. coli* BL21 poderiam crescer nas placas de Petri, evitando assim possíveis contaminações externas que poderiam interferir nas análises¹⁵¹.

Foi utilizado o mesmo sistema de filtração adquirido pelo laboratório para esta finalidade, ilustrado na FIGURA 4.2.

Na imagem da FIGURA 5.31, as placas de Petri com a solução padrão “contaminada” estão na linha (a). As placas de Petri incubadas com as soluções pós filtração com as membranas de alumina anódica porosa sem as nanopartículas de prata depositadas, estão na linha (b).

Este ensaio mostrou que a membrana do ensaio A2, com poros maiores que 200 nm não funcionou como uma barreira física na filtração da água contaminada, permitindo a passagem de agentes patogênicos.

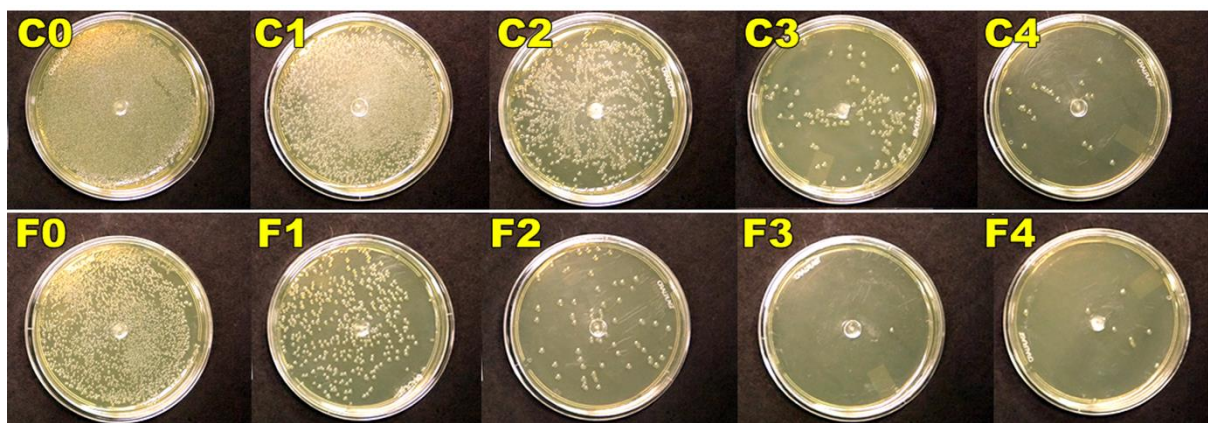


FIGURA 5.31 - Filtração da solução de água contaminada utilizando as membranas de alumina anódica porosa desenvolvidas no experimento A2, sem as nanopartículas de prata. Placas de Petri em (a): Solução controle, ou seja, a solução contaminada com *E.coli*, antes da filtração. C0 a C4 correspondem às diluições sucessivas em 10^0 , 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4} CFU cm^{-2} , respectivamente. A linha (b) corresponde ao ensaio com a solução controle após filtração com as membranas de AAP desenvolvida no ensaio A2, sem as nanopartículas de prata. O filtrado também foi diluído de F0 a F4, com concentrações 10^0 , 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4} CFU cm^{-2} , respectivamente.

O mesmo ensaio microbiológico foi realizado com a mesma membrana do experimento A2, agora com nanopartículas de prata depositadas. O resultado deste ensaio, em duplicata, pode ser visto na FIGURA 5.32.

A FIGURA 5.32 mostra as placas de Petri preparadas com a solução filtrada utilizando a membrana de AAP com nanopartículas de prata depositadas (o ensaio foi feito em duplicata), em diferentes concentrações. Não foi observado o crescimento de colônias de bactérias em nenhuma das soluções testadas. Portanto, a taxa de filtração das membranas de AAP com as nanopartículas de prata foi de 100%.

O teste biológico foi bem-sucedido, e a membrana de alumina anódica porosa provou ser eficaz na esterilização da água contaminada com bactérias, devido à presença de nanopartículas de prata, mesmo utilizando uma membrana de alumina com diâmetro de poros maiores que os agentes patogênicos.

A vantagem desta abordagem sobre a descrita anteriormente, onde o tamanho de poro impede a passagem de bactérias, é que este sistema com as nanopartículas de prata é menos suscetível a entupimento, devido ao impedimento do desenvolvimento de um biofilme sobre a membrana de AAP.^{10,29,132,152}

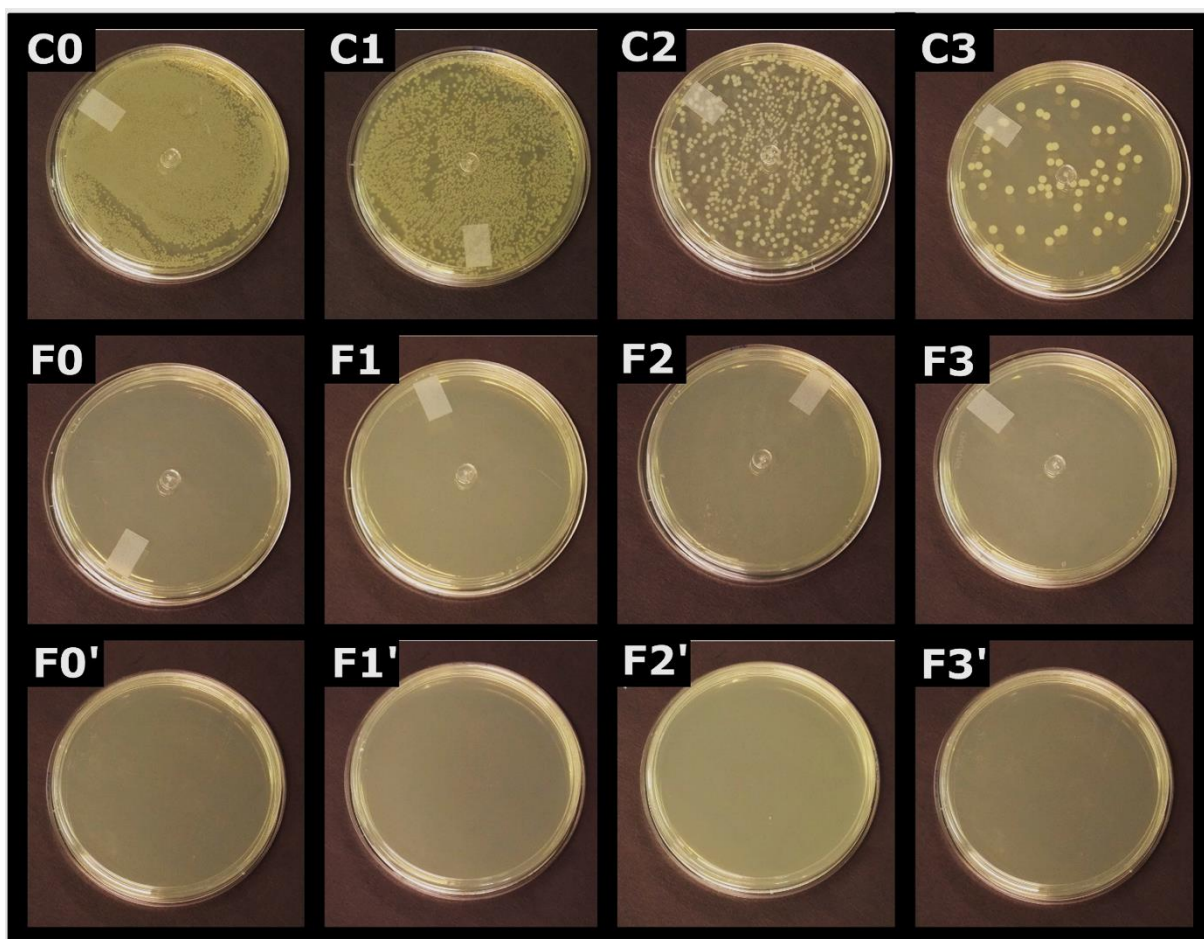


FIGURA 5.32 - Remoção das bactérias da solução de água contaminada utilizando as membranas de alumina anódica porosa decoradas com nanopartículas de prata. Placas de Petri em (a) Solução controle, ou seja, a solução contaminada com *E.coli*, antes da filtração. C0 a C3 correspondem às diluições sucessivas em 10^0 , 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} CFU cm^{-2} , respectivamente. As linhas (b) e (c) correspondem aos ensaios em duplicata, com as soluções controle após filtração com as membranas de AAP com as nanopartículas de prata. O filtrado também foi diluído de F0 a F3, com concentrações 10^0 , 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} CFU cm^{-2} , respectivamente.

5.7- Comparação entre os resultados dos testes de fluxo para membranas de AAP com e sem nanopartículas de prata

Embora as nanopartículas de prata estejam densamente aderidas aos poros das membranas de AAP, estas não bloqueiam os poros, e o gás ou líquido pode fluir livremente. Como pode ser visto na TABELA 5.14, o fluxo em $L h^{-1}$ através da membrana diminui, mas ainda é maior que para a membrana obtida na primeira etapa deste trabalho, sem as nanopartículas de prata.

TABELA 5.14 - Comparação entre os resultados das medidas de fluxo de água através das membranas de AAP, com poros menores e maiores (com e sem nAg)

	Fluxo ($L h^{-1}$)
Membrana Etapa 1	1,1
Membrana Etapa 2	4,3
Membrana Etapa 2 + Prata	2,0

Fluxo máximo do equipamento, sem membrana: 13,1 $L h^{-1}$.

6- CONCLUSÕES

Foi possível verificar o comportamento do sistema com a variação das condições de preparação e investigar as possíveis mudanças em suas propriedades mecânicas. Portanto, pode-se dizer que a conclusão deste trabalho traz informações indispensáveis para os estudos no desenvolvimento de membranas de alumina anódica porosa.

Com o auxílio de um planejamento fatorial, foi possível investigar os principais efeitos das condições de preparação de filmes de AAP e partir dos resultados obtidos foi escolhida a melhor configuração experimental para obtenção das membranas de óxido anódico de alumínio, produzidas galvanostaticamente.

Portanto, na primeira etapa deste trabalho foram obtidas membranas inorgânicas de alumina anódica porosa, em alumínio de baixo custo, e com porosidade satisfatória para a aplicação como membranas de sanitização de água para consumo humano, devido ao seu tamanho de poro inferior a 0,2 μm .

As membranas para ultrafiltração foram conseguidas visando à aplicação como filtros esterilizantes, de acordo com os padrões de saúde pública pré-estabelecidos. Este sistema apresentado aqui pode ser também reconfigurado para membranas virais, ou seja, com poros ainda menores, como o apresentado no experimento 5, com 54 ± 22 nm. Neste caso, o fluxo e a resistência mecânica devem ainda ser incrementados para este uso.

Com base na distribuição média dos poros e espessura, na primeira etapa deste trabalho, as melhores membranas foram obtidas nas condições 6 e 8 do planejamento fatorial 2^3 , realizado a uma densidade de corrente de $0,8 \text{ A cm}^{-2}$ e em solução de ácido fosfórico $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ e ácido oxálico $0,5 \text{ mol L}^{-1}$, respectivamente. A resistência mecânica destas membranas foi o fator determinante para a escolha destas condições como as melhores.

A análise das respostas obtidas no planejamento fatorial 2^3 , mostrou que o eletrólito e densidade de corrente foram apontados como os principais efeitos para definir o melhor valor para o diâmetro dos poros e para a espessura das membranas. Para otimização do fluxo de água através das membranas, a interação entre o tipo de eletrólito e densidade de corrente foi o principal efeito encontrado.

O teste biológico durante a primeira etapa do trabalho foi bem-sucedido, e a membrana de alumina anódica porosa com poros inferiores a $0,2 \mu\text{m}$ provou ser completamente eficaz na remoção de bactérias através da retenção das mesmas, devido ao tamanho dos poros ser inferior ao tamanho dos agentes patogênicos testados, porém com fluxo reduzido.

Na segunda etapa do projeto, foram obtidas membranas com poros maiores, onde foram depositadas nanopartículas de prata, homogeneamente por toda a membrana porosa. Neste caso, mesmo utilizando uma membrana de alumina com diâmetro de poros maiores que os agentes patogênicos, a ação bactericida da prata destrói os agentes patogênicos. A vantagem desta abordagem sobre a descrita na primeira etapa deste trabalho, onde o tamanho de poro impede a passagem de bactérias, é que este sistema é menos suscetível a entupimento, devido ao impedimento de desenvolvimento de um biofilme sobre a membrana de AAP, além do aumento do fluxo de água através das membranas.

7- REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Schulz, H. N. & Jørgensen, B. B. Big acteria. *Annu. Rev. Microbiol.* **55**, 105–137 (2001).
2. Jacangelo, J. G., Trussell, R. R. & Watson, M. Role of membrane technology in drinking water treatment in the United States. *Desalination* **113**, 119–127 (1997).
3. Alumileste - Protetor de Alumínio p/ Fogão PRATSY COMPACT 27cm X 27 cm. at <<http://www.alumileste.com.br/pt/>>
4. Peter-Varbanets, M., Zurbru, C., Swartz, C. & Pronk, W. Decentralized systems for potable water and the potential of membrane technology. *Water Res.* **43**, 245–265 (2009).
5. World Health Organization (WHO). *World Health Statistics 2013*. (World Health Organization (WHO), 2013). at <www.who.int>
6. Brick, T. *et al.* Water contamination in urban south India: household storage practices and their implications for water safety and enteric infections. *Int. J. Hyg. Environ. Health* **207**, 473–80 (2004).
7. Sobsey, M. D. *Managing Water in the Home : Accelerated Health Gains from Improved Water Supply*. World Health Organization (WHO) **02**, (2002).
8. Sobsey, M. D., Stauber, C. E., Casanova, L. M., Brown, J. M. & Elliott, M. a. Point of use household drinking water filtration: A practical, effective solution for providing sustained access to safe drinking water in the developing world. *Environ. Sci. Technol.* **42**, 4261–4267 (2008).
9. Environ, E., Khin, M. M., Nair, A. S. & Babu, V. J. A review on nanomaterials for environmental remediation. *Energy Environ. Sci.* **5**, 8075–8109 (2012).
10. Li, Q. *et al.* Antimicrobial nanomaterials for water disinfection and microbial control: potential applications and implications. *Water Res.* **42**, 4591–602 (2008).
11. Pang, W., Gao, N. & Xia, S. Removal of DDT in drinking water using nanofiltration process. *DES* **250**, 553–556 (2010).

12. Bergamasco, R. *et al.* Drinking water treatment in a gravimetric flow system with TiO₂ coated membranes. *Chem. Eng. J.* **174**, 102–109 (2011).
13. Larimer, C., Ostrowski, N., Speakman, J. & Nettleship, I. The segregation of silver nanoparticles in low-cost ceramic water filters. *Mater. Charact.* **61**, 408–412 (2010).
14. Pierre, G. *et al.* Protocol for the assessment of viral retention capability of membranes. *J. Memb. Sci.* **381**, 41–49 (2011).
15. Taurozzi, J. S. *et al.* Effect of filler incorporation route on the properties of polysulfone – silver nanocomposite membranes of different porosities. **325**, 58–68 (2008).
16. Yang, G., Xie, J., Hong, F., Cao, Z. & Yang, X. Antimicrobial activity of silver nanoparticle impregnated bacterial cellulose membrane: Effect of fermentation carbon sources of bacterial cellulose. *Carbohydr. Polym.* **87**, 839–845 (2012).
17. Dankovich, T. a & Gray, D. G. Bactericidal paper impregnated with silver nanoparticles for point-of-use water treatment. *Environ. Sci. Technol.* **45**, 1992–1998 (2011).
18. Lyon, D. Y., Adams, L. K., Falkner, J. C. & Alvarezt, P. J. J. Antibacterial activity of fullerene water suspensions: effects of preparation method and particle size. *Environ. Sci. Technol.* **40**, 4360–4366 (2006).
19. Srivastava, A., Srivastava, O. N., Talapatra, S., Vajtai, R. & Ajayan, P. M. Carbon nanotube filters. *Nat. Mater.* **3**, 610–614 (2004).
20. Timoteo Junior, J. F. Anodização para obtenção de membranas cerâmicas. (2007).
21. Das, N., Maiti, H. S. & Glass, C. Tape-cast ceramic membranes for microfiltration application. *J. Mater. Sci.* **31**, 5221–5225 (1996).
22. Jadhav, S. V. & Marathe, K. V. Micellar enhanced ultrafiltration: A comparative study. *Can. J. Chem. Eng.* **91**, 311–317 (2013).
23. Peng Lee, K. & Mattia, D. Monolithic nanoporous alumina membranes for ultrafiltration applications: Characterization, selectivity-permeability analysis and fouling studies. *J. Memb. Sci.* **435**, 52–61 (2013).

24. Maximous, N., Nakhla, G., Wan, W. & Wong, K. Preparation, characterization and performance of Al₂O₃/PES membrane for wastewater filtration. *J. Memb. Sci.* **341**, 67–75 (2009).
25. Masuda, H. & Fukuda, K. Ordered metal nanohole arrays made by a two-step replication of honeycomb structures of anodic alumina. *Science* **268**, 1466–8 (1995).
26. Itoh, N., Kato, K., Tsuji, T. & Hongo, M. Preparation of a tubular anodic aluminum oxide membrane. *J. Memb. Sci.* **117**, 189–196 (1996).
27. Petukhov, D. I., Napolskii, K. S. & Eliseev, A. A. Permeability of anodic alumina membranes with branched channels. **335601**, (2012).
28. Guo, H., Wyart, Y., Perot, J., Nauleau, F. & Moulin, P. Low-pressure membrane integrity tests for drinking water treatment: A review. *Water Res.* **44**, 41–57 (2010).
29. Peter-Varbanets, M., Hammes, F., Vital, M. & Pronk, W. Stabilization of flux during dead-end ultra-low pressure ultrafiltration. *Water Res.* **44**, 3607–16 (2010).
30. Tajer-Kajinebaf, V., Sarpoolaky, H. & Mohammadi, T. Synthesis of Nanostructured Anatase Mesoporous Membranes with Photocatalytic and Separation Capabilities for Water Ultrafiltration Process. *Int. J. Photoenergy* **2013**, 1–11 (2013).
31. Betancourt, W. Q. & Rose, J. B. Drinking water treatment processes for removal of *Cryptosporidium* and *Giardia*. *Vet. Parasitol.* **126**, 219–34 (2004).
32. Ke, X. *et al.* Integrating efficient filtration and visible-light photocatalysis by loading Ag-doped zeolite Y particles on filtration membrane of alumina nanofibers. *J. Memb. Sci.* **375**, 69–74 (2011).
33. Kim, S. H. *et al.* Design of TiO₂ nanoparticle self-assembled aromatic polyamide thin-film-composite (TFC) membrane as an approach to solve biofouling problem. *J. Memb. Sci.* **211**, 157–165 (2003).
34. Oliveira, C. P. De. Eletrodeposição de Nanoestruturas de Cobalto em Alumina Anódica Porosa e sua Caracterização Magnética. (Universidade Federal de São Carlos, 2009).
35. Zaraska, L., Sulka, G. D. & Jaskuła, M. Anodic alumina membranes with defined pore diameters and thicknesses obtained by adjusting the

- anodizing duration and pore opening/widening time. *J. Solid State Electrochem.* (2011). doi:10.1007/s10008-011-1471-z
36. Masuda, H., Yamada, H., Satoh, M., Asoh, H. & Nakao, M. Highly ordered nanochannel-array architecture in anodic alumina. **2770**, 7–10 (2011).
 37. Rashidi, F., Masuda, T., Asoh, H. & Ono, S. Metallographic effects of pure aluminum on properties of nanoporous anodic alumina (NPAA). *Surf. Interface Anal.* **45**, 1490–1496 (2013).
 38. Yanagishita, T., Kumagai, N., Nishio, K. & Masuda, H. Nanoimprinting using highly ordered anodic porous alumina with reduced hole periods. *J. Photopolym. Sci. Technol.* **20**, 569–571 (2007).
 39. Hoyer, P., Nishio, K. & Masuda, H. Preparation of regularly structured porous metal membranes with two different hole diameters at the two sides. *Thin Solid Films* **286**, 88–91 (1996).
 40. Nishio, K., Yanagishita, T., Hatakeyama, S., Maegawa, H. & Masuda, H. Fabrication of ideally ordered anodic porous alumina with large area by vacuum deposition of Al onto mold. *J. Vac. Sci. Technol. B Microelectron. Nanom. Struct.* **26**, L10–L12 (2008).
 41. Yasui, K. Ideally ordered anodic porous alumina with Sub-50 nm hole intervals based. *Sci. Technol.* 9–12 (2005). doi:10.1116/1.1941247
 42. Kim, T. & Jeong, S. Highly ordered anodic alumina nanotemplate with about 14 nm diameter. *Korean J. Chem. Eng.* **25**, 609–611 (2008).
 43. Sulka, G. D. *Highly Ordered Anodic Porous Alumina Formation by Self-Organized Anodizing. Nanostructured Materials in Electrochemistry* (2008).
 44. Riveros, G. *et al.* Silver nanowire arrays electrochemically grown into nanoporous anodic alumina templates. *Nanotechnology* **17**, 561–570 (2006).
 45. Ispas, A., Bund, A. & Vrublevsky, I. Investigations on current transients in porous alumina films during re-anodizing using the electrochemical quartz crystal microbalance. *J. Solid State Electrochem.* **14**, 2121–2128 (2010).
 46. Chung, C.-K., Liu, T. Y. & Chang, W. T. Effect of oxalic acid concentration on the formation of anodic aluminum oxide using pulse

- anodization at room temperature. *Microsyst. Technol.* **16**, 1451–1456 (2010).
47. Cushing, B. L., Kolesnichenko, V. L. & O'Connor, C. J. Recent advances in the liquid-phase syntheses of inorganic nanoparticles. *Chem. Rev.* **104**, 3893–946 (2004).
 48. Jagminas, A. & Mikulskas, I. Growth peculiarities of aluminum anodic oxide at high voltages in diluted phosphoric acid. *Science (80-.)*. **233**, 591–598 (2001).
 49. Rehim, S. S. A., Hassan, H. H. & Amin, M. A. Galvanostatic anodization of pure Al in some aqueous acid solutions Part I : Growth kinetics , composition and morphological structure of porous and barrier-type anodic alumina films. *J. Appl. Electrochem.* **32**, 1257–1264 (2002).
 50. Paternarakis, G. & Moussoutzanis, K. Transformation of porous structure of anodic alumina films formed during galvanostatic anodising of aluminium. *J. Electroanal. Chem.* **659**, 176–190 (2011).
 51. Bengough, G. D. & Stuart, J. M. Process of Protecting Surfaces of Aluminum or Aluminum Alloys. 100 (1923).
 52. Martinez, D. R. Anodic Oxidation of Aluminum and of its alloys. 4 (1967).
 53. F. Keller, M. S. Hunter, and D. L. R. Structural Features of Oxide Coatings on Aluminum. *J. Electrochem. Soc.* **100**, 411–419 (1953).
 54. J. W. DIGGLE, T. C. DOWNIE, A. C. W. G. ANODIC OXIDE FILMS ON ALUMINUM. *Chem. Rev.* **69**, 365–405 (1968).
 55. Leitao, D. C. *et al.* Nanoscale Topography : A Tool to Enhance Pore Order and Pore Size Distribution in Anodic Aluminum Oxide. 8567–8572 (2011).
 56. Bustamante, R. H. Fabricação de nanoestruturas de alumina anódica porosa e suas aplicações na síntese de nanomateriais. (2012).
 57. Thompson, G. . Porous anodic alumina: fabrication, characterization and applications. *Thin Solid Films* **297**, 192–201 (1997).
 58. G. C. Wood, P. Skeldon, G. E. T. and K. S. A Model for the Incorporation of Electrolyte Species into Anodic Alumina. *J. Electrochem. Soc.* **143**, 74–83 (1996).

59. Kobayashi, G. E. T. & G. C. W. A novel marker for the determination of transport numbers during anodic barrier oxide growth on aluminium. *Philos. Mag. Part B* **64**, 345–353 (1991).
60. Sullivan, J. P. O. & Wood, G. C. The Morphology and Mechanism of Formation of Porous Anodic Films on Aluminium. (1970).
doi:10.1098/rspa.1970.0129
61. Yuan, J., Chen, W., Hui, R., Hu, Y. & Xia, X. Mechanism of one-step voltage pulse detachment of porous anodic alumina membranes. *Electrochim. Acta* **51**, 4589–4595 (2006).
62. Mei, Y. F., Wu, X. L., Shao, X. F., Huang, G. S. & Siu, G. G. Formation mechanism of alumina nanotube array. *Phys. Lett. A* **309**, 109–113 (2003).
63. Patermarakis, G. Aluminium anodising in low acidity sulphate baths: growth mechanism and nanostructure of porous anodic films. *J. Solid State Electrochem.* **10**, 211–222 (2005).
64. Patermarakis, G. & Karayannis, H. S. The mechanism of growth of porous anodic Al₂O₃ films on aluminium at high film thicknesses. *Electrochim. Acta* **40**, 2647–2656 (1995).
65. Patermarakis, G., Karayianni, H., Masavetas, K. & Chandrinou, J. Oxide density distribution across the barrier layer during the steady state growth of porous anodic alumina films: chronopotentiometry, kinetics of mass and thickness evolution and a high field ionic migration model. *J. Solid State Electrochem.* **13**, 1831–1847 (2008).
66. Patermarakis, G. & Moussoutzianis, K. Electrochemical kinetic study on the growth of porous anodic oxide films on aluminium. *Science (80-.).* **40**, 699–708 (1995).
67. Masuda, H. & Fukuda, K. Ordered metal nanohole arrays made by a two-step replication of honeycomb structures of anodic alumina. *Science (80-.).* **268**, 1466–1468 (1995).
68. Sulka, G. D., Brzózka, A. & Liu, L. Fabrication of diameter-modulated and ultrathin porous nanowires in anodic aluminum oxide templates. *Electrochim. Acta* **56**, 4972–4979 (2011).
69. Chen, B., Lu, K. & Tian, Z. Gradient and alternating diameter nanopore templates by focused ion beam guided anodization. *Electrochim. Acta* **56**, 435–440 (2010).

70. Kordás, K. *et al.* Room temperature chemical deposition of palladium nanoparticles in anodic aluminium oxide templates. *Nanotechnology* **17**, 1459–1463 (2006).
71. Zhang, J., Kielbasa, J. E. & Carroll, D. L. Controllable fabrication of porous alumina templates for nanostructures synthesis. *Mater. Chem. Phys.* **122**, 295–300 (2010).
72. Michailowski, A., Almawlawi, D., Cheng, G. & Moskovits, M. Highly regular anatase nanotubule arrays fabricated in porous anodic templates. **349**, 1–5 (2001).
73. Cheng, Y.-H. & Cheng, S.-Y. Nanostructures formed by Ag nanowires. *Nanotechnology* **15**, 171–175 (2004).
74. Lillo, M. & Losic, D. Pore opening detection for controlled dissolution of barrier oxide layer and fabrication of nanoporous alumina with through-hole morphology. *J. Memb. Sci.* **327**, 11–17 (2009).
75. Pan, Y., Nilius, N., Schneider, W.-D. & Freund, H.-J. Adsorption of thioether molecules on an alumina thin film. *Surf. Sci.* **628**, 111–115 (2014).
76. Auta, M. & Hameed, B. H. Adsorption of carbon dioxide by diethanolamine activated alumina beads in a fixed bed. *Chem. Eng. J.* **253**, 350–355 (2014).
77. Macias, G., Hernández-Eguía, L. P., Ferré-Borrull, J., Pallares, J. & Marsal, L. F. Gold-coated ordered nanoporous anodic alumina bilayers for future label-free interferometric biosensors. *ACS Appl. Mater. Interfaces* **5**, 8093–8 (2013).
78. Santos, A., Kumeria, T. & Losic, D. Optically optimized photoluminescent and interferometric biosensors based on nanoporous anodic alumina: a comparison. *Anal. Chem.* **85**, 7904–11 (2013).
79. En, A., Peh, K., Fong, S. & Li, Y. Dengue virus detection using impedance measured across nanoporous alumina membrane. *Biosens. Bioelectron.* **42**, 391–396 (2013).
80. Paluri, R. & Ingole, S. Surface characterization of novel alumina-based composites for Energy Efficient Sliding Systems. 77–83

81. Li, L. *et al.* Three-dimensional AlZnO / Al₂O₃ / AlZnO nanocapacitor arrays on Si substrate for energy storage. *Nanoscale Res. Lett.* **7**, 1–5 (2012).
82. Perry, J. L., Martin, C. R. & Stewart, J. D. Drug-delivery strategies by using template-synthesized nanotubes. *Chem. - A Eur. J.* **17**, 6296–6302 (2011).
83. Liu, Z.-B. *et al.* A microfluidic chip with poly(ethylene glycol) hydrogel microarray on nanoporous alumina membrane for cell patterning and drug testing. *Sensors Actuators, B Chem.* **143**, 776–783 (2010).
84. Zaman, J. & Chakma, A. Inorganic membrane reactors. *J. Memb. Sci.* **92**, 1–28 (1994).
85. N. Itoh a,* , K. Kato b, T. Tsuji b, M. H. b. Preparation of a tubular anodic aluminum oxide membrane. **117**, 189–196 (1996).
86. Xu, J., Chang, C.-Y., Hou, J. & Gao, C. Comparison of approaches to minimize fouling of a UF ceramic membrane in filtration of seawater. *Chem. Eng. J.* **223**, 722–728 (2013).
87. Shamaila, S., Sharif, R., Chen, J. Y., Liu, H. R. & Han, X. F. Magnetic field annealing dependent magnetic properties of nanowire arrays. *J. Magn. Magn. Mater.* **321**, 3984–3989 (2009).
88. Yao, J. *et al.* Design, fabrication and characterization of indefinite metamaterials of nanowires. *Philos. Trans. R. Soc. A Math. Phys. Eng. Sci.* **369**, 3434–3446 (2011).
89. Anderson, M. E. *et al.* On-Wire Conversion Chemistry : Engineering Solid-State Complexity into Striped Metal Nanowires using Solution Chemistry Reactions Materials Characterization Facility at the Penn State Materials. *J. Am. Chem. Soc.* **130**, 14042–14043 (2008).
90. Lin, Y.-T., Shi, J.-B., Chen, Y.-C., Chen, C.-J. & Wu, P.-F. Synthesis and Characterization of Tin Disulfide (SnS₂) Nanowires. *Nanoscale Res. Lett.* **4**, 694–698 (2009).
91. Sarkar, J., Khan, G. G. & Basumallick, A. Nanowires: Properties, applications and synthesis via porous anodic aluminium oxide template. *Bull. Mater. Sci.* **30**, 271–290 (2007).
92. Ou, F. S. *et al.* Multisegmented one-dimensional hybrid structures of carbon nanotubes and metal nanowires. *Appl. Phys. Lett.* **89**, (2006).

93. Franklin, A. D., Sayer, R. A., Sands, T. D., Janes, D. B. & Fisher, T. S. Vertical carbon nanotube devices with nanoscale lengths controlled without lithography. *IEEE Trans. Nanotechnol.* **8**, 469–476 (2009).
94. Da Rocha Caffarena, V. *et al.* Synthesis and characterization of electrodeposited nickel nanowires. in *Ceramic Engineering and Science Proceedings* **29**, 195–201 (2009).
95. Sun, H. *et al.* Diameter-and current-density-dependent growth orientation of hexagonal CdSe nanowire arrays via electrodeposition. *Nanotechnology* **20**, 102 (2009).
96. Han, F. *et al.* Building desired heterojunctions of semiconductor CdS nanowire and carbon nanotube via AAO template-based approach. *Mater. Lett.* **63**, 2249–2252 (2009).
97. Wu, Z. H., Gierak, J., Bourhis, E., Biance, A.-L. & Ruda, H. E. Highly oriented and ordered semiconductor nanowire arrays for photonic device applications. in *Proceedings of SPIE - The International Society for Optical Engineering* (eds. R.A., M., H.E., R. & J., Y.) **5971**, (2005).
98. O’Carroll, D., Lieberwirth, I. & Redmond, G. Melt-processed polyfluorene nanowires as active waveguides. *Small* **3**, 1178–1183 (2007).
99. Roshchin, I. V *et al.* Magnetic vortices in sub-100 nm magnets. in *Proceedings of the 2009 International Conference on Electromagnetics in Advanced Applications, ICEAA '09* 1028–1029 (2009). at <http://www.scopus.com/inward/record.url?eid=2-s2.0-72849111411&partnerID=40&md5=db1d109f9cbe44bb1395771c5fd16c9c>
100. Forleo, A. *et al.* Synthesis and gas sensing properties of ZnO quantum dots. *Lecture Notes in Electrical Engineering* **54 LNEE**, 169–172 (2010).
101. Buljan, M. *et al.* Self-assembling of Ge quantum dots in an alumina matrix. *Phys. Rev. B - Condens. Matter Mater. Phys.* **82**, (2010).
102. Chung, S. H., Son, S. J. & Min, J. Nano barcoding cell-based biosensor using fluorophor-embedded silica nanotubes. *J. Nanosci. Nanotechnol.* **11**, 4419–4423 (2011).
103. Lu, X., Lemmon, J. P., Sprenkle, V. & Yang, Z. Sodium-beta alumina batteries: Status and challenges. *JOM* **62**, 31–36 (2010).

104. Mali, A. & Petric, A. Fabrication of a thin walled β -alumina electrolyte cells. *J. Power Sources* **196**, 5191–5196 (2011).
105. Lahiri, I. *et al.* Ultrathin alumina-coated carbon nanotubes as an anode for high capacity Li-ion batteries. *J. Mater. Chem.* **21**, 13621–13626 (2011).
106. Dabboussi, S. *et al.* Excitation and emission processes of Tb³⁺ in porous anodic alumina. *Appl. Surf. Sci.* **255**, 4255–4258 (2009).
107. Letailleur, A. A. *et al.* High efficiency white luminescence of alumina doped ZnO. *J. Lumin.* **131**, 2646–2651 (2011).
108. Yallaly, B., Kramer, T. A. & Vermace, M. E. Removal of toxic metals using powdered activated alumina and ultra-filtration membranes. *Hazard. Ind. Wastes - Proc. Mid-Atlantic Ind. Waste Conf.* 305–313 (1999). at <http://www.scopus.com/inward/record.url?eid=2-s2.0-0032680493&partnerID=40&md5=6bd4ec52267633cb3c36cbc2a388826a>
>
109. Bocchetta, P., Sunseri, C., Masi, R., Piazza, S. & Di Quarto, F. Influence of initial treatments of aluminium on the morphological features of electrochemically formed alumina membranes. *Mater. Sci. Eng. C* **23**, 1021–1026 (2003).
110. Patermarakis, G. The origin of nucleation and development of porous nanostructure of anodic alumina films. *J. Electroanal. Chem.* **635**, 39–50 (2009).
111. Diggle, J. W., Downie, T. C. & Goulding, C. W. Anodic oxide films on aluminum. *Chem. Rev.* **69**, 365–405 (1969).
112. Zhang, R., Jiang, K. & Ding, G. Surface morphology control on porous anodic alumina in phosphoric acid. *Thin Solid Films* **518**, 3797–3800 (2010).
113. Inguanta, R., Butera, M., Sunseri, C. & Piazza, S. Fabrication of metal nano-structures using anodic alumina membranes grown in phosphoric acid solution: Tailoring template morphology. *Appl. Surf. Sci.* **253**, 5447–5456 (2007).
114. Oliveira, C. P., Cardoso, M. L., Oliveira, a. J. a. & Pereira, E. C. Electrochemical Preparation of Overlapped Porous Layers on Anodic Alumina. *J. Nanosci. Nanotechnol.* **9**, 6487–6493 (2009).

115. Jagminiene, a., Valinčius, G., Riaukaite, a. & Jagminas, a. The influence of the alumina barrier-layer thickness on the subsequent AC growth of copper nanowires. *J. Cryst. Growth* **274**, 622–631 (2005).
116. Parkhutik, V. P. & Albella, J. M. STUDY OF ALUMINIUM ANODIZATION IN SULPHURIC AND CHROMIC ACID SOLUTIONS-I KINETICS OF GROWTH AND COMPOSITION OF OXIDES. *Electrochim. Acta* **35**, 955–960 (1989).
117. Parkhutik, V. P., Belov, V. T. & Chernyckh, M. a. Study of aluminium anodization in sulphuric and chromic acid solutions—II. Oxide morphology and structure. *Electrochim. Acta* **35**, 961–966 (1990).
118. Zaraska, L., Sulka, G. D., Jaskuła, M. & Zaraska, Sulka, J. Porous anodic alumina membranes formed by anodization of AA1050 alloy as templates for fabrication of metallic nanowire arrays. *Surf. Coatings Technol.* **205**, 2432–2437 (2010).
119. Yang, X. *et al.* Atomic force microscopy investigation of the characteristic effects of silver ions on Escherichia coli and Staphylococcus epidermidis. *Talanta* **81**, 1508–12 (2010).
120. Morones, J. R. *et al.* The bactericidal effect of silver nanoparticles. *Nanotechnology* **16**, 2346 (2006).
121. Sawai, O. & Oshima, Y. Deposition of silver nano-particles on activated carbon using supercritical water. *J. Supercrit. Fluids* **47**, 240–246 (2008).
122. Ling, Q. *et al.* Antibacterial effects of Ag-HAp thin films on alumina substrates. *Thin Solid Films* **335**, 214–219 (1998).
123. Kordás, K. *et al.* Room temperature chemical deposition of palladium nanoparticles in anodic aluminium oxide templates. *Nanotechnology* **17**, 1459–1463 (2006).
124. Esteban-Cubillo, a. *et al.* Silver nanoparticles supported on α -, η - and δ -alumina. *J. Eur. Ceram. Soc.* **26**, 1–7 (2006).
125. Pelzer, K., Philippot, K., Chaudret, B., Schmid, G. & Rutheniumnanopartikel, I. Ruthenium Nanoparticles in Nanoporous Alumina Membranes : Preparation , Characterization and Catalytic Properties Rutheniumnanopartikel in Nanoporösen Aluminiumoxidmembranen : Darstellung , Charakterisierung und Katalytische Eigenschaften. 1217–1222 (2003).
doi:10.1002/zaac.200300042

126. Bogdanchikova, N. On the nature of the silver phases of Ag/Al₂O₃ catalysts for reactions involving nitric oxide. *Appl. Catal. B Environ.* **36**, 287–297 (2002).
127. Keshavaraja, a, She, X. & Flytzani-Stephanopoulos, M. Selective catalytic reduction of NO with methane over Ag-alumina catalysts. *Appl. Catal. B Environ.* **27**, L1–L9 (2000).
128. Wang, G., Shi, C., Zhao, N. & Du, X. Synthesis and characterization of Ag nanoparticles assembled in ordered array pores of porous anodic alumina by chemical deposition. *Mater. Lett.* **61**, 3795–3797 (2007).
129. Lu, Z. *et al.* Deposition of Ag nanoparticles on porous anodic alumina for surface enhanced Raman scattering substrate. *J. Raman Spectrosc.* **40**, 112–116 (2009).
130. R.N. Bruns, I. S. B. B. S. *Como Fazer Experimentos: Pesquisa E Desenvolvimento Na Ciência E Na Indústria.* (2002).
131. BRASIL, M. da A. P. D. D. e A. Instrução Normativa nº 62, de 26 de agosto de 2003. Oficializa os Métodos Analíticos Oficiais para Análises Microbiológicas para Controle de Produtos de Origem Animal e Água. 14 (2003).
132. Edberg, S. C., Rice, E. W., Karlin, R. J. & Allen, M. J. Escherichia coli: the best biological drinking water indicator for public health protection. *J. Appl. Microbiol. - Simp. Suppl.* **88**, 106S–116S (2000).
133. Sambrook, J.; Fritsch, E. . M. *Molecular cloning: a laboratory manual.* (Cold Spring Harbor Laboratory, 1989).
134. Wen, Z., Huang, G. & Zhan, H. Non-Darcian flow to a well in a leaky aquifer using the Forchheimer equation. 563–572 (2011). doi:10.1007/s10040-011-0709-2
135. Zaraska, Sulka, J., Zaraska, L., Sulka, G. D., Jaskuła, M. & Zaraska, Sulka, J. Porous anodic alumina membranes formed by anodization of AA1050 alloy as templates for fabrication of metallic nanowire arrays - 2010.pdf. *Surf. Coatings Technol.* **205**, 2432–2437 (2010).
136. Chung, C.-K., Liu, T. Y. & Chang, W. T. Effect of oxalic acid concentration on the formation of anodic aluminum oxide using pulse anodization at room temperature. *Microsyst. Technol.* **16**, 1451–1456 (2009).

137. Kopp, O., Lelonek, M. & Knoll, M. The Influence of Pore Diameter on Bifurcation and Termination of Individual Pores in Nanoporous Alumina. 7993–7996 (2011).
138. Jagminas, A., Kurtinaitienė, M., Angelucci, R. & Valinčius, G. Modification of alumina barrier-layer through re-anodization in an oxalic acid solution with fluoride additives. *Appl. Surf. Sci.* **252**, 2360–2367 (2006).
139. Abd-elnaiem, A. M., Mebed, A. M. & Gaber, A. Effect of the Anodization Parameters on the Volume Expansion of Anodized Aluminum Films. *Int. J. Electrochem. Sci.* **8**, 10515–10525 (2014).
140. Lee, W. O. O. *et al.* Fast fabrication of long-range ordered porous alumina membranes by hard anodization. *Nat. Mater.* **5**, 741–747 (2006).
141. Vojkuvka, L., Marsal, L., Ferreborrull, J., Formentin, P. & Pallares, J. Self-ordered porous alumina membranes with large lattice constant fabricated by hard anodization. *Superlattices Microstruct.* **44**, 577–582 (2008).
142. Ali, G., Ahmad, M., Akhter, J. I., Maqbool, M. & Cho, S. O. Novel structure formation at the bottom surface of porous anodic alumina fabricated by single step anodization process. *Micron* **41**, 560–4 (2010).
143. O. Marques Filho, H. V. N. *Processamento Digital De Imagens*. (Brasport, 1999).
144. Patermarakis, G. & Papandreads, N. Study on the kinetics of growth of porous anodic Al₂O₃ films on Al metal. *Electrochim. Acta* **38**, 2351–2361 (1993).
145. Kashi, M. A., Ramazani, a., Raoufi, M. & Karimzadeh, a. Self-ordering of anodic nanoporous alumina fabricated by accelerated mild anodization method. *Thin Solid Films* **518**, 6767–6772 (2010).
146. Li, F., Zhang, L. & Metzger, R. M. On the Growth of Highly Ordered Pores in Anodized Aluminum Oxide. *Chem. Mater.* **4756**, 2470–2480 (1998).
147. Shawaqfeh, A. T. & Baltus, R. E. Fabrication and characterization of single layer and multi-layer anodic alumina membranes. *J. Memb. Sci.* **157**, 147–158 (1999).

148. Kobayashi, Y., Iwasaki, K., Kyotani, T. & Tomita, a. Preparation of tubular alumina membrane with uniform straight channels by anodic oxidation process. *J. Mater. Sci.* **31**, 6185–6187 (1996).
149. ITAYA, K., SUGAWARA, S., ARAI, K. & SAITO, S. Properties of Porous Anodic Aluminum Oxide Films As Membranes. *J. Chem. Eng. Japan* **17**, 514–520 (1984).
150. INMETRO. INMETRO - Instituto Nacional de Metrologia, Qualidade e Tecnologia. (2014). at <<http://www.inmetro.gov.br/>>
151. J. Sambrook, E. Fritsch, T. M. *Molecular cloning: a laboratory manual*. (Cold Spring Harbor Laboratory, 1989).
152. Vital, M., Stucki, D., Egli, T. & Hammes, F. Evaluating the growth potential of pathogenic bacteria in water. *Appl. Environ. Microbiol.* **76**, 6477–6484 (2010).