



Universidade do Algarve

FACULDADE DE CIÊNCIAS E TECNOLOGIAS

Síntese de Nanomateriais por Via Biológica e Estudos de Fotodegradação de Poluentes

Bernardete dos Santos Vieira

Mestrado Integrado em Engenharia Biológica

Dissertação para obtenção do Grau de Mestre em Engenharia Biológica

Tese orientada pela Professora Doutora Maria Clara Costa

2014



UNIVERSIDADE DO ALGARVE
FACULDADE DE CIÊNCIAS E TECNOLOGIAS

Síntese de Nanomateriais por Via Biológica e Estudos de Fotodegradação de Poluentes

Bernardete dos Santos Vieira

Mestrado Integrado em Engenharia Biológica

Dissertação para obtenção do Grau de Mestre em Engenharia Biológica

Tese orientada pela Professora Doutora Maria Clara Costa

2014

“Declaro ser a autora deste trabalho, que é original e inédito. Autores e trabalhos consultados estão devidamente citados no texto e constam da listagem de referências incluída.”

(Bernardete dos Santos Vieira)

“A Universidade do Algarve tem o direito, perpétuo e sem limites geográficos, de arquivar e publicitar este trabalho através de exemplares impressos reproduzidos em papel ou de forma digital, ou por qualquer outro meio conhecido ou que venha a ser inventado, de o divulgar através de repositórios científicos e de admitir a sua cópia e distribuição com objetivos educacionais ou de investigação, não comerciais, desde que seja dado crédito ao autor e editor.”

“Success isn’t just about what you accomplish in your life, it’s about what you inspire others to do” – Unknown



Agradece-se o apoio financeiro à Fundação para a Ciência e a Tecnologia (FCT) através do projeto intitulado “BIONANOMINE”, com a referência: PTDC/AAG-TEC/2721/2012, que tornou possível a realização deste trabalho.

Agradecimentos

Antes de mais quero agradecer à professora Doutora Maria Clara Costa pela oportunidade de realizar este trabalho. Quero agradecer também a seu apoio, disponibilidade e a partilha de conhecimentos ao longo deste ano de estágio.

Aos professores João Lourenço, Olinda Monteiro e Isabel Ferreira, por toda a disponibilidade, ensinamentos e ajuda prestada, pois sem eles parte deste trabalho não estaria concluído.

Aos meus colegas do Laboratório de Tecnologias Ambientais que sempre se mostraram disponíveis para me ajudar e/ou ensinar. Eles tornaram o meu percurso muito mais enriquecedor quer a nível pessoal quer a nível profissional.

Aos meus pais: Domingos e Eduarda, às minhas irmãs: Sónia e Carla e ao meu cunhado: Miguel, por todo o suporte, paciência, compreensão e incentivo dados ao longo destes anos, sem eles nada teria sido possível.

A todos os meus colegas e amigos que me acompanharam durante este percurso, um muito obrigado. Em especial ao Eduardo Sobral, Cátia Matos e Catarina Felizardo, que me acompanharam mais de perto e que sempre me apoiaram em todas as situações boas e más.

Resumo

A poluição ambiental por poluentes orgânicos assim como por resíduos metálicos presentes em descargas de efluentes aumenta diariamente afetando o nosso dia-a-dia. Usando sulfureto gerado biologicamente por ação de bactérias sulfato redutoras (SRB), é possível precipitar metais sob a forma de sulfuretos metálicos e estes, se semicondutores, podem ser usados posteriormente como catalisadores na fotodegradação de poluentes orgânicos.

Este trabalho teve dois objetivos claros: o primeiro foi sintetizar nanopartículas de sulfuretos metálicos e respectivos nanocompósitos de dióxido de titânio (TiO_2), com recurso ao sulfureto gerado biologicamente; o segundo foi a fotodegradação de poluentes orgânicos, neste caso do antibiótico cloranfenicol presente nos efluentes da indústria farmacêutica, usando como catalisadores as nanopartículas e os nanocompósitos sintetizados previamente.

Foram realizadas sínteses químicas e “biológicas”, por forma a comparar as partículas obtidas por ambas, de modo a determinar-se se as nanopartículas sintetizadas biologicamente apresentam as mesmas características do que as sintetizadas quimicamente. Foram sintetizadas com sucesso nanopartículas de sulfureto de cádmio (CdS) e de sulfureto de prata (Ag_2S). Estas últimas encontram-se numa mistura heterogénea de tamanhos, que variam entre os 63 – 173nm. Não foi possível obter sulfureto de níquel (NiS) nem sulfureto de cobalto (CoS) em nenhuma das sínteses.

Realizaram-se ensaios de fotodegradação do cloranfenicol em fotorreator e à luz solar. Em ambos os ensaios nenhum dos catalisadores sintetizados previamente, obteve melhores resultados do que o TiO_2 comercial. As nanopartículas e nanocompósitos de CdS sofreram fotocorrosão. Os nanocompósitos de sulfureto de cobre (CuS) com TiO_2 não se mostraram capazes de degradar o antibiótico.

Palavras-chave: Bactérias Sulfato Redutoras, Sulfuretos Metálicos, Fotodegradação, Nanopartículas e nanocompósitos, TiO_2

Abstract

Environmental pollution by organic pollutants as well as metallic wastes present in effluent discharges has increased affecting our daily lives. Using biologically generated sulfide produced by the action of sulphate-reducing bacteria, it is possible to precipitate metal sulfides and these, if semiconductors, can be used later as catalysts in the photodegradation of organic pollutants.

This work was divided into two clear objectives: the first was the synthesis of metal sulfides nanoparticles and their respective nanocomposites of TiO_2 , using biologically generated sulfide; the second was the photodegradation of organic pollutants, in this case the antibiotic chloramphenicol present in effluents from pharmaceutical industry, using the nanoparticles and their nanocomposites synthesized previously as catalysts.

Chemical and “biological” syntheses were performed in order to compare the particles obtained by both methods, to determine if biologically nanoparticles exhibit the same characteristics as the chemical nanoparticles. Nanoparticles of cadmium sulfide and silver sulfide were successfully synthesized. The latter are found in a heterogeneous mixture of sizes ranging between 63 and 173nm. Nickel sulphide and cobalt sulfide, could not be obtained in any of these syntheses.

The tests concerning the photodegradation of chloramphenicol were performed in a photoreactor and by exposure to sunlight. In both tests none of the previously synthesized catalysts, showed better results than TiO_2 , used alone. The nanoparticles and nanocomposites of CdS suffer photo corrosion. The nanocomposites of CuS with TiO_2 , were not capable to degrade this antibiotic.

Keywords: Sulfate-Reducing Bacteria, Metal Sulfides, Photodegradation; Nanoparticles and nanocomposites; TiO_2

Índice

Agradecimentos.....	V
Resumo	VI
Abstract	VII
Índice de abreviaturas	XI
Índice de figuras.....	XIII
Índice de tabelas.....	XVII
1. Objetivos.....	1
2. Introdução	2
2.1. <i>Precipitação de Sulfuretos Metálicos com Recurso a Bactérias Sulfato Redutoras.....</i>	<i>2</i>
2.2. <i>Nanopartículas de sulfuretos metálicos.....</i>	<i>5</i>
2.3. <i>Cloranfenicol, como Poluente da Indústria Farmacêutica</i>	<i>7</i>
2.4. <i>Fotodegradação</i>	<i>9</i>
3. Materiais e Métodos	12
3.1. <i>Consórcio bacteriano e condições de crescimento</i>	<i>12</i>
3.1.1. <i>Condições de crescimento.....</i>	<i>12</i>
3.1.2. <i>Parâmetros de crescimento.....</i>	<i>14</i>
3.2. <i>Síntese de sulfuretos metálicos.....</i>	<i>15</i>
3.2.1. <i>Condições de síntese dos sulfuretos metálicos.....</i>	<i>15</i>
3.2.2. <i>Técnicas instrumentais usadas na caracterização dos sulfuretos metálicos precipitados.....</i>	<i>17</i>
3.2.2.1. <i>Difração de raios-X.....</i>	<i>17</i>
3.2.2.2. <i>SEM/EDS</i>	<i>18</i>
3.2.2.3. <i>TEM/EDS.....</i>	<i>19</i>
3.2.2.4. <i>Espetroscopia de refletância difusa.....</i>	<i>19</i>

3.2.2.5. Potencial Zeta	19
3.3. <i>Ensaio de fotodegradação</i>	21
3.3.1. Ensaio em Fotorreator	23
3.3.1.1. Fotólise do cloranfenicol.....	23
3.3.1.2. Fotocatálise dos sulfuretos metálicos com e sem suporte de TiO ₂ , e de TiO ₂	23
3.3.2. Ensaio por exposição à luz solar	24
4. Resultados e discussão	25
4.1. <i>Crescimento e atividade da comunidade de SRB usada na síntese dos sulfuretos metálicos</i>	25
4.2. <i>Síntese de nanopartículas de sulfuretos metálicos</i>	27
4.2.1. Síntese de nanopartículas de sulfureto de cádmio, em <i>batch</i>	27
4.2.2. Síntese de nanopartículas de sulfureto de cobre, em <i>batch</i>	29
4.2.3. Síntese de nanopartículas de sulfureto de prata, em <i>batch</i>	30
4.2.4. Síntese de nanopartículas de sulfureto de níquel, em <i>batch</i>	32
4.2.5. Síntese de nanopartículas de sulfureto de cobalto, em <i>batch</i>	34
4.3. <i>Caracterização das nanopartículas de sulfuretos metálicos</i>	36
4.3.1. Caracterização das nanopartículas de sulfureto de cádmio, em <i>batch</i>	36
4.3.1.1. Difração de Raios X.....	36
4.3.1.2. SEM/EDS	39
4.3.1.3. TEM/EDS.....	43
4.3.1.4. Espectroscopia de Refletância Difusa	45
4.3.1.5. Potencial Zeta	50
4.3.2. Caracterização das nanopartículas de sulfureto de cobre, em <i>batch</i>	53
4.3.2.1. Espectroscopia de Refletância Difusa	53
4.3.2.2. Potencial Zeta	54
4.3.3. Caracterização das nanopartículas de sulfureto de prata, em <i>batch</i>	56
4.3.3.1. Difração de Raios X.....	56
4.3.3.2. SEM/EDS	57
4.3.3.3. TEM/EDS.....	61
4.3.3.4. Espectroscopia de Refletância Difusa	65
4.3.3.5. Potencial Zeta	68

4.3.4. Caracterização das partículas de níquel, em <i>batch</i>	70
4.3.4.1. Difração de Raios X.....	70
4.3.4.2. SEM/EDS	72
4.3.5. Caracterização das partículas de cobalto, em <i>batch</i>	75
4.3.5.1. Difração de Raios X	75
4.3.5.2. SEM/EDS	77
4.4. <i>Ensaio de Fotodegradação do Cloranfenicol</i>	79
4.4.1. Ensaio de fotodegradação em fotorreator.....	79
4.4.2. Ensaio de fotodegradação por exposição à luz solar.....	82
5. Conclusão.....	87
6. Perspectivas Futuras	90
Bibliografia.....	91

Índice de abreviaturas

Ag – Prata

Ag₂S – Sulfureto de Prata

AMD – Ácid Mine Drainage (Água Acida de Mina)

BaSO₄ – Sulfato de Bário

CB – Banda de Condução

Cd – Cádmio

CdS – Sulfureto de Cádmio

Co – Cobalto

CoS – Sulfureto de Cobalto

Cu – Cobre

CuS – Sulfureto de Cobre

DRS – Espectroscopia de Refletância Difusa

EDS – Espectroscopia de Dispersão de Energia

E_g – *Band Gap*

E_h – Potencial Redox

H₂S – Sulfureto de hidrogénio

H₂SO₄ – Ácido sulfúrico

IR – Infra Vermelho

K_{ps} – Constante do Produto de Solubilidade

M²⁺ – Catiões Metálicos

Na₂S – Sulfureto de Sódio

Ni – Níquel

NiS – Sulfureto de Níquel

S²⁻ – Sulfureto

SEM – Microscopia Eletrónica de Varrimento

SO₄²⁻ – Sulfato

SRB – Sulphate-Reducing Bacteria (Bactérias Sulfato Redutoras)

TEM – Microscopia Eletrónica de Transmissão

TiO₂ – Dióxido de Titânio

UV – Ultra Violeta

VB – Banda de Valência

Vis – Radiação Visível

XRD – Difraccção de Raios X

Índice de figuras

Figura 1 - Estrutura química do cloranfenicol (adaptado de (Shokri <i>et al</i> , 2013)).....	8
Figura 2 - Passagem de um electrão da banda de valência (VB) para a banda de condução CB), pela acção da absorção de luz (adaptado de (Linsebigler <i>et al</i> , 1995)).	10
Figura 3 - Representação esquemática de nanocompósitos de sulfuretos metálicos (MeS) com TiO ₂ , relativamente aos seus valores de <i>band gap</i> (E _g) (adaptado de (Linsebigler <i>et al</i> , 1995)).....	11
Figura 4 - Esquema do funcionamento do equipamento de XRD (adaptado de (PANalytical, 2009)).....	17
Figura 5 - Sinais gerados, numa análise de SEM, quando os electrões colidem com a amostra.	18
Figura 6 – (A) Ensaio em fotoreator e (B) Ensaios por exposição à luz solar. À esquerda ensaios de fotólise do cloranfenicol e à direita ensaios de fotodegradação do cloranfenicol catalisado com TiO ₂	21
Figura 7 - Variações dos valores de pH e de Eh ao longo das três semanas de crescimento das SRB.	25
Figura 8 - Variações dos valores de S ²⁻ e de SO ₄ ²⁻ ao longo das três semanas de crescimento das SRB	26
Figura 9 - Difractograma do TiO ₂ (anatase (<i>Reference Code</i> : 01-072-7058) e ao rutilo (<i>Reference Code</i> : 01-077-0441)).	37
Figura 10 – Difractograma dos precipitados obtidos através de síntese química de CdS. Os picos assinalados (*) correspondem à fase cúbica de CdS (<i>Reference Code</i> : 01-089-0440).	38
Figura 11 - Difractograma dos precipitados obtidos através de síntese biológica de CdS. Os picos assinalados (*) correspondem à fase cúbica de CdS (<i>Reference Code</i> : 01-089-0440).	38
Figura 12 – Difractograma dos precipitados obtidos através de síntese biológica de CdS com TiO ₂ (0,06g/50mL), correspondente à fase cúbica de CdS (*) as fases do TiO ₂ (*).	39
Figura 13 – Imagem de SEM (A) e correspondente espectro de EDS (B), das nanopartículas de CdS sintetizadas quimicamente.	40

Figura 14 – Imagem de SEM (A) e correspondente espectro de EDS (B), das nanopartículas de CdS sintetizadas biologicamente.	41
Figura 15 - Imagem de SEM (A) e correspondente EDS (B), das nanopartículas de CdS sintetizadas biologicamente com TiO ₂ (0,06g/50mL).	42
Figura 16 - Imagem de TEM das nanopartículas de CdS sintetizadas biologicamente..	44
Figura 17 - Imagem de TEM (A) e correspondente espectro de EDS (B), das nanopartículas de CdS sintetizadas biologicamente com TiO ₂ (0,06g/50mL).....	45
Figura 18 - Percentagem de refletância difusa em função do comprimento de onda para as amostras de CdS sintetizado biologicamente e de CdS sintetizado biologicamente com TiO ₂ (0,06g/50mL). A refletância difusa do TiO ₂ é também apresentada.	47
Figura 19 – Valores de KM (<i>Kubelka-Munk</i>) em função do comprimento de onda para as amostras de CdS sintetizado biologicamente e CdS sintetizado biologicamente com TiO ₂ (0,06g/50mL). (TiO ₂ – Eixo secundário / CdS e CdS+TiO ₂ – Eixo principal)	48
Figura 20 – Valores de KM em função do comprimento de onda para as amostras de CdS e de CdS com TiO ₂ (0,06g/50mL), ambas sintetizadas biologicamente. (TiO ₂ – eixo principal / CdS e CdS+TiO ₂ – Eixo secundário).....	49
Figura 21 - Valores de potencial zeta das nanopartículas de CdS, de CdS com TiO ₂ (0,06g/50mL), ambas sintetizadas biologicamente, e de TiO ₂ comercial.....	51
Figura 22 - Valores de potencial zeta das nanopartículas de CuS, de CuS com TiO ₂ (0,06g/50mL), ambas sintetizadas biologicamente, e de TiO ₂ comercial.....	54
Figura 23 - Difratoograma dos precipitados obtidos através de síntese biológica de Ag ₂ S, correspondente às fases monoclinica e ortorrômbica (*) (<i>Reference Code</i> : 00-014-0072 (*)e 00-003-0844 (*), respectivamente).....	56
Figura 24 - Difratoograma dos precipitados obtidos através de síntese biológica de Ag ₂ S com TiO ₂ (0,06g/50mL), correspondente à fase monoclinica (*) (<i>Reference Code</i> : 00-014-0072), ao TiO ₂ (*) (<i>Reference Code</i> : 00-002-0387 e <i>Reference Code</i> : 01-073-1782).	57
Figura 25 – Imagem de SEM (A) e correspondente espectro de EDS (B), das partículas de Ag ₂ S sintetizadas quimicamente.	58
Figura 26 – Imagem de SEM (A) e correspondente espectro de EDS (B), das partículas de Ag ₂ S sintetizadas biologicamente.	59
Figura 27 - Imagem de SEM (A) e correspondente EDS (B), das nanopartículas de Ag ₂ S sintetizadas biologicamente com TiO ₂ (0,06g/50mL).	60

Figura 28 - Imagem de TEM (A) e correspondente espectro de EDS (B), das nanopartículas de Ag ₂ S sintetizadas quimicamente.....	62
Figura 29 - Imagem de TEM (A) e correspondente espectro de EDS (B), das nanopartículas de Ag ₂ S sintetizadas biologicamente.....	63
Figura 30 - Imagem de TEM das nanopartículas de Ag ₂ S sintetizadas biologicamente com TiO ₂ (0,06g/50mL).....	64
Figura 31 - Percentagem de refletância difusa em função do comprimento de onda para as amostras de Ag ₂ S sintetizado biologicamente e Ag ₂ S sintetizado biologicamente com TiO ₂ (0,06g/50mL).	65
Figura 32 - Valores de KM em função do comprimento de onda para as amostras de Ag ₂ S sintetizado biologicamente e Ag ₂ S sintetizado biologicamente com TiO ₂ (0,06g/50mL).....	66
Figura 33 - Valores de KM em função do comprimento de onda para as amostras de Ag ₂ S e de Ag ₂ S com TiO ₂ (0,06g/50mL), ambas sintetizadas biologicamente.	67
Figura 34 - Valores de potencial zeta das nanopartículas de Ag ₂ S, de Ag ₂ S com TiO ₂ (0,06g/50mL), ambas sintetizadas biologicamente, e de TiO ₂ comercial.....	68
Figura 35 - Difratoograma dos precipitados obtidos através de síntese química de NiSO ₄ .6H ₂ O, correspondente à fase monoclinica (*) (<i>Reference Code</i> : 00-033-0955). 70	
Figura 36 - Difratoograma dos precipitados obtidos através de síntese biológica sem controlo de pH. Os picos identificados correspondem a NiSO ₄ .6H ₂ O de fase monoclinica (*) (<i>Reference Code</i> : 00-033-0955).....	71
Figura 37 - Difratoograma dos precipitados obtidos através de síntese biológica a pH 3. Os picos identificados correspondem a NiSO ₄ .6H ₂ O de fase monoclinica (*) (<i>Reference Code</i> : 01-079-0105).....	71
Figura 39 - Difratoograma dos precipitados obtidos através de síntese biológica a pH 7. Os picos identificados correspondem a NiSO ₄ .6H ₂ O na fase monoclinica (*) (<i>Reference Code</i> : 01-079-0105).	72
Figura 39 - Imagens de SEM (A) e espectro de EDS correspondente (B) das partículas resultantes da síntese biológica a pH 3.	73
Figura 40 - Imagens de SEM (A) e espectro de EDS correspondente (B) das partículas resultantes da síntese biológica a pH 7.	74
Figura 41- Difratoograma dos precipitados de cobalto obtidos através de síntese biológica sem controlo de pH.	75

Figura 42 - Difratoograma dos precipitados obtidos através de síntese biológica a pH 3, de $\text{CoSO}_4 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (*), (<i>Reference Code</i> : 00-016-0304) e H_2SO_4 (*) (<i>Reference Code</i> : 01-077-0367). Ambos os compostos obtidos se encontram na fase cristalina monoclinica.	76
Figura 43 - Difratoograma dos precipitados obtidos através de síntese biológica a pH 7. Os picos identificados correspondem a $\text{CoSO}_4 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, (<i>Reference Code</i> : 00-016-0304) na fase cristalina monoclinica (*).	76
Figura 44 - Imagens de SEM (A) e espectro de EDS correspondente (B) das partículas resultantes da síntese biológica a pH 3.	78
Figura 45 - Correlação $C/C_{\text{mãe}}$ em função do tempo de irradiação de luz UV.	79
Figura 46 - Percentagem de cloranfenicol degradado ao longo do tempo de irradiação de luz UV, a 276nm.	80
Figura 47 – Representação da regressão linear $\text{Ln}(C_{\text{mãe}}/C)$ em função do tempo de exposição à radiação.	81
Figura 48 - Correlação $C/C_{\text{mãe}}$ em função do tempo de irradiação de luz solar 1.	84
Figura 49 - Percentagem de cloranfenicol degradado ao longo do tempo de irradiação de luz solar	85
Figura 50 - Representação da regressão linear $\text{Ln}(C_{\text{mãe}}/C)$ em função do tempo de exposição à luz solar.	86

Índice de tabelas

Tabela 1 - Constantes do produto de solubilidade dos sulfuretos metálicos em estudo à temperatura ambiente (adaptado de (Russel, 1994; Brown & Holme, 2009)	3
Tabela 2 – Métodos de síntese para a obtenção de diferentes sulfuretos metálicos em escala nano.....	6
Tabela 3 - Características do cloranfenicol (adaptado de (Shokri <i>et al</i> , 2013 e de ChemAxon)).....	8
Tabela 4 - Constituição do meio Postgate B modificado (Postgate, 1966).....	13
Tabela 5 - Informação sobre os sais metálicos usados para preparação das soluções metálica (100mg/L), usadas na precipitação dos sulfuretos metálicos.	15
Tabela 6 – Parâmetros monitorizados para as diferentes sínteses de partículas de CdS. 27	
Tabela 7 – Análise por AAS da solução metálica inicial, e das soluções obtidas após a adição de sulfureto, gerado química e biologicamente.	28
Tabela 8 - Parâmetros determinados, para as diferentes sínteses de partículas de Ag ₂ S.30	
Tabela 9 – Resultados da análise por AAS da concentração de prata na solução antes e após as sínteses biológica e química.....	31
Tabela 10 - Parâmetros monitorizados nos processos de síntese das partículas de níquel	32
Tabela 11 - Análise por AAS da solução metálica inicial, e das soluções obtidas após a adição de sulfureto, gerado química e biologicamente.	33
Tabela 12 - Parâmetros monitorizados durante os processos de síntese de partículas de cobalto.....	34
Tabela 13 - Análise por AAS da solução metálica inicial, e das soluções obtidas após a adição de sulfureto, gerado química e biologicamente.	35
Tabela 14 - Valores de <i>band gap</i> das nanopartículas de CdS, de CdS com TiO ₂ (0,06g/50mL), ambas sintetizadas biologicamente, e de TiO ₂ comercial.....	50
Tabela 15 - Valores de <i>band gap</i> das nanopartículas de CuS, de CuS com TiO ₂ (0,06g/50mL), ambas sintetizadas biologicamente, e de TiO ₂ comercial (João Pinto, comunicação pessoal, 9 de Março de 2014).....	54
Tabela 16 - Valores de <i>band gap</i> das nanopartículas de Ag ₂ S, de Ag ₂ S com TiO ₂ (0,06g/50mL), ambas sintetizadas biologicamente, e de TiO ₂ comercial.....	67
Tabela 17 - Equações e coeficientes de correlação linear, obtidos a partir da figura 48.83	

1. Objetivos

Este trabalho dividiu-se em dois objetivos claros:

- Síntese biológica de nanopartículas de sulfuretos metálicos e respectivos nanocompósitos de TiO_2 , com recurso ao sulfureto gerado biologicamente por comunidades de SRB;
- Fotodegradação de poluentes orgânicos emergentes em águas residuais, neste caso o antibiótico cloranfenicol proveniente da indústria farmacêutica, presente em soluções aquosas sintéticas. Para tal, foram usados como catalisadoras as nanopartículas e seus nanocompósitos, previamente sintetizados

2. Introdução

2.1. Precipitação de Sulfuretos Metálicos com Recurso a Bactérias Sulfato Redutoras

As bactérias sulfato redutoras (SRB) são microrganismos de grande importância para a natureza e adaptam-se bem a quase todos os ecossistemas, encontrando-se distribuídas pelos ecossistemas terrestre, sub-terrestre e marinho (Barton & Fauque, 2009). São consideradas microrganismos ancestrais, os quais contribuíram para o ciclo biogeoquímico do enxofre, assim que surgiu vida no planeta (Barton & Fauque, 2009; Shen & Buick, 2004). Neste estudo foi utilizado um consórcio de SRB previamente isolado por Martins *et al*, que contém *Desulfovibrio desulfuricans* e *Desulfovibrio vulgaris* (Martins *et al*, 2010). Estas pertencem ao género *Desulfovibrio*, que tem sido alvo de estudos bioquímicos e fisiológicos e são consideradas as mais fáceis e rápidas de serem cultivadas (Barton & Fauque, 2009).

O interesse pelas SRB cresceu nos últimos anos pois, para além de serem capazes de reduzir sulfato a sulfureto, são capazes de simultaneamente de oxidar substratos orgânicos (Castro *et al*, 2000). A redução do sulfato pelas SRB tem sido apontada como uma das mais promissoras tecnologias, devido ao seu baixo custo e elevada taxa de eficácia, no processo de remoção de metais tóxicos das águas ácidas de minas, (AMD – *Acid Mine Drainage*), e de efluentes da indústria metalúrgica; estas são consideradas as principais causas da dispersão de metais tóxicos no solo e no meio aquático, que começam a ser associados a efeitos adversos do meio ambiente e da saúde humana (Johnson & Hallberg, 2005; Costa & Duarte, 2005; Labrens & Banfield, 2004; Gadd, 2010; Gosar, 2004; Barton & Fauque, 2009).

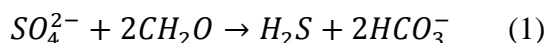
O sulfureto gerado biologicamente, através da redução do sulfato pela ação das SRB, pode facilmente reagir com metais divalentes em solução, formando precipitados insolúveis de sulfuretos metálicos. (Castillo, *et al*, 2012; da Costa *et al*, 2012; Schippers & Sand, 1999; Barton & Fauque, 2009). Espera-se que os sulfuretos metálicos sejam tão pequenos quanto mais insolúvel for o metal em causa (Lewis,

2010). Na tabela 1, podem consultar-se os valores das constantes do produto de solubilidade, dos sulfuretos metálicos estudados.

Tabela 1 - Constantes do produto de solubilidade dos sulfuretos metálicos em estudo à temperatura ambiente (adaptado de (Russel, 1994; Brown & Holme, 2009))

CdS	$1,1 \times 10^{-22}$
CuS	$8,0 \times 10^{-37}$
Ag ₂ S	$5,5 \times 10^{-51}$
NiS	$3,0 \times 10^{-21}$
CoS	$5,0 \times 10^{-22}$

A equação 1 indica o processo metabólico das SRB, aquando da oxidação de compostos orgânicos simples (representados por CH₂O), formando sulfureto de hidrogénio (H₂S) e iões de bicarbonato (2HCO₃⁻). Já a equação 2 indica a reação do sulfureto de hidrogénio com catiões metálicos (Me²⁺), formando sulfuretos metálicos (MeS) (Castillo, et al., 2012).



Pretende-se com este estudo produzir nanopartículas de sulfuretos metálicos – sulfureto de cádmio (CdS), sulfureto de cobre (CuS), sulfureto de prata (Ag₂S), sulfureto de níquel (NiS) e sulfureto de cobalto (CoS) – usando meio de cultura bacteriano contendo sulfureto gerado biologicamente, à temperatura ambiente e a pressão atmosférica.

Quando precipitados como nanocristalites, os sulfuretos metálicos são de grande interesse, pois permitem diversas aplicações, tais como: semicondutores, catalisadores, revestimentos de superfícies de polímeros, entre outras (Lewis, 2010).

Com este trabalho pretendeu-se ainda aplicar as nanopartículas de sulfuretos metálicos sintetizadas, como catalisadores na fotodegradação de poluentes orgânicos emergentes, neste caso do antibiótico cloranfenicol, que se encontra presente em águas residuais (Chatzitakis *et al*, 2008; Shokri *et al*, 2013; Zhang *et al*, 2010; Milic *et al.*, 2013; Jelic, *et al.*, 2011).

2.2. Nanopartículas de sulfuretos metálicos

Muito se tem questionado sobre o interesse por nanopartículas e o porquê de trabalhar com estruturas tão pequenas, que constituem um desafio para utilizar e sintetizar. A resposta encontra-se nas propriedades únicas que as nanopartículas possuem (Thakkar *et al*, 2009).

Nanopartículas, são partículas microscópicas que apesentem dimensões inferiores a 100nm (Thakkar *et al*, 2009). As nanopartículas são de grande interesse científico, pois elas encontram-se entre materiais a granel e estruturas atômicas ou moleculares. Os materiais a granel apresentam propriedades físicas constantes que são independentes do seu tamanho. No entanto em escala nano, muitas vezes o seu tamanho influência as propriedades físicas das nanopartículas. Foram já estudadas propriedades físicas de nanopartículas bem mais interessantes do que aquelas que apresentam as partículas a granel. No caso das nanopartículas de prata, o fato de serem nanopartículas, permite-lhes interagir facilmente com outras partículas aumentando a sua eficácia antibacteriana (Thakkar *et al*, 2009).

As nanopartículas metálicas apresentam várias aplicações em diversas áreas, tais como electrónica, cosmética, embalagens e biotecnologia (Thakkar *et al*, 2009). Nos últimos anos tem havido várias pesquisas sobre materiais em nano escalas, como os sulfuretos metálicos, que ganharam considerável atenção devido ao seu excelente potencial de catálise (Mallick *et al*, 2007), funcionalidades ópticas (Liz-Marzan *et al*, 2001) e funcionalidades eletrónicas (Kamat, 2002)

Foram já realizados diversos estudos de síntese química de nanopartículas de sulfuretos metálicos. Na tabela 2, podem consultar-se algumas das técnicas usadas para a obtenção de algumas das nanopartículas de sulfuretos metálicos que pretendemos usar neste estudo. Contudo, estes métodos baseiam-se essencialmente em altas temperaturas e /ou uso de pressões elevadas e/ou no uso de produtos químicos tóxicos.

De acordo com da Costa *et al*, a síntese de nanopartículas utilizando sulfureto gerado biologicamente pelas SRB, é uma mais valia quer a nível de segurança, quer a nível económico, uma vez que o sulfureto é produzido naturalmente (da Costa *et al*, 2012; da Costa *et al*, 2013)

Tabela 2 – Métodos de síntese para a obtenção de diferentes sulfuretos metálicos em escala nano.

Métodos de síntese	Tipo de nanopartículas	Tamanho e morfologia	Referência
Irradiação – precipitação	CdS	40 – 90 nm, esferóide e 40 – 100 nm nanobastões	(Ge & Zhang, 2002)
Spray de pirólise	CuS	14 – 46 nm, esferóide	(Isac <i>et al</i> , 2007)
Termólise	CuS, ZnS e Bi ₂ S ₃	10 – 20 nm, esferóide	(Luo <i>et al</i> , 2012)
Surfactante / sulfurização	CdS, ZnS e PbS	4 – 12 nm, esferóide	(Patel <i>et al</i> , 2012)
Micro-emulsão	CdS	4 – 14 nm, esferóide	(Upadhyay <i>et al</i> , 2012)
Eletrólise por pulsos	CuS	110 nm, esferóide	(Nekouie <i>et al</i> , 2013)
Decomposição termal	ZnS, CdS e PbS	4 – 18 nm, esferóide e cúbica	(Yu, <i>et al</i> ., 2011)
Modelo de bolha	CuS	4 – 10 nm, esferóide	(Zhao <i>et al</i> , 2012)
Transferência de fase orgânica	Ag ₂ S	15 – 21 nm, esferóide	(Yeo <i>et al</i> , 2010)
Modelo micelle	CdS	5 nm, nanofios e nanotubos	(Xiong <i>et al</i> , 2002)
Aquecimento / precipitação	ZnS, CdS e HgS	5 – 18 nm, esferóide e nanobastões	(Onwudiwe & Ajibade, 2011)
Deposição eletroforética	ZnS	20 nm, esferóide	(Vázquez <i>et al</i> , 2011)
Fonte única (deposição Langmuir-Blodgett)	CdS	4 nm, pontos quânticos	(Ferreira <i>et al</i> , 2001)

2.3. Cloranfenicol, como Poluente da Indústria Farmacêutica

Nos últimos anos tem havido uma grande preocupação no que diz respeito ao tratamento de águas que contenham contaminantes emergentes. Estes constituem um grupo diversificado de substâncias químicas que incluem nanomateriais, pesticidas, medicamentos e produtos de higiene pessoal, drogas ilícitas, agentes complexantes, entre outros (Benitez *et al.*, 2013; Milic, *et al.*, 2013; Houtman, 2010; Fawell & Ong, 2012). Diversos estudos parecem indicar que estes contaminantes se encontram dispersos irregularmente no meio ambiente, visto terem já sido detetados em águas subterrâneas, água potável, água da torneira, no oceano, em sedimentos e no solo (Hernández *et al.*, 2012; Andreozzi *et al.*, 2003; Ternes, *et al.*, 2003; Buffle *et al.*, 2006; Doll & Frimmel, 2004; Halling-Sorensen *et al.*, 1998).

Para fazer face ao elevado consumo de antibióticos durante as últimas décadas, a sua produção aumentou significativamente, provocando um aumento dos mesmos em águas residuais (Chatzitakis *et al.*, 2008; Shokri *et al.*, 2013; Hernández *et al.*, 2012). O maior problema é a possibilidade do desenvolvimento de microrganismos resistentes aos antibióticos, os quais não poderão vir a ser controlados com a mesma fórmula (Baran *et al.*, 2006; Shokri *et al.*, 2013).

Os tratamentos convencionais não são capazes de degradar completamente os antibióticos presentes nos efluentes, pois eles são projetados para serem resistente à degradação biológica, ou seja, mantém a sua estrutura química o tempo suficiente para poderem fazer o seu trabalho terapêutico. Assim sendo, eles podem permanecer no meio ambiente por muito tempo, tornando-os perigosos quer em altas, quer em baixas concentrações (Verma *et al.*, 2013; Chatzitakis *et al.*, 2008; Czech & Rubinowaska, 2013).

O cloranfenicol apresenta uma vasta atividade antibiótica, tanto contra bactérias Gram-positivas, como Gram-negativas (Chatzitakis *et al.*, 2008; Shokri *et al.*, 2013). Ele atua através da inibição da síntese proteica dos microrganismos, o que o torna eficaz no tratamento de várias doenças infecciosas. Contudo, existem indivíduos susceptíveis a este antibiótico, o qual é associado a efeitos tóxicos graves (Chatzitakis *et al.*, 2008).

A estrutura química do cloranfenicol encontra-se representada na figura 1. A tabela 2 exhibe outras características do cloranfenicol.

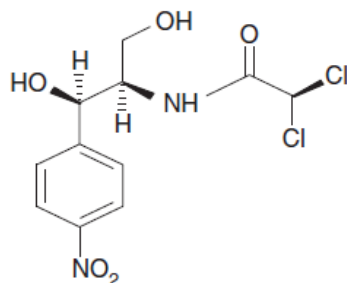


Figura 1 - Estrutura química do cloranfenicol (adaptado de (Shokri *et al*, 2013)).

Tabela 3 - Características do cloranfenicol (adaptado de (Shokri *et al*, 2013 e de ChemAxon)).

Fórmula Molecular	$C_{11}H_{12}N_2O_5Cl_2$
Nome IUPAC	2,2-dicloro-N-[(1R,2R)-2-hidroxi-1-(hidroximetil)-2-(4-nitrofenil)etil]acetamida
Número CAS	56-75-7
$\lambda_{m\acute{a}x}$ (nm)	257
Peso Molecular (g/mol)	323,13
Ponto Isoelétrico	2,43

Foram já estudados tratamentos alternativos, para a remoção do cloranfenicol das águas residuais, entre os quais estudos de fotodegradação do cloranfenicol, usando como catalisadores dióxido de titânio (TiO_2) e prata acoplada a TiO_2 (Ag/TiO_2) (Chatzitakis *et al*, 2008; Shokri *et al*, 2013; Zhang *et al*, 2010). O melhor sistema de fotodegradação reportado, usa nanopartículas de Ag/TiO_2 , na presença de radiação ultravioleta (UV) (Shokri *et al*, 2013).

2.4. Fotodegradação

A fotodegradação para remoção de poluentes tóxicos orgânicos e inorgânicos é considerada uma tecnologia verde, uma vez que normalmente não gera nenhum poluente como produto final. Ela é favorável e promissora quando emprega um catalisador não tóxico, que seja um semicondutor. Uma vez iluminado com luz a um determinado comprimento de onda apropriado, o semicondutor, torna-se um poderoso oxidante, capaz de converter os compostos orgânicos em água e dióxido de carbono, o que a torna uma tecnologia muito popular no que toca a purificação de efluentes (Gupta *et al*, 2007; Hashimoto *et al*, 2005).

Consideram-se dois tipos de fotodegradação, dependendo do tipo de catalisador usado: fotocatalise heterogénea e a fotocatalise homogénea.

A fotocatalise homogénea usa como catalisador polioxometalatos, que têm capacidade de oxidar compostos orgânicos fotocataliticamente. Este catalisador sob radiação UV induz um ligando (oxigénio), para a transferência da carga do metal com promoção do eletrão que ocupa a maior orbital molecular para a menor orbital molecular. Este pode ser considerado um processo paralelo ao da excitação do *band gap* num semicondutor fotocatalítico (Kim *et al*, 2004).

Tendo em conta que a fotocatalise heterogénea é a mais usada no que diz respeito a limpeza ambiental, foi esta que foi usada neste trabalho (Linsebigler *et al*, 1995). O TiO_2 , que é o catalisador mais reportado em bibliografia para fotodegradação de compostos orgânicos, e apresenta vantagens tais como: ser semicondutor; ser um composto químico e biologicamente inativo; ser relativamente barato; ser foto estável e bastante foto ativo; embora tenha um valor de *band gap* de 3,2eV, que apenas lhe permite absorver na zona do UV, isto é, em comprimentos de onda inferiores a 388nm, o que o limita quanto à aplicação da fotocatalise sob radiação solar natural (Bhatkhande *et al*, 2001; Blake, 1994; Robert & Malato, 2002; Gupta *et al*, 2007; Hashimoto *et al*, 2005; Kernazhitsky *et al*, 2013; Li, 2013; He & Chen, 2012).

A fotocatalise heterogénea tem recebido muita atenção nos últimos anos, como sendo uma técnica promissora que pode ser usada como alternativa ou como técnica complementar em tratamentos convencionais de águas residuais (Czech &

Rubinowaska, 2013). Esta dá-se quando através da absorção de luz, com um valor de energia igual ou superior ao do valor de *band gap* do semiconductor, um electrão é excitado da banda de valência para a banda de condução. Dá-se o nome de *band gap* ao vazio que se estende deste o topo da banda de valência preenchida com electrões até à banda de condução (Linsebigler *et al*, 1995; Li, 2013). A figura 2 representa a passagem do electrão da banda de valência (VB) para a banda de condução (CB).

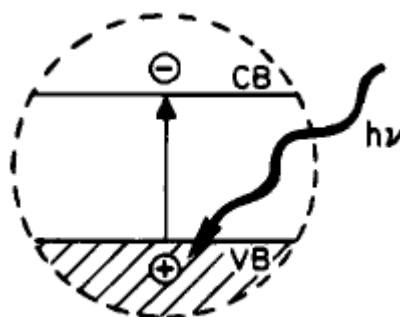


Figura 2 - Passagem de um electrão da banda de valência (VB) para a banda de condução CB), pela acção da absorção de luz (adaptado de (Linsebigler *et al*, 1995)).

Usar nanocompósitos de TiO_2 com outros semicondutores é um caminho interessante, no sentido de alterar as suas propriedades ópticas e electrónicas, por forma a torná-lo sensível e estender o seu espectro de resposta ao espectro da zona visível, aumentando a separação de cargas e ampliando a gama de energia de fotoexcitação do sistema, como se pode ver na figura 3, esta é uma representação esquemática de um nanocompósitos de TiO_2 , no que diz respeito à combinação dos seus valores de *band gap* (Kernazhitsky *et al*, 2013; Linsebigler *et al*, 1995; Li, 2013).

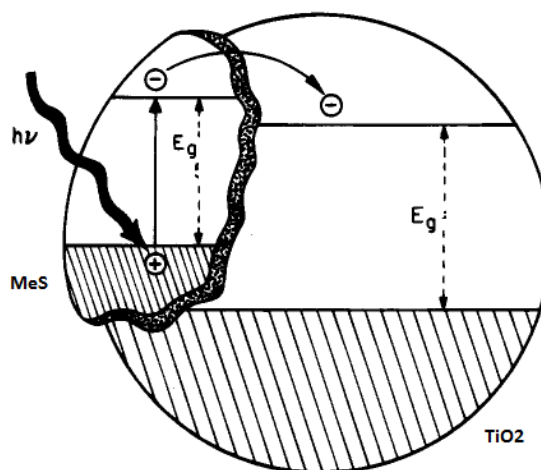


Figura 3 - Representação esquemática de nanocompósitos de sulfuretos metálicos (MeS) com TiO_2 , relativamente aos seus valores de *band gap* (E_g) (adaptado de (Linsebigler *et al*, 1995)).

Consideram-se semicondutoras, as partículas que apresentem valores de *band gap* compreendidos entre 0,2 e 4,0 eV (Kondarides, 2012). Com este trabalho pretende estudar-se o uso das seguintes nanopartículas: CdS, CuS, Ag_2S , NiS, CoS, todas elas semicondutoras (Paramguru, 2002; Sohrabnezhad *et al*, 2008) e respetivos nanocompósitos de TiO_2 .

3. Materiais e Métodos

3.1. Consórcio bacteriano e condições de crescimento

O consórcio de SRB foi previamente isolado da mina Urgeiriça, situada no norte de Portugal, e selecionado a partir de estudos anteriores. Este consórcio contém principalmente espécies associadas a *Desulfovibrio desulfuricans*, que foram usadas como inóculo (Martins *et al*, 2010).

3.1.1. Condições de crescimento

As culturas cresceram em meio Postgate B modificado (Postgate, 1966), o qual é descrito na tabela 4, em condições anaeróbicas e à temperatura ambiente em *batch* de 100mL. As condições anaeróbicas foram conseguidas acrescentando cerca de 10mL de parafina líquida estéril e selando os *batch*. De três em três semanas foram realizadas re-inoculações das culturas com vista à sua manutenção usando 7% (v/v) de inóculo de SRB.

Tabela 4 - Constituição do meio Postgate B modificado (Postgate, 1966).

Compostos	Meio Postgate B	Meio Postgate B modificado
$K_3PO_4 \cdot H_2O$	0,50	0,50
NH_4Cl	1,00	1,00
$CaSO_4 \cdot 2H_2O$	1,00	1,00
$MgSO_4 \cdot 7H_2O$	2,00	2,00
Lactato de sódio	3,50	7,75
Extrato de levedura	1,00	1,00
Ácido ascórbico	0,10	–
Ácido tioglicólico	0,10	–
$FeSO_4 \cdot 7H_2O$	0,50	–
Resazurina	–	0,01
Na_2SO_3	–	0,50

3.1.2. Parâmetros de crescimento

Semanalmente foram avaliados os seguintes parâmetros de crescimento das SRB em *batch*: pH; potencial redox (Eh); concentração de sulfato e de sulfureto. Para tal, foram recolhidas amostras (~3mL) com uma seringa a partir do topo dos frascos de vidro.

Imediatamente após a recolha das amostras, foram determinadas a concentração de sulfureto das mesmas, utilizando o espectrofotómetro de UV-Visível (DR 2800, Hach-Lange) pelo método azul-de-metileno (665nm, Hach-Lanche). A concentração de sulfato foi também determinada no espectrofotómetro de UV-Vis a 450nm usando o método sulfaVer4 (Hach-Lange). O Eh e o pH foram determinados usando o potenciómetro pH/Eh Meter (GPL 21, Crison).

3.2. Síntese de sulfuretos metálicos

Os sulfuretos metálicos foram sintetizados química e biologicamente. Foram também sintetizados compósitos de sulfuretos metálicos com suporte de TiO₂.

3.2.1. Condições de síntese dos sulfuretos metálicos

Começou por se preparar uma solução metálica de 100mg/L com água milliQ, para os diversos metais em estudo, usando o respetivo sal hidratado (tabela 5). A solução metálica preparada foi sujeita a ultra-sons durante cerca de 1 minuto para remover gases dissolvidos (da Costa *et al*, 2013). Foram determinados os valores de pH, Eh e a concentração de metal por espectroscopia de absorção atômica com chama, usando o espectrómetro Shimadzu AA-680. Usou-se o TiO₂ (ca. 80% anatase, 20% rutilo, P-25 (Degussa)) como suporte para as sínteses de nanocompósitos de sulfuretos metálicos.

Tabela 5 - Informação sobre os sais metálicos usados para preparação das soluções metálica (100mg/L), usadas na precipitação dos sulfuretos metálicos.

Metal	Sal metálico
<i>Cd</i>	Cd(NO ₃) ₂ .4H ₂ O 98,5%/ Alfa Aesar
<i>Ni</i>	NiSO ₄ .6H ₂ O 99%/ Merck
<i>Co</i>	Co(NO ₃) ₂ .6H ₂ O 99,5%/Riedel-de Haën
<i>Cu</i>	CuSO ₄ .5H ₂ O 99.5%, Riedel-de Haën
<i>Ag</i>	Ag ₂ SO ₄ 99%/Merck

Depois de determinados os parâmetros de crescimento, descritos na secção 3.1.2., foi adicionada uma alíquota de meio de crescimento contendo o sulfureto gerado biologicamente à solução metálica descrita acima. A adição era feita quando cerca de 90% de sulfato havia sido convertido a sulfureto. O volume do meio de cultura a adicionar, foi determinado com base no dobro do teor necessário para assegurar a precipitação completa dos iões metálicos presentes em solução (da Costa *et al*, 2012; da Costa *et al*, 2013)

A adição ocorreu sob agitação, adicionando o volume do meio nutriente gota-a-gota, com o auxílio de uma seringa, à temperatura ambiente e pressão atmosférica, de modo a obter nanopartículas de sulfuretos metálicos e respetivos nanocompósitos com TiO₂. A concentração de TiO₂ adicionado à síntese foi de 0,06g/50mL de solução metálica (da Costa *et al*, 2012).

Após a precipitação dos sulfuretos metálicos, foram determinados os seguintes parâmetros: pH, Eh, concentração de sulfureto e concentração do metal. A solução final obtida foi dividida em tubos de *falcon*, e centrifugada a 4000rpm durante 15min (Rotofix 32^a, Hettich). O *pellet* foi lavado com etanol a 70%, e deixado secar a vácuo (APT. Line VD, Blinder).

A síntese química decorreu em condições experimentais idênticas às da síntese biológica, descrita a cima, tendo como única diferença o facto de se adicionar um determinado volume de solução aquosa 8mM de sulfureto de sódio (Na₂S) (Sigma-Aldrich) à solução metálica, de forma a conter concentração pretendida de sulfureto (da Costa *et al*, 2012; da Costa *et al*, 2013)

3.2.2. Técnicas instrumentais usadas na caracterização dos sulfuretos metálicos precipitados

3.2.2.1. Difração de raios-X

Esta é uma técnica analítica não destrutiva, que permite identificar os cristais presentes nas amostras, assim como determinar qual a forma cristalina em que se encontram. Para a identificação dos cristais recorre-se ao difratograma obtido que é analisado recorrendo a uma base de dados, de modo a determinar quais os cristais obtidos (PANalytical, 2009).

A figura 4 ilustra o funcionamento do equipamento de XRD, que consiste na incidência de um feixe de raios-X na amostra e na deteção do feixe difratado. São estudados os efeitos causados pela amostra sobre os feixes de raios-X difratados; estes são detetados experimentalmente e registados sob a forma de difratograma.

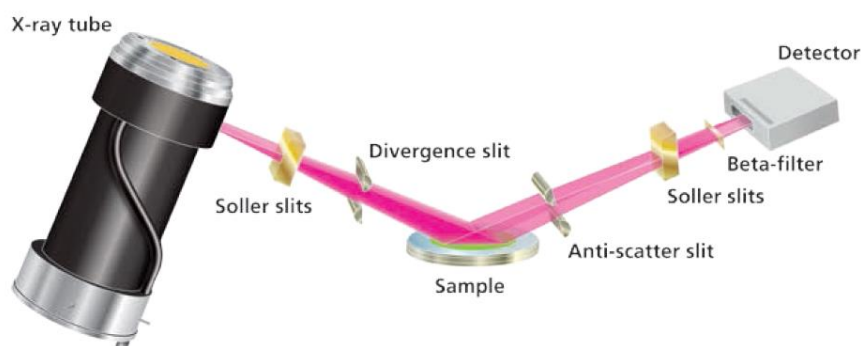


Figura 4 - Esquema do funcionamento do equipamento de XRD (adaptado de (PANalytical, 2009)).

As partículas foram analisadas no *PANalytical X'Pert Pro powder diffractometer* a 45kV e 40mA, com a radiação $\text{CuK}\alpha$ filtrada por Ni. Os padrões foram registados recorrendo ao detector *X'Celerator*, com *step size* de 0,016 e com *time/step* 5005 segundos. O *software HighScore* em conjunto com a base de dados ICDD PDF-2, foi usado para analisar os picos obtidos e para a identificação do cristal e da sua estrutura cristalina.

3.2.2.2. SEM/EDS

A morfologia superficial das amostras foi analisada no equipamento SEM-FIB. As amostras, foram previamente metalizadas e durante a observação foram varridas sequencialmente por um feixe de elétrons acelerado por uma tensão que varia entre 0.1 e 30 kV.

A microscopia eletrônica de varrimento possibilita a aquisição de imagens de elevada resolução numa escala micrométrica (μm) ou nanométrica (nm). A amostra é irradiada com um feixe de elétrons que varre a sua superfície formando uma imagem.

Quando os elétrons colidem com a amostra são gerados vários sinais, entre os quais, os elétrons secundários, elétrons retro difundidos e raios-X, indicados na figura 5. Os elétrons secundários são arrancados da superfície do material e são utilizados para gerar a imagem da sua topologia. Os elétrons retro difundidos são elétrons do feixe principal que foram defletidos pelos átomos do interior da amostra. Os raios-X emitidos possuem uma energia característica a partir da qual é possível identificar os elementos que compõem a amostra, ou seja, permitindo a sua análise elementar denominada de EDS, espectroscopia de dispersão de energia. Esta análise está também disponível neste equipamento.



Figura 5 - Sinais gerados, numa análise de SEM, quando os elétrons colidem com a amostra.

3.2.2.3. *TEM/EDS*

A microscopia eletrônica de transmissão acoplada a EDS, foi realizada no microscópio eletrônico Hitachi H-8100 a 160kV. Foram preparadas gotas contendo os precipitados obtidos, estas foram depositadas numa grelha de cobre e secas à temperatura ambiente. A análise elementar foi feita num EDS semi-quantitativo.

3.2.2.4. *Espetroscopia de refletância difusa*

Esta é uma excelente técnica para análise de amostras cristalinas em pó, restringindo-se apenas às zonas UV, Vis e IR (Cindy & J.T.). Através desta técnica os valores de *band gap* podem ser determinados, permitindo-nos saber se as partículas sintetizadas são semicondutoras (Shimadzu Corporation).

A preparação das amostras consiste em espalhar a mesma sobre um porta amostras contendo uma base de BaSO₄ (ReagentPlus, 99% Sigma-Aldrich), e uniformizá-la usando um pilão de vidro de base lisa. Depois de uniformizada, o porta amostras é introduzido na esfera integradora no espectrómetro (UV-2600 UV.vis Spectrometer, Shimadzu) e as amostras estão então prontas para serem lidas (UV-2600 UV.vis Spectrometer, Shimadzu). A leitura de refletância difusa foi medida entre 200 e 1400nm.

3.2.2.5. *Potencial Zeta*

A determinação do potencial zeta é uma técnica de caracterização físico-química, que permite determinar a carga da superfície das nanopartículas, assim como, a sua estabilidade em solução (Leroy *et al*, 2011; NanoComposix, 2012). A magnitude dos valores de potencial zeta prediz a estabilidade das nanopartículas em solução. Nanopartículas com valores de potencial zeta superiores a +25mV e inferiores a -25mV, normalmente apresentam alto grau de estabilidade. Dispersões com baixo valor de potencial zeta, irão eventualmente agregar-se devido a atrações interpartículas de Van

der Waals (NanoComposix, 2012). Pretende-se também determinar o valor de pH a que o potencial zeta muda de sinal, sendo que esse valor corresponderá ao ponto isoelétrico das nanopartículas, que permite determinar se as partículas se encontram carregadas positivamente ou negativamente (Fullston *et al*, 1999).

Foram preparadas previamente soluções aquosas com os seguintes valores de pH: 2, 3, 4, 5, 6, 7 e 8. Para a preparação destas soluções o pH foi ajustado com NaOH 5M ou HNO₃ a 65%. As partículas foram acrescentadas às diferentes soluções e sujeitas a ultra-sons durante 1min. As soluções contendo as partículas foram analisadas no equipamento *Malvern Nano ZS* recorrendo a *Folded Capillary cells*. O potencial zeta foi determinado a 148V.

3.3. Ensaios de fotodegradação

Estes foram divididos em dois ensaios: ensaios em fotorreator com duração de 1h e ensaios por exposição à luz solar com duração de 4h e 30min. Na figura 6 encontram-se as imagens dos ensaios realizados em fotorreator e por exposição à luz solar.

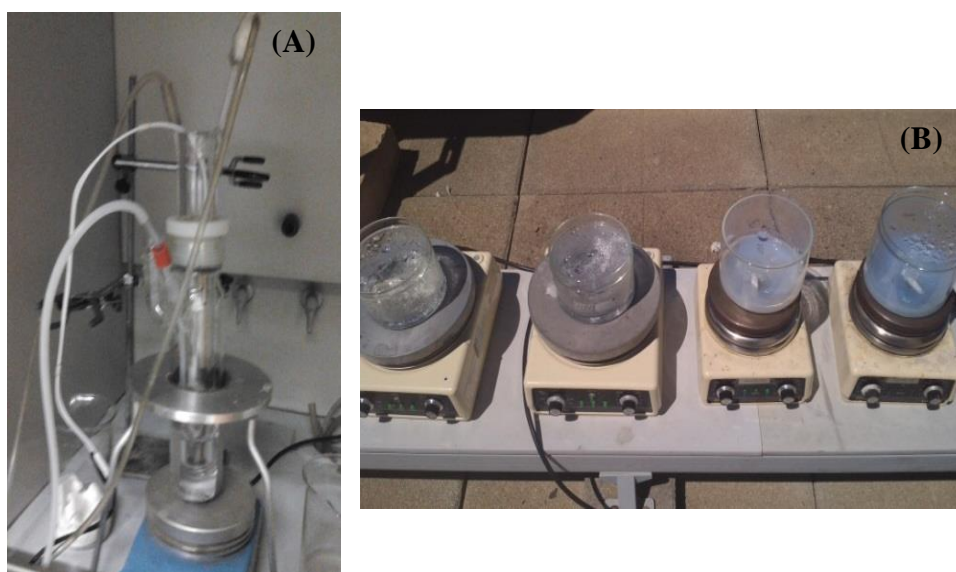


Figura 6 – (A) Ensaio em fotorreator e (B) Ensaios por exposição à luz solar. À esquerda ensaios de fotólise do cloranfenicol e à direita ensaios de fotodegradação do cloranfenicol catalisado com TiO_2 .

Os ensaios em fotorreator foram realizados no Departamento de Química e Bioquímica da Faculdade de Ciências da Universidade de Lisboa. Foi usado o fotorreator *Ace Glass* arrefecido por água fria em circulação. O vaso de reação apresenta um volume de 250mL e é constituído por vidro de borosilicato. Possui uma parede dupla com duas aberturas para tubos de entrada e saída de água e para arrefecimento, e possui ainda um braço lateral para o termómetro *Ace-Thread*. A radiação foi fornecida por uma lâmpada vapor de mercúrio a 450 W de média pressão (*Hanovia*). O total de energia de irradiação é de aproximadamente 40 – 48% na zona ultravioleta do espectro e de 40 – 43% na zona visível do espectro.

Os ensaios por exposição a luz solar foram realizados na cobertura (terraço) do edifício 8 da Faculdade de Ciências e Tecnologias da Universidade do Algarve,

aproveitando o sol a que esta região se encontra sujeita durante o período de Verão. Estes ensaios foram realizados em dias em que o índice de ultravioleta se encontrava entre 8 e 11, segundo o Instituto Português do Mar e da Atmosfera (IPMA). Foram realizados ensaios em duplicado em tinas de vidro tapadas com um vidro de relógio, para evitar a evaporação do solvente (água), sob agitação magnética de aproximadamente 500 rpm.

3.3.1. Ensaios em Fotorreator

3.3.1.1. Fotólise do cloranfenicol

Começou por ser preparada uma solução de 500mL de cloranfenicol a 10mg/L e recolheu-se uma amostra da mesma ($A_{m\grave{a}e}$). Para a preparação da solução de cloranfenicol foi usada água da torneira, de modo a simular o mais possível a realidade. Apenas 150mL da solução foi usada na fotólise. Após ter sido recolhida uma amostra aos 0 minutos (A_0), a luz UV foi ligada, e foram recolhidas amostras aos 5 (A_1), 10 (A_2), 20 (A_3), 30 (A_4), 45 (A_5) e 60 (A_6) minutos.

As amostras foram centrifugadas durante 3minutos a 3500 rpm e analisadas no espectrofotómetro de absorção molecular UV/Vis de 200 a 500nm.

2.3.1.2. Fotocatálise dos sulfuretos metálicos com e sem suporte de TiO_2 , e de TiO_2

Os ensaios de fotocatalise foram preparados de modo idêntico aos de fotólise. Às diferentes soluções de 150mL de cloranfenicol, foram acrescentadas 30mg das nanopartículas e respetivos nanocompósitos com TiO_2 . Após recolhidas as amostras ($A_{m\grave{a}e}$, A_0 , A_1 , A_2 , A_3 , A_4 , A_5 e A_6), estas foram centrifugadas durante 3minutos a 3500rpm. Foi retirado ~2mL do sobrenadante que foi centrifugado numa microcentrifuga durante 10min a 10.000rpm. O sobrenadante foi novamente retirado e repetiu-se o passo anterior. As amostras foram analisadas no espectrofotómetro de absorção molecular UV/Vis de 200 a 500nm.

3.3.2. Ensaio por exposição à luz solar

Foi preparado 1L de solução de cloranfenicol contendo 10mg/L, da qual se retirou uma amostra. Para a preparação da solução do cloranfenicol foi usada água da torneira, de modo simular o mais possível uma situação real. Foram necessárias duas tinas de vidro e duas placas de agitação magnética. Em cada uma das tinas adicionou-se 150mL da solução previamente preparada:

- No ensaio da fotólise do cloranfenicol, as tinas com a solução aquosa do cloranfenicol foram expostas à luz solar, com agitação;
- Nos ensaios de fotocatalise com TiO_2 e com os sulfuretos metálicos com e sem suporte de TiO_2 , foram adicionados 30mg desses materiais a cada uma das tinas contendo a solução aquosa de cloranfenicol. Estas foram sujeitas a ultra-sons, durante aproximadamente 1 minuto, e colocadas no escuro, com agitação, durante 30 minutos, para facilitar a adsorção do poluente às partículas. Imediatamente após esse período de tempo foram expostas à luz solar com agitação.

Retiraram-se amostras aos 0 minutos e aquando da sua exposição à luz solar, ao fim de 5, 20, 50, 80, 110, 140, 170, 200, 230 e 260 minutos. As amostras foram preparadas para análise de modo diferente:

- As amostras da fotólise foram centrifugadas durante 5 minutos a 10.000rpm (*Mikro 200, Hettich Zentrifugar*);
- As amostras das fotocatalise de TiO_2 e dos sulfuretos metálicos, foram centrifugadas durante 10 minutos a 10.000rpm. O sobrenadante foi retirado e centrifugado novamente a 10.000rpm durante 10 minutos (*Mikro 200, Hettich Zentrifugar*).

As amostras foram analisadas no *UV-Visible Recorder Spectrometer Shimadzu, UV-160A*, a 276nm. Foram registadas as temperaturas iniciais e finais em cada uma das tinas.

4. Resultados e discussão

4.1. Crescimento e atividade da comunidade de SRB usada na síntese dos sulfuretos metálicos

Nas figuras seguintes, podemos observar como se manifestam os parâmetros de crescimento das SRB, quer a nível de pH e Eh (figura 7), quer a nível das concentrações de sulfato (SO_4^{2-}) e de sulfureto (S^{2-}) (figura 8).

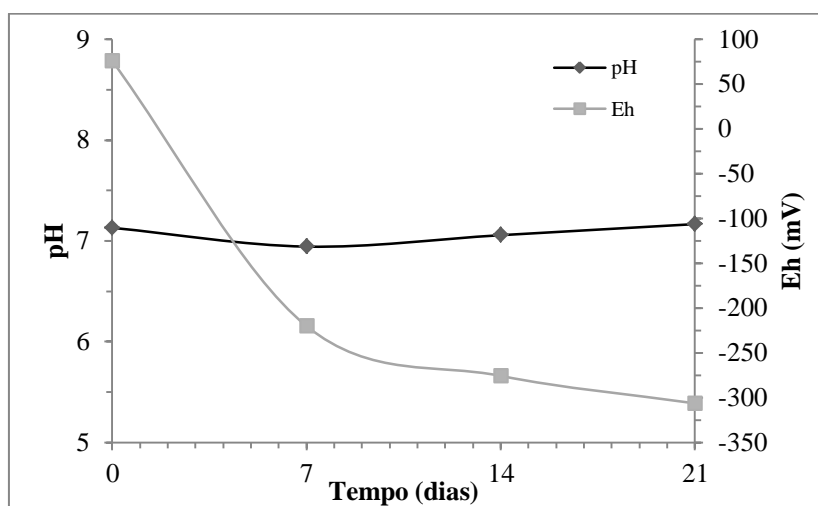


Figura 7 - Variações dos valores de pH e de Eh ao longo das três semanas de crescimento das SRB.

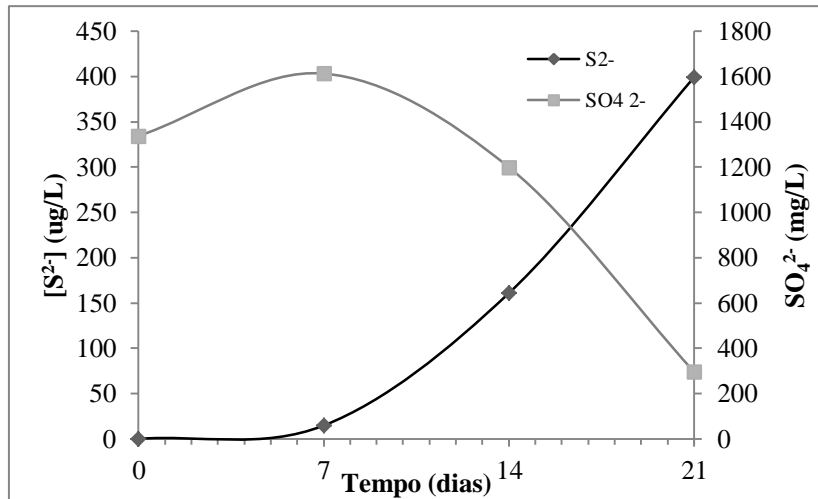


Figura 8 - Variações dos valores de S²⁻ e de SO₄²⁻ ao longo das três semanas de crescimento das SRB

Ao longo do ensaio, verifica-se um decréscimo dos valores de Eh. Este decréscimo significa que estão a ocorrer reações de redução no meio. Aliando o decréscimo do Eh ao visível decréscimo de SO₄²⁻ e ao aumento de S²⁻, reforça-se a ideia de que a principal reação que ocorre nos *batch* é a redução de SO₄²⁻ a S²⁻ realizada pelas SRB, comprovando a atividade destas bactérias. Refira-se ainda que a monitorização do pH (figura 7) permite verificar que aquele parâmetro se encontra dentro dos valores mais adequados para o crescimento e atividade das SRB (Al-Zuhair *et al*, 2008).

4.2. Síntese de nanopartículas de sulfuretos metálicos

4.2.1. Síntese de nanopartículas de sulfureto de cádmio, em *batch*

Na tabela 6 podem consultar-se os diferentes parâmetros, tais como pH, Eh, e a concentração de S^{2-} , monitorizados nas sínteses de sulfureto de cádmio química, biológica e biológica com TiO_2 . Os valores iniciais, pH_i , Eh_i referem-se aos valores da solução metálica antes da adição do sulfureto. Os valores de pH e de Eh finais, pH_f e Eh_f , são valores da solução metálica após a adição de sulfuretos.

À medida que é adicionado sulfureto à solução metálica, quer seja químico ou gerado biologicamente, os valores de pH da solução aumentam e os valores de Eh diminuem. Quando adicionado o sulfureto gerado biologicamente, nota-se um menor aumento de pH (valores próximos de 7), quando comparado com a síntese química (valores próximos de 11). Tal é devido ao efeito tampão do próprio meio nutriente onde o S^{2-} foi gerado. Também o Eh da solução decresce após a síntese, tomando valores negativos, sendo na síntese química que tomou o valor mais negativo de todos (-336mV). S_i^{2-} e S_f^{2-} correspondem respetivamente aos valores da concentração de S^{2-} na solução de meio nutriente antes e após a precipitação dos sulfuretos metálicos.

Tabela 6 – Parâmetros monitorizados para as diferentes sínteses de partículas de CdS.

Síntese Química CdS	Síntese Biológica CdS	Síntese Biológica CdS com TiO_2 (0,06g/50mL)
pH_i 5,18	pH_i 5,93	pH_i 5,6
pH_f 10,92	pH_f 6,98	pH_f 6,84
Eh_i 3 mV	Eh_i 20 mV	Eh_i 6 mV
Eh_f -336 mV	Eh_f -215 mV	Eh_f -153 mV
S_i^{2-} 545485 $\mu\text{g/L}$	S_i^{2-} 385263 $\mu\text{g/L}$	S_i^{2-} 533241 $\mu\text{g/L}$
S_f^{2-} 17492 $\mu\text{g/L}$	S_f^{2-} 8917 $\mu\text{g/L}$	S_f^{2-} 14794 $\mu\text{g/L}$

Na tabela 7, pode consultar-se a percentagem de cádmio que foi precipitado nas diferentes sínteses. Em todas as sínteses foi possível precipitar praticamente todo o

cádmio presente em solução, como é visível através das elevadas percentagens de precipitação, aproximadamente 99%, 98% e 99%, respetivamente. Comparando a percentagem de metal precipitado pela síntese química com a percentagem de metal precipitado pela síntese biológica, é possível reforçar a ideia de que usar sulfureto gerado biologicamente é tão eficiente quanto usar sulfureto proveniente de compostos químicos.

Tabela 7 – Análise por AAS da solução metálica inicial, e das soluções obtidas após a adição de sulfureto, gerado química e biologicamente.

	[Cd] mg/L	% de Cd Precipitado
Solução de Cd(II)	95	-
Sol._f Síntese Química	1,3	98,6%
Sol._f Síntese Biológica	1,7	98,2%
Sol._f Síntese Biológica com TiO₂ (0,06g/50mL)	1,2	98,7%

4.2.2. Síntese de nanopartículas de sulfureto de cobre, em *batch*

Foram usadas neste estudo nanopartículas de CuS e de CuS com TiO₂ sintetizadas biologicamente por da Costa *et al*, 2013.

A percentagem de cobre (II) precipitado foi superior a 95% para a síntese de CuS e de CuS com TiO₂, sintetizadas biologicamente (da Costa P. *et al*, 2013). Já a percentagem de precipitação de CuS na síntese química foi de aproximadamente 96% (da Costa P. *et al*, 2013).

4.2.3. Síntese de nanopartículas de sulfureto de prata, em *batch*

Na tabela 8 podem consultar-se os parâmetros determinados para as diferentes sínteses: química, biológica e biológica de sulfureto de prata com TiO₂ (0,06g/50mL). Também aqui os valores de pH aumentam e os valores de Eh diminuem à medida que é adicionado sulfureto, seja ele de origem biológica ou química. A diferença no aumento de pH está relacionada com as propriedades tampão do próprio meio de crescimento das SRB onde é gerado o S²⁻. O facto do potencial redox ser mais negativo na síntese química é muito provavelmente devido à maior concentração de sulfureto que permanece no meio após a precipitação SRB.

Tabela 8 - Parâmetros determinados, para as diferentes sínteses de partículas de Ag₂S.

Síntese Química Ag ₂ S		Síntese Biológica Ag ₂ S		Síntese Biológica Ag ₂ S com TiO ₂ (0,06g/50mL)	
pH_i	4,22	pH_i	3,69	pH_i	4,85
pH_f	11,6	pH_f	7,51	pH_f	7,32
Eh_i	569 mV	Eh_i	534 mV	Eh_i	536 mV
Eh_f	-335 mV	Eh_f	-276 mV	Eh_f	-279 mV
S²⁻_i	304348 µg/L	S²⁻_i	436324 µg/L	S²⁻_i	550343 µg/L
S²⁻_f	20899 µg/L	S²⁻_f	14004 µg/L	S²⁻_f	16051 µg/L

Na tabela 9, pode consultar-se a percentagem de prata que foi precipitada, nas sínteses química, biológica e biológica com TiO₂. Todas as sínteses apresentam elevadas percentagens de precipitação.

Tabela 9 – Resultados da análise por AAS da concentração de prata na solução antes e após as sínteses biológica e química

	[Ag] mg/L	% de Ag Precipitado
Solução de Ag(I)	105	-
Sol._f Síntese Química	0,1	99,9%
Sol._f Síntese Biológica	1,0	99,0%
Sol._f Síntese Biológica com TiO₂ (0,06g/50mL)	1,3	98,8%

4.2.4. Síntese de nanopartículas de sulfureto de níquel, em *batch*

A tabela 10 apresenta os valores obtidos dos parâmetros de síntese das partículas de níquel. Como anteriormente referido, foi feita a síntese química, de modo a comparar as partículas obtidas com as partículas obtidas por síntese biológica. Neste caso, o comportamento dos valores de pH e de Eh são idênticos aos comportamentos dos mesmos nos metais estudados anteriormente, ou seja, à medida que se adiciona sulfureto, biológico ou químico, o valor de pH aumenta e o valor de Eh diminui, não havendo um aumento de pH tão acentuado nos ensaios de síntese biológica devido ao efeito tampão do próprio meio.

Uma vez que não foi possível obter nanopartículas de sulfureto de níquel, como pretendido, foram feitas duas outras sínteses acertando o pH inicial da solução metálica a valores próximos de 3 e 7. Karbanee *et al* reporta que o H₂S em solução aquosa, não consegue precipitar Ni²⁺ a condições ambientais, uma vez que são gerados prótons, H⁺, que aumentam a acidez da solução e, espontaneamente, deixa de ocorrer a precipitação (Karbanee *et al.*, 2008). Também nestas sínteses os valores de pH e de Eh mantiveram o mesmo comportamento, não sendo, no entanto, possível obter nanopartículas de NiS, como é possível confirmar mais à frente.

Tabela 10 - Parâmetros monitorizados nos processos de síntese das partículas de níquel .

Síntese Química		Síntese Biológica		Síntese Biológica pH3		Síntese Biológica pH7	
pH_i	5,36	pH_i	4,81	pH_i	2,64	pH_i	7,36
pH_f	11,44	pH_f	6,74	pH_f	6,30	pH_f	6,86
Eh_i	51 mV	Eh_i	323 mV	Eh_i	7 mV	Eh_i	10 mV
Eh_f	-379 mV	Eh_f	224 mV	Eh_f	-183 mV	Eh_f	-228 mV
S²⁻_i	659973 µg/L	S²⁻_i	482917 µg/L	S²⁻_i	558311 µg/L	S²⁻_i	514919 µg/L
S²⁻_f	25618 µg/L	S²⁻_f	44450 µg/L	S²⁻_f	4092 µg/L	S²⁻_f	3011 µg/L

Na tabela 11, pode consultar-se a percentagem de níquel precipitado pelas diferentes sínteses. Em todas, foi possível precipitar quase completamente o níquel,

tendo-se obtido elevadas percentagens de precipitação, sendo no entanto a síntese biológica sem controlo de pH a que se mostrou maior rendimento de síntese.

Tabela 11 - Análise por AAS da solução metálica inicial, e das soluções obtidas após a adição de sulfureto, gerado química e biologicamente.

	[Ni] mg/L	% de Ni Precipitado
Sol. Inicial de Ni(II)	97,8	-
Sol. Final Síntese Biológica	1,4	96,9%
Sol. Final Síntese Química	2,3	91,3%
Sol. Final Síntese Biológica a pH 3	13,9	85,8%
Sol. Final Síntese Biológica a pH 7	10,9	88,9%

4.2.5. Síntese de nanopartículas de sulfureto de cobalto, em *batch*

A tabela 12 apresenta os valores dos parâmetros monitorizados nos processos de síntese das partículas de cobalto. Analisando as sínteses química e biológica sem acerto de pH, o comportamento dos valores de pH e de Eh são idênticos aos dos metais estudados anteriormente, ou seja, à medida que se adiciona sulfureto, biológico ou químico, o valor de pH aumenta e o valor de Eh diminui. Também com o cobalto, foram efetuadas duas sínteses mantendo o pH da solução metálico com valores próximos de 3 e 7, como feito anteriormente para o níquel, uma vez que como veremos mais à frente, não foi possível sintetizar nanopartículas de CoS. Também nestas sínteses os valores de pH e de Eh mantiveram o mesmo comportamento.

Tabela 12 - Parâmetros monitorizados durante os processos de síntese de partículas de cobalto.

Síntese Química		Síntese Biológica		Síntese Biológica pH3		Síntese Biológica pH7	
pH_i	5,54	pH_i	5,74	pH_i	2,94	pH_i	6,77
pH_f	11,36	pH_f	6,77	pH_f	6,73	pH_f	7,58
Eh_i	103 mV	Eh_i	224 mV	Eh_i	40 mV	Eh_i	40 mV
Eh_f	-116 mV	Eh_f	193 mV	Eh_f	-148 mV	Eh_f	-136 mV
S²⁻_i	686896 µg/L	S²⁻_i	558875 µg/L	S²⁻_i	496383 µg/L	S²⁻_i	554822 µg/L
S²⁻_f	475 µg/L	S²⁻_f	521 µg/L	S²⁻_f	45257 µg/L	S²⁻_f	70000 µg/L

Na tabela 13, pode consultar-se a percentagem de cobalto precipitado pelas diferentes sínteses. Em todas, foi possível precipitar quase completamente o cobalto, ou seja obtiveram-se elevadas percentagens de precipitação, sendo que a síntese biológica sem controlo de pH é a que apresenta a maior percentagem de precipitação, tal como aconteceu com o níquel.

Tabela 13 - Análise por AAS da solução metálica inicial, e das soluções obtidas após a adição de sulfureto, gerado química e biologicamente.

	[Co] mg/L	% de Co Precipitado
Sol. Inicial de Co(II)	95,5	-
Sol. Final Síntese Biológica	1,0	99,0%
Sol. Final Síntese Química	2,3	97,6%
Sol. Final Síntese Biológica a pH 3	18,8	80,3%
Sol. Final Síntese Biológica a pH 7	14,5	84,8%

4.3. Caracterização das nanopartículas de sulfuretos metálicos

4.3.1. Caracterização das nanopartículas de sulfureto de cádmio, em *batch*

4.3.1.1. Difração de Raios X

A técnica de XRD foi a primeira a ser utilizada para comprovar, ou não, se as sínteses dos sulfuretos metálicos foram realizadas com sucesso, uma vez que permite determinar a estrutura cristalina do precipitado e por outro lado obter uma estimativa do tamanho das partículas do mesmo.

O tamanho da cristalite dos sulfuretos metálicos precipitados, é estimado com base nos dados obtidos sob a forma de difratograma, recorrendo à equação de *Scherrer* (Eq.3).

$$Dp = \frac{K \times \lambda}{\beta \times \cos \theta} \quad (3)$$

Onde o diâmetro das partículas (Dp) é determinado com base no factor forma ($K - 0,94$), no comprimento de onda da fonte de radiação (λ), na largura total a meia altura em radianos (β) e no ângulo de *Bragg* (θ). O pico mais intenso é o utilizado para estimar o tamanho das partículas através da equação de *Scherrer* (Scherrer, 1922). Contudo o tamanho definitivo, deverá ser comprovado por microscopia eletrónica.

Nas figuras 9, 10, 11 e 12, encontram-se os difratogramas obtidos para o TiO_2 comercial, para as sínteses de CdS química, biológica e biológica com TiO_2 (0,06g/50mL), respetivamente.

Os resultados mostram que o cádmio precipitou na forma de CdS e que a fase cúbica é a fase cristalina predominante para as partículas analisadas a partir das diferentes sínteses. Os difratogramas da síntese química e da biológica são praticamente idênticos, o que sugere que a última seja viável para preparação de partículas de CdS.

No difratograma da síntese biológica com TiO_2 , identificam-se os picos correspondentes à difração de anatase e de rutilo, mas também os picos correspondentes às nanocristalites de CdS.

Usando a equação de *Scherrer* (Eq.3), a média do tamanho das cristalites de CdS estimada foi de 3,36nm, 2,48nm e de 18,89nm, para a síntese química, biológica e biológica com TiO_2 , respetivamente. De acordo com os tamanhos estimados, as partículas obtidas são todas elas nanopartículas, tal como pretendido.

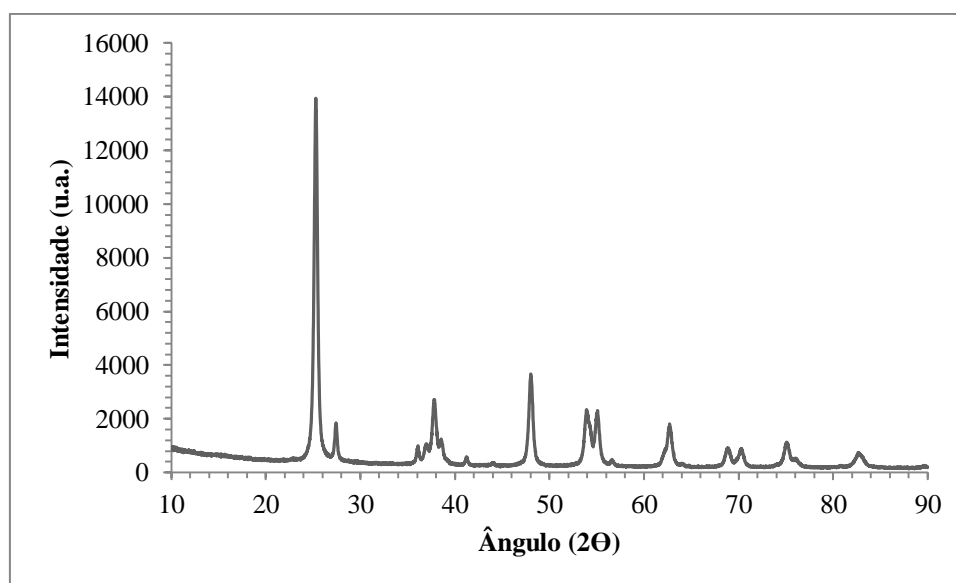


Figura 9 - Difratograma do TiO_2 (anatase (*Reference Code: 01-072-7058*) e ao rutilo (*Reference Code: 01-077-0441*)).

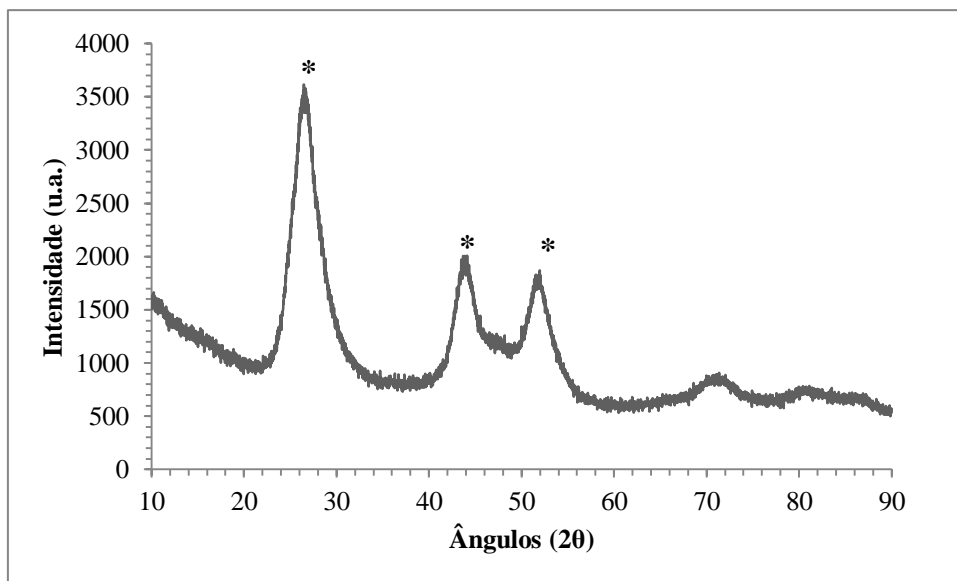


Figura 10 – Difratoograma dos precipitados obtidos através de síntese química de CdS. Os picos assinalados (*) correspondem à fase cúbica de CdS (*Reference Code: 01-089-0440*).

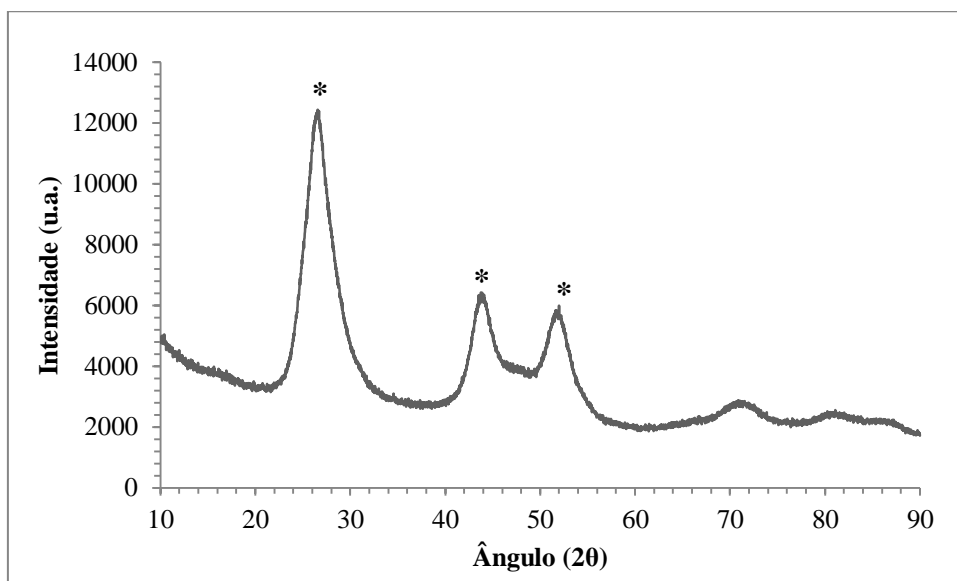


Figura 11 - Difratoograma dos precipitados obtidos através de síntese biológica de CdS. Os picos assinalados (*) correspondem à fase cúbica de CdS (*Reference Code: 01-089-0440*).

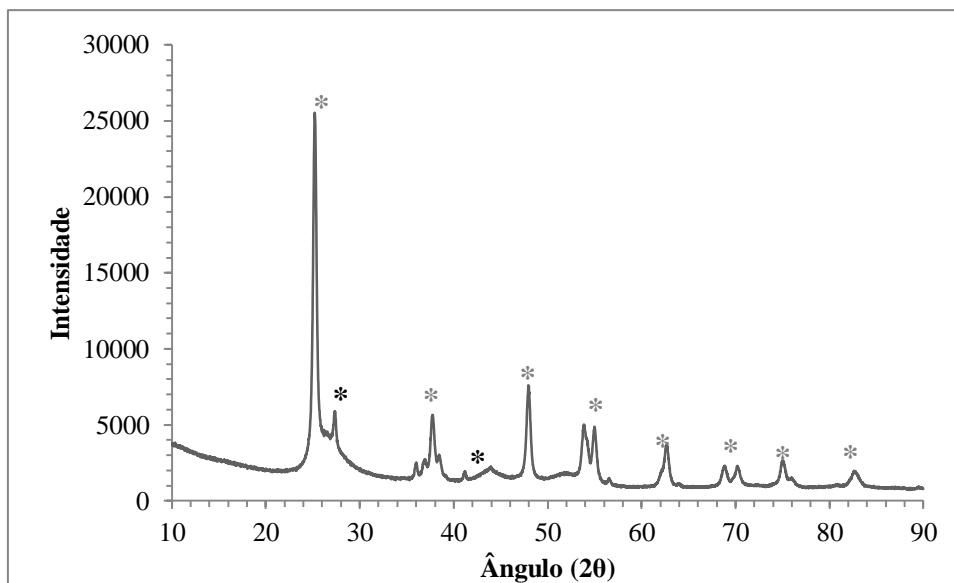


Figura 12 – Difratoograma dos precipitados obtidos através de síntese biológica de CdS com TiO₂ (0,06g/50mL), correspondente à fase cúbica de CdS (*) as fases do TiO₂ (*).

4.3.1.2. SEM/EDS

As figuras 13, 14 e 15 mostram, respetivamente, as imagens de SEM e o correspondente EDS das nanopartículas de CdS sintetizadas quimicamente, biologicamente e biologicamente com TiO₂ (0,06g/50mL).

Apesar de agregadas, nota-se que a morfologia das nanopartículas é esférica. Como esperado, a análise de EDS confirma a presença de cádmio e de enxofre nas três amostras analisadas. Na terceira (figura 15) confirma-se também a presença de Ti e O, relativos ao TiO₂.

Na amostra relativa às nanopartículas provenientes da síntese química (figura 12), é possível encontrar vestígios de sódio (Na), o que se deve ao facto de se ter usado uma solução aquosa de sulfureto de sódio (Na₂S) como agente precipitante.

Nas restantes amostras relativas às sínteses biológica e biológica com TiO₂ (figura 14 e figura 15, respetivamente), o espectro de EDS mostra estarem presentes outros elementos para além de Cd, S, Ti e O., tais como, cálcio e fósforo. Tal deve-se, provavelmente, ao facto destes elementos estarem presentes no meio de crescimento das

SRB, meio esse que continha o S^{2-} gerado biologicamente usado para precipitar cádmio sob a forma de CdS.

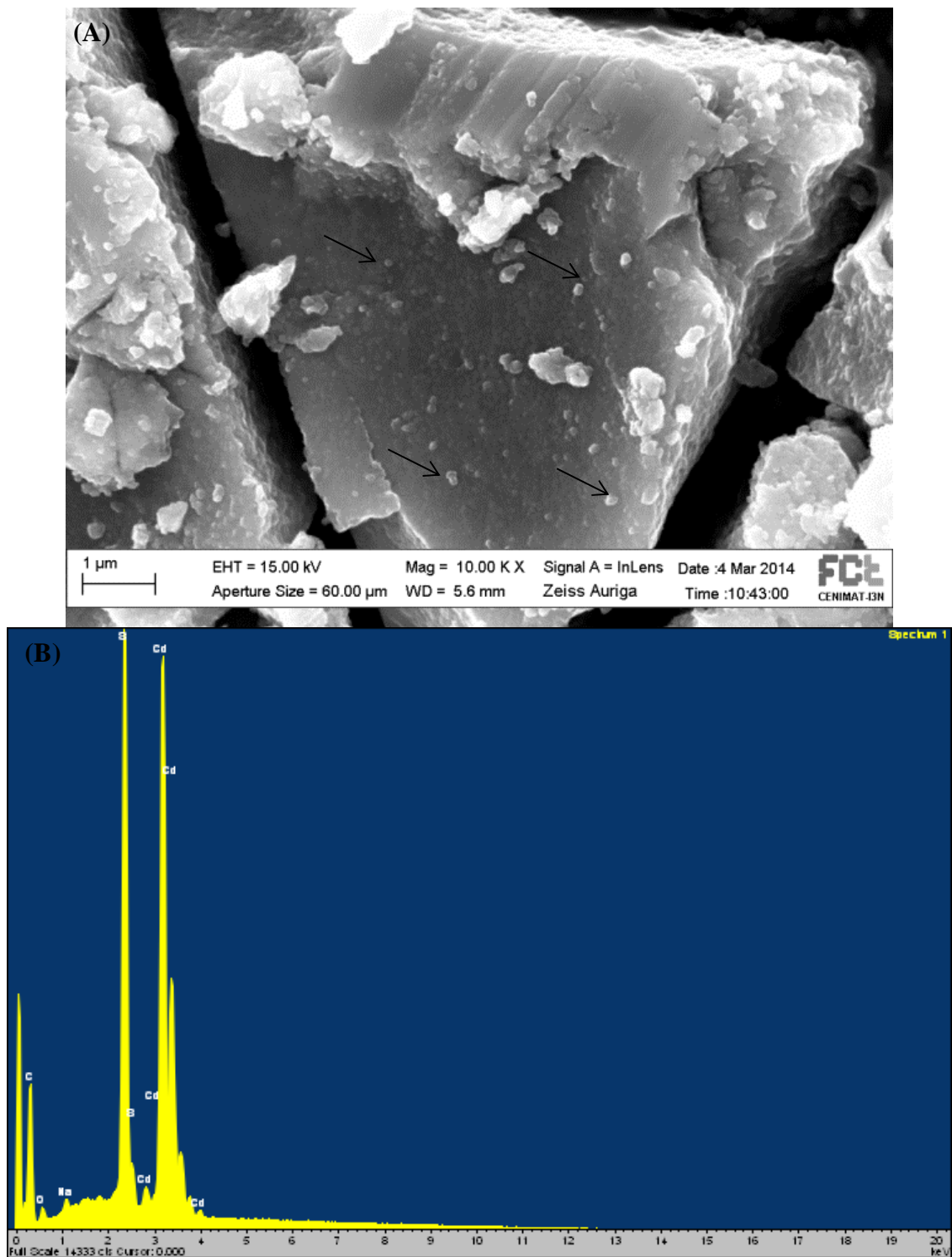


Figura 13 – Imagem de SEM (A) e correspondente espectro de EDS (B), das nanopartículas de CdS sintetizadas quimicamente.

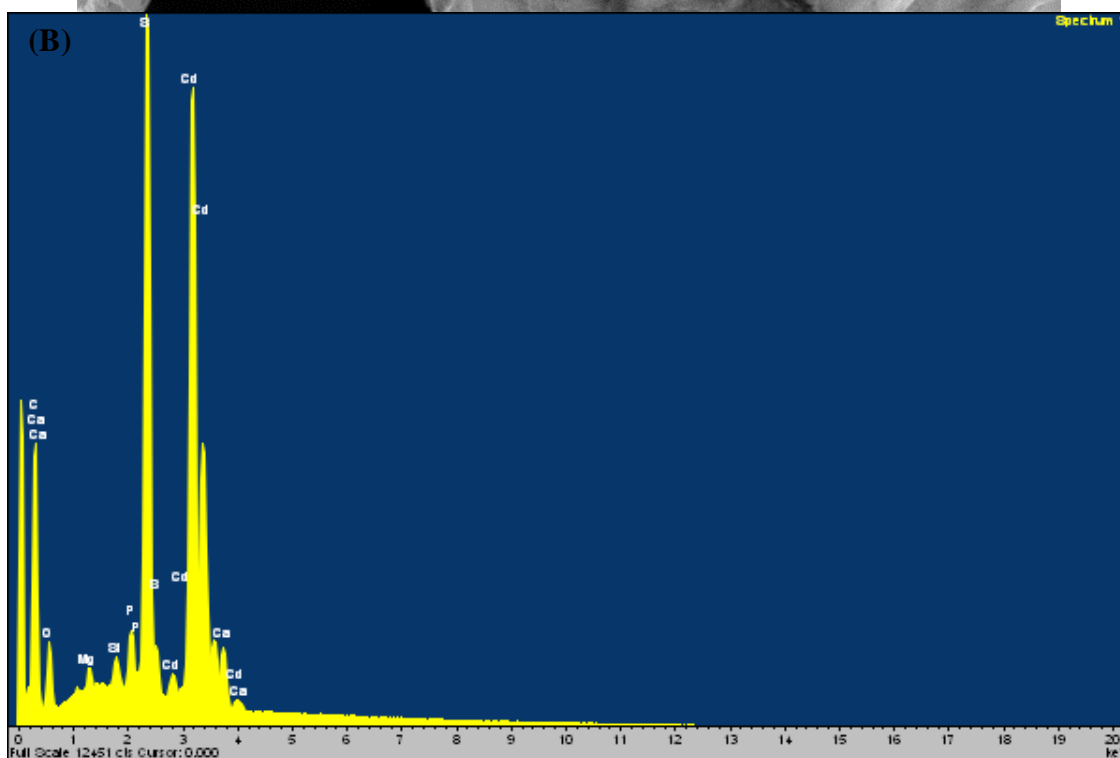
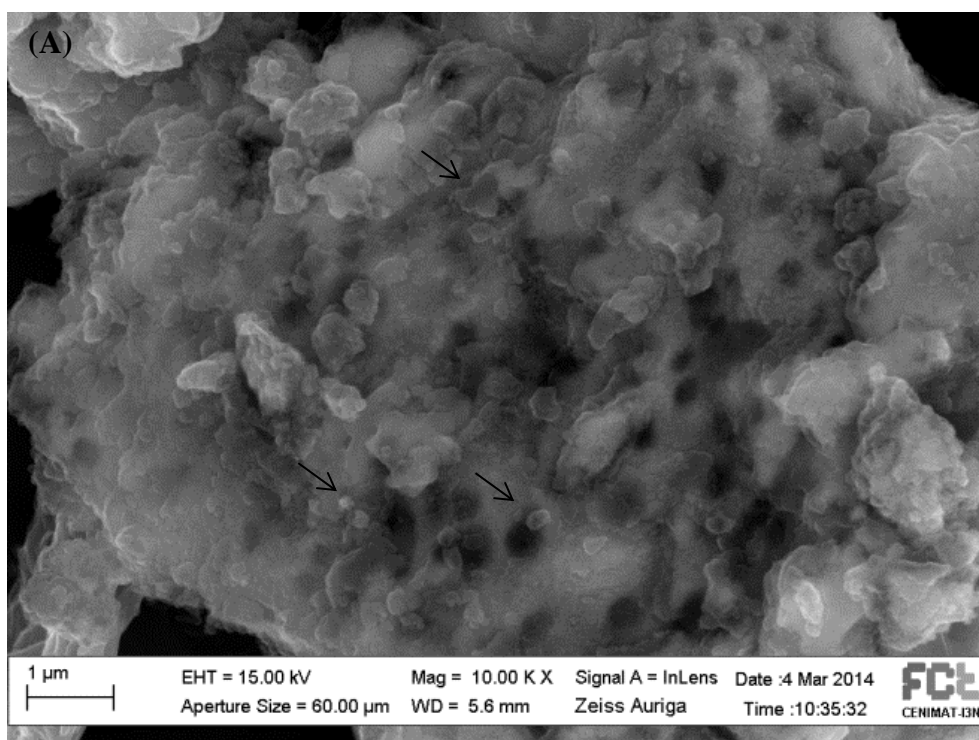


Figura 14 – Imagem de SEM (A) e correspondente espectro de EDS (B), das nanopartículas de CdS sintetizadas biologicamente.

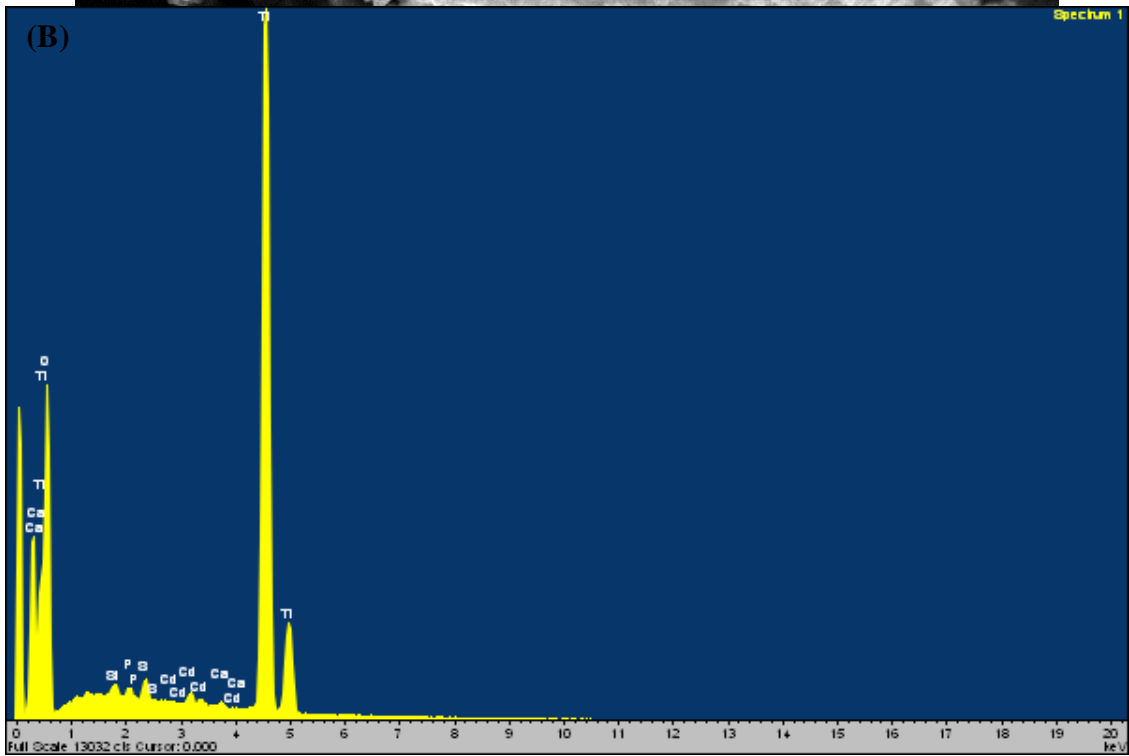
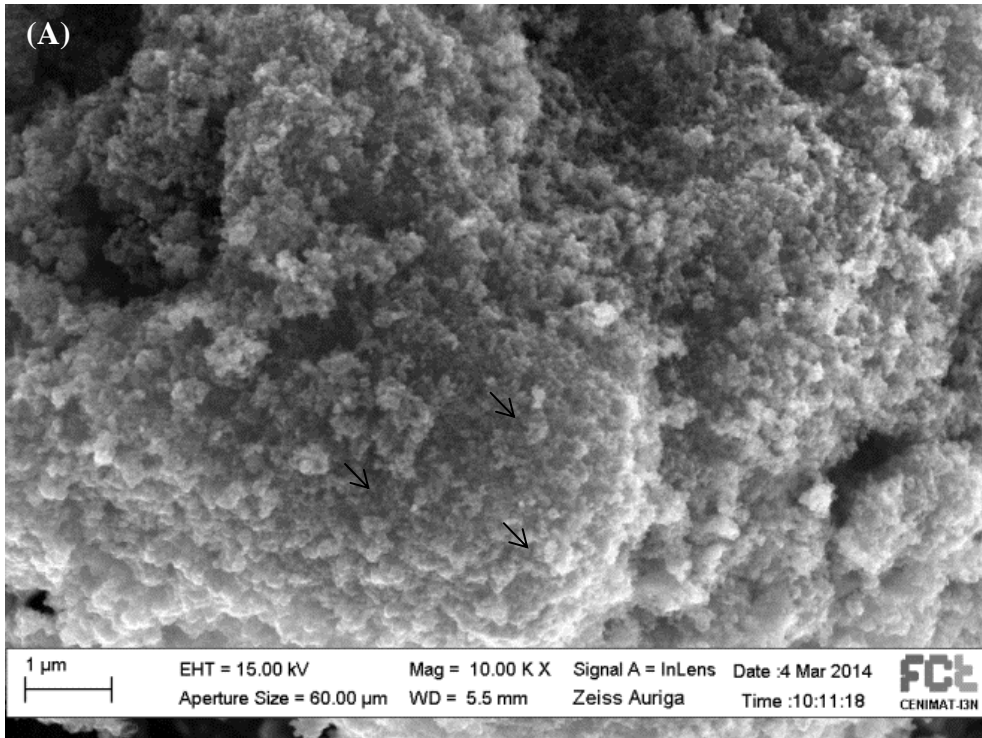


Figura 15 - Imagem de SEM (A) e correspondente EDS (B), das nanopartículas de CdS sintetizadas biologicamente com TiO_2 (0,06g/50mL).

4.3.1.3. TEM/EDS

As figuras 16 e 17 (A) correspondem, respetivamente, às imagens obtidas por TEM para as nanopartículas de CdS e de CdS sintetizadas na presença de TiO₂, ambas sintetizadas biologicamente. Por análise das figuras, é possível confirmar que as nanopartículas de CdS apresentam morfologia esférica, já as nanopartículas de CdS sintetizadas com TiO₂ apresentam morfologia esférica irregular. Por análise à figura 17 (A) é possível constatar que as partículas de CdS se encontram segregadas às partículas de TiO₂, ou seja, durante o processo de síntese deu-se uma combinação dos dois compostos

Esta técnica permite-nos também determinar o tamanho das partículas. Assim, as partículas de CdS sintetizadas biologicamente apresentam tamanhos compreendidos entre 11 – 44nm, enquanto que as partículas de CdS sintetizadas com TiO₂ apresentam tamanhos que variam entre 21 – 68nm. Assim sendo, confirma-se que as partículas referidas anteriormente, foram precipitadas com sucesso sob a forma de nanopartículas, o que está de acordo com a estimativa obtida por XRD.

Analisando a figura 17 (B), que corresponde ao EDS dos nanocompósitos de CdS com TiO₂, foi possível identificar como esperado cádmio, titânio, enxofre e oxigénio. Também foi identificado carbono, que se deve, muito provavelmente, aos componentes do meio de crescimento bacteriano usado, bem como cobre e silício que estão presentes na grelha usada.

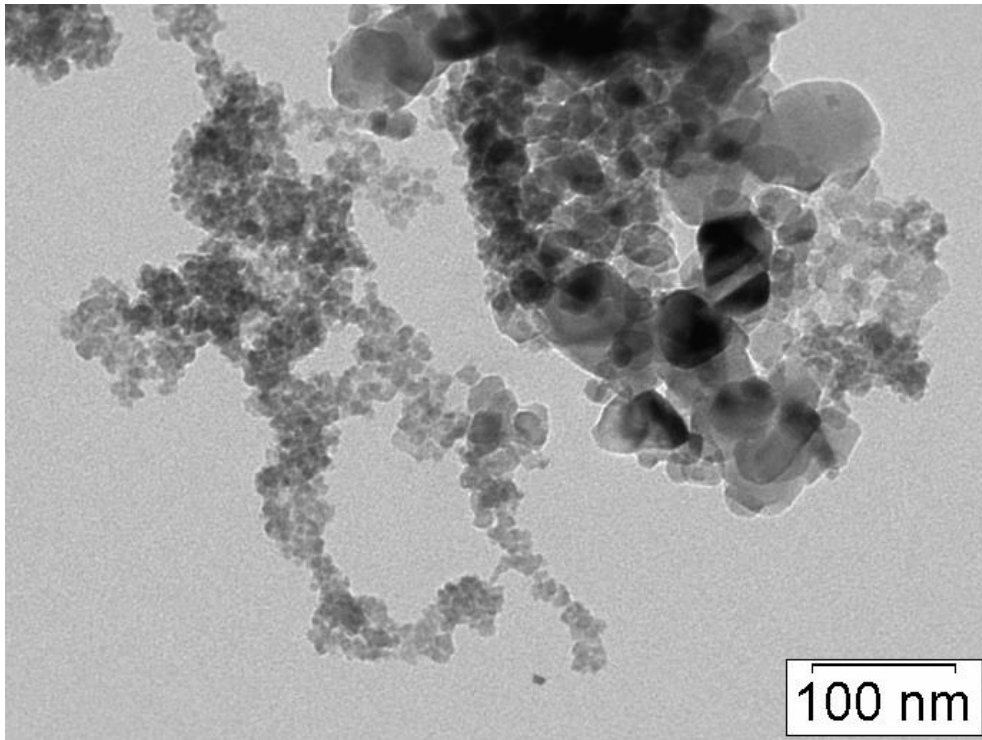


Figura 16 - Imagem de TEM das nanopartículas de CdS sintetizadas biologicamente.

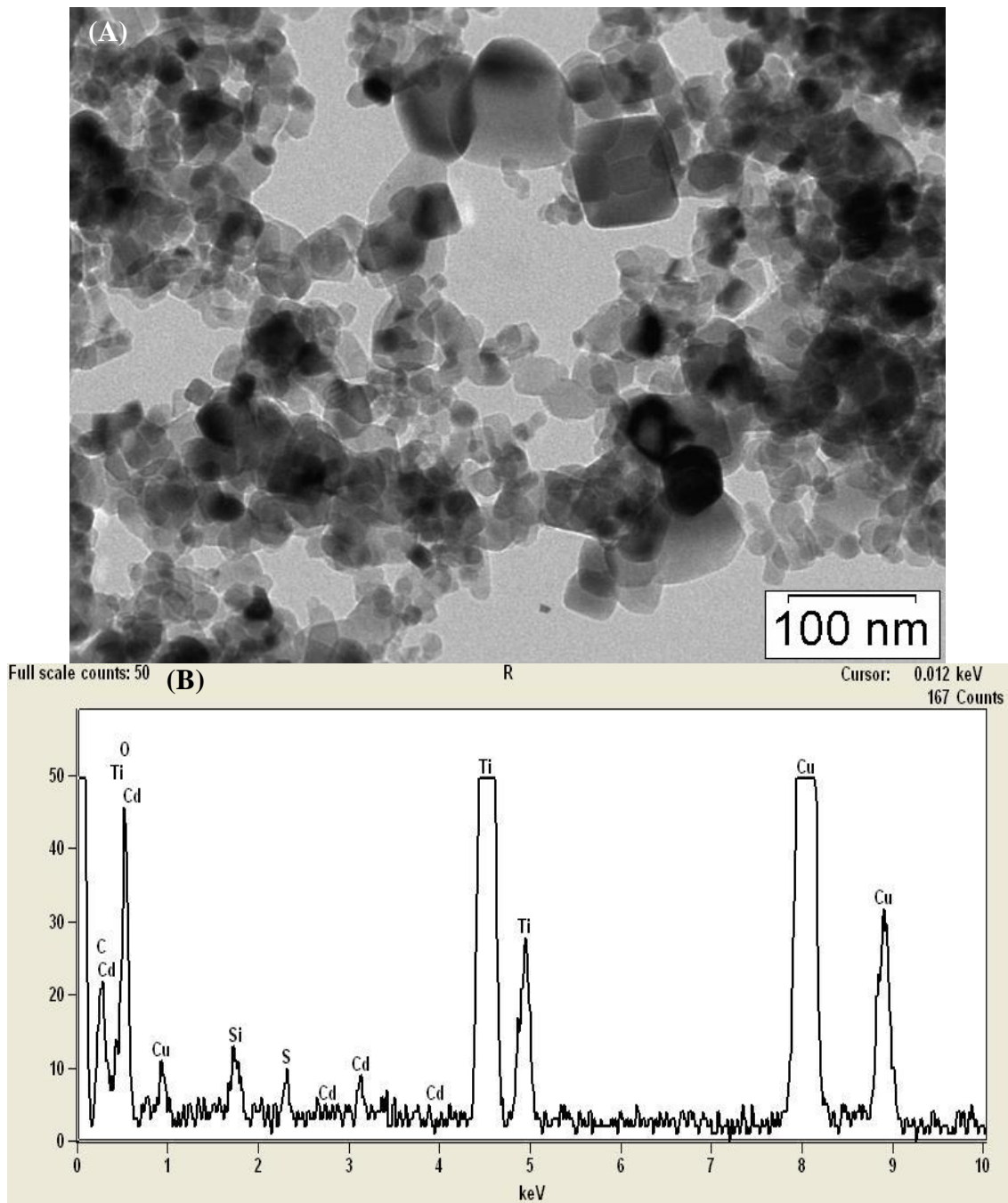


Figura 17 - Imagem de TEM (A) e correspondente espectro de EDS (B), das nanopartículas de CdS sintetizadas biologicamente com TiO_2 (0,06g/50mL).

4.3.1.4. Espectroscopia de Refletância Difusa

Foi medida a refletância difusa das partículas de CdS obtidas pelas sínteses biológica e biológica com TiO_2 . Como meio de comparação mediu-se também a refletância difusa para o TiO_2 comercial (P-25 (Degussa)). Este método permite-nos

determinar se as diferentes nanopartículas de CdS sintetizadas apresentam propriedades semicondutoras e, em que zona do espectro absorvem radiação, o que pode ser importante para avaliar a sua capacidade como catalisadoras para a fotodegradação. Num espectro de refletância difusa, baixas percentagens de refletância difusa significam elevada absorção na zona do espectro correspondente. Contrariamente, elevadas percentagens de refletância difusa indicam uma menor absorção na zona do espectro correspondente.

Através da análise da figura 18, constata-se que as nanopartículas CdS sintetizadas biologicamente com TiO_2 (0,06g/50mL), apresentam um melhor comportamento de absorção de radiação na zona entre 200 – 370nm quando comparadas com as nanopartículas de CdS sintetizadas biologicamente, uma vez que apresentam percentagens de refletância difusa menores. Porém, quando comparadas com a amostra de TiO_2 comercial, é este que apresenta um melhor comportamento de absorção, uma vez que a sua percentagem de refletância difusa é ainda menor. No entanto há que referir que as partículas de CdS e de CdS com TiO_2 conseguem absorver um pouco de radiação numa gama de comprimentos de onda mais alargada, comparativamente ao TiO_2 , nomeadamente entre 390 e 450nm, ou seja, numa zona de maiores comprimentos de onda (já no visível), o que pode ser vantajoso, particularmente em ensaios de fotocatalise levados a cabo por exposição à luz solar.

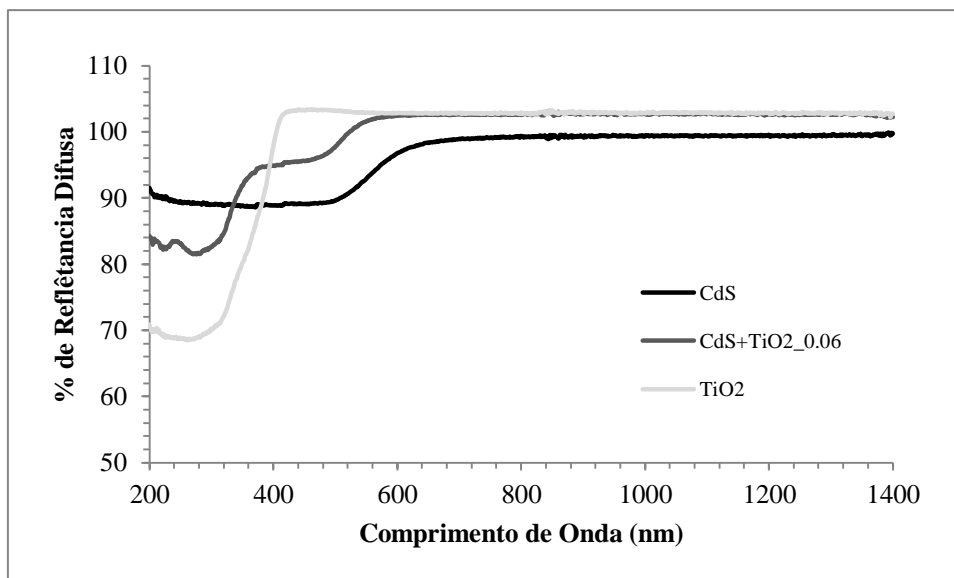


Figura 18 - Percentagem de refletância difusa em função do comprimento de onda para as amostras de CdS sintetizado biologicamente e de CdS sintetizado biologicamente com TiO₂ (0,06g/50mL). A refletância difusa do TiO₂ é também apresentada.

Pode analisar-se o espectro de refletância difusa usando a equação de *Kubelka-Monk* (KM), equação 4, que permite converter os valores de refletância difusa num coeficiente de absorção equivalente, onde R são os valores de refletância em percentagem divididos por 100% (Reyes-Coronado *et al*, 2008).

$$KM = \frac{(1-R)^2}{2 \times R} \quad (4)$$

Analizando a figura 19, vemos que o TiO₂ comercial apresenta uma forte absorção a baixos comprimentos de onda entre 200 a 400nm, zona UV (zona *Blue Shift* do espectro), como já era esperado, visto já ter sido reportado anteriormente por Gupta *et al*, 2007; Hashimoto *et al*, 2005; He & Chen, 2012 e por Kernazhitsky *et al*, 2013. Já as nanopartículas de CdS sintetizadas biologicamente apresentam uma melhor gama de absorção no espectro, compreendida entre os 200 a 600nm, sendo que englobam para além da zona UV também uma parte zona do visível. Contudo a sua capacidade de absorção é baixa e decresce à medida que o comprimento de onda aumenta. As nanopartículas de CdS com TiO₂ sintetizadas biologicamente apresentam uma maior capacidade de absorção entre 200 e aproximadamente 350nm na zona UV,

comparativamente à apresentada pelo TiO₂ comercial e à apresentada pelas nanopartículas de CdS sintetizadas biologicamente. Estas nanopartículas são ainda capazes de absorver numa pequena gama da zona do visível até cerca dos 500nm. Contudo, a sua capacidade de absorção de 350 a 500nm é muito mais reduzida.

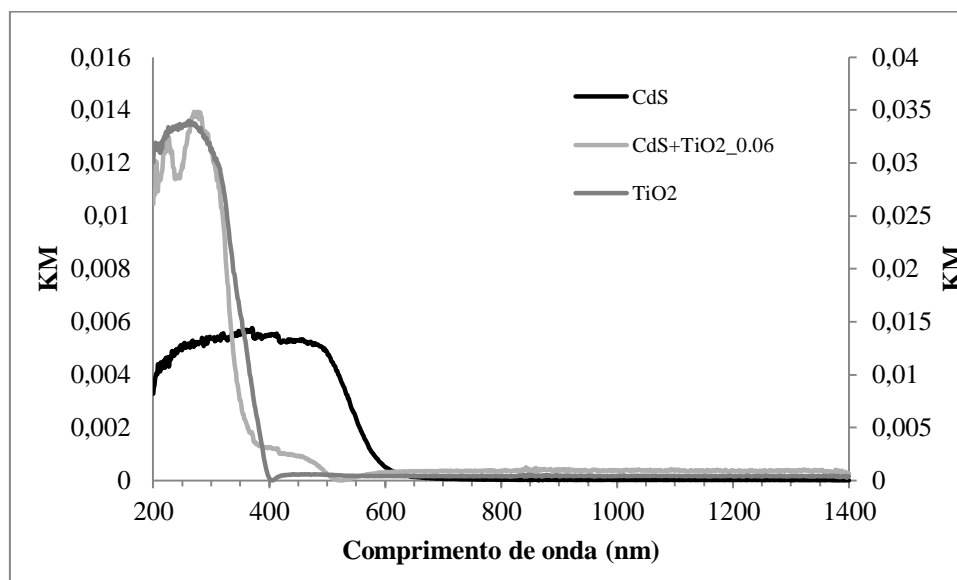


Figura 19 – Valores de KM (*Kubelka-Munk*) em função do comprimento de onda para as amostras de CdS sintetizado biologicamente e CdS sintetizado biologicamente com TiO₂ (0,06g/50mL). (TiO₂ – Eixo secundário / CdS e CdS+TiO₂ – Eixo principal)

Os valores de *band gap* (E_g) das nanopartículas foram determinados recorrendo à equação 5, onde h é a constante de *Planck* ($6,626 \times 10^{-34} J \cdot s$), c é a velocidade da luz no vácuo ($3,0 \times 10^8 m/s$) e λ é o valor do comprimento de onda, em metros, para o qual se dá um aumento do pico de absorção (Dharma & Pisal; Gupta & Ramrakhiani, 2009).

$$E_g = \frac{h \times c}{\lambda} \quad (5)$$

Por análise da figura 20 é possível observar que o valor de *band gap* das nanopartículas de CdS se encontra entre 2,0 a 2,5eV. Porém ao formar nanocompósitos com TiO₂, este valor altera-se, ficando compreendido entre 3,4 a 4,0eV. De acordo com *Kondarides, 2012*, as nanopartículas de CdS e o nanocompósitos com TiO₂ apresentam

propriedades semicondutoras. Já para as partículas de TiO_2 comercial o seu valor de *band gap* encontra-se compreendido entre 3,0 a 3,5eV. Este valor está de acordo com o valor retirado da literatura (Bhatkhande *et al*, 2001; Blake, 1994; Robert & Malato, 2002; Gupta *et al*, 2007; He & Chen, 2012).

Os nanocompósitos de CdS com TiO_2 não apresentam um valor de *band gap* inferior ao do próprio TiO_2 , o que poderia ser vantajoso para a fotocatalise. No entanto, o facto das nanopartículas de CdS apresentarem um valor de *band gap* inferior ao do próprio TiO_2 , mostra que são melhores semicondutores, o que poderá ser promissor a nível da sua utilização em fotocatalise (Hoffmann *et al*, 1995)

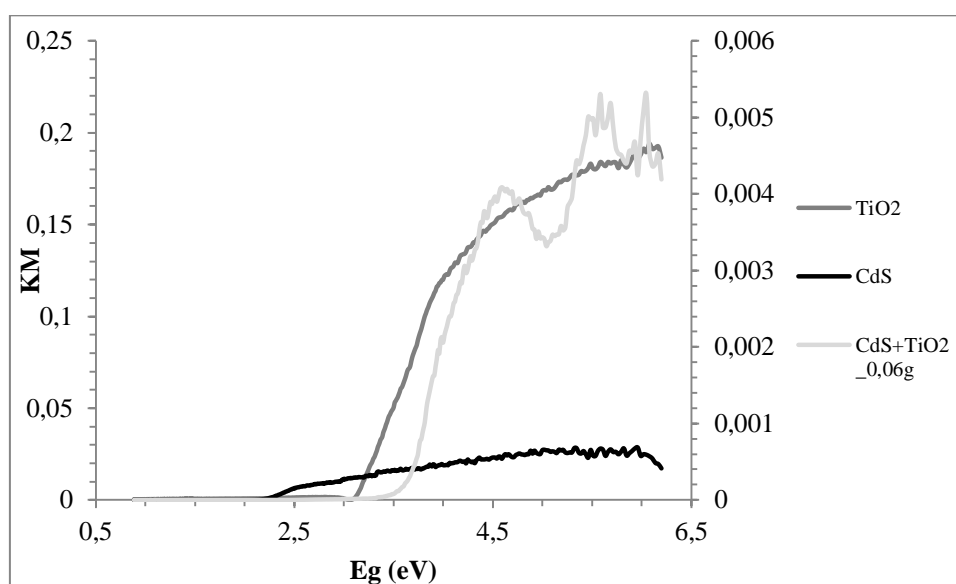


Figura 20 – Valores de KM em função do comprimento de onda para as amostras de CdS e de CdS com TiO_2 (0,06g/50mL), ambas sintetizadas biologicamente. (TiO_2 – eixo principal / CdS e CdS+ TiO_2 – Eixo secundário).

Na tabela 14, encontram-se os valores de *band gap* determinados a partir da equação 5, para as nanopartículas de CdS e de CdS com TiO_2 (0,06g/50mL), ambas sintetizadas biologicamente, e também o valor de *band gap* de TiO_2 comercial. Este último foi determinado com o fim de comparar o efeito que as nanopartículas de CdS conferem ao TiO_2 , quando acoplados. Comprova-se que todas as amostras têm propriedades semicondutoras de acordo com Kondarides 2012. Ao formar nanocompósitos de CdS com TiO_2 , o valor de *band gap* aumenta, estendendo assim a zona do espectro para a qual o nanocompósito absorve.

Tabela 14 - Valores de *band gap* das nanopartículas de CdS, de CdS com TiO₂ (0,06g/50mL), ambas sintetizadas biologicamente, e de TiO₂ comercial.

	<i>E_g</i> (eV)
TiO ₂	3.11
CdS	2.25
CdS+TiO ₂ (0,06g/50mL)	3.73

4.3.1.5. *Potencial Zeta*

Foram determinados os valores de potencial zeta para valores de pH compreendidos entre 2 e 8, para as nanopartículas de CdS e de CdS com TiO₂, ambas sintetizadas biologicamente, e para TiO₂ comercial. Ao analisar a figura 21 e de acordo com *NanoComposix, 2012* constata-se que as nanopartículas de CdS e de CdS com TiO₂ (0,06g/50mL) serão susceptíveis de sofrerem agregação devido a atrações interpartículas de Van der Waals, uma vez que os seus valores de potencial zeta se encontram dentro do intervalo +20 a -25mV. O TiO₂ comercial apresenta estabilidade uma vez que o seu valor de potencial zeta se encontra entre valores de cerca de +30 à -30mV, na gama de pH estudada (*NanoComposix, 2012*).

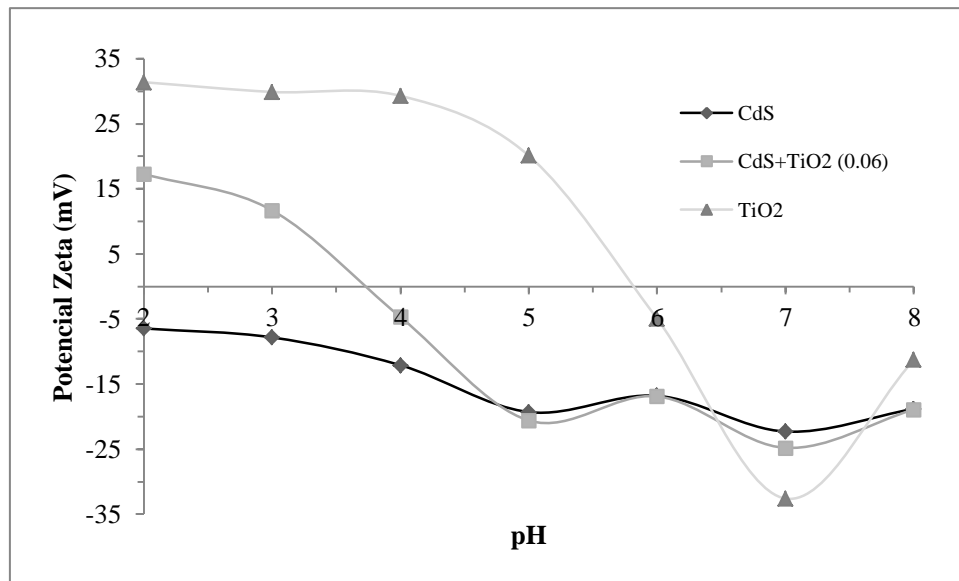


Figura 21 - Valores de potencial zeta das nanopartículas de CdS, de CdS com TiO₂ (0,06g/50mL), ambas sintetizadas biologicamente, e de TiO₂ comercial.

As nanopartículas de CdS não apresentam ponto isoelétrico. Sendo assim, pode dizer-se que a sua superfície se encontra sempre carregada negativamente, uma vez que os seus valores de potencial zeta variam entre aproximadamente -5mV a -20mV, na gama de pH estudada. Porém, ao formar nanocompósitos de CdS com TiO₂ (0,06g/50mL), as nanopartículas apresentam um ponto isoelétrico próximo de pH 3,70, ou seja, a valores de pH inferiores a 3,70 a superfície das partículas encontra-se carregada positivamente, já para valores superiores a 3,70 a superfície encontra-se carregada negativamente, o que sugere que a este valor de pH, 3,70, a carga elétrica das nanopartículas seja igual a zero, havendo equilíbrio de cargas à superfície das nanopartículas. As nanopartículas de TiO₂ comercial apresentam ponto isoelétrico para um valor de pH de aproximadamente 5,8, o que está de acordo com a literatura, segundo a qual o valor do ponto isoelétrico é próximo de valores de pH de 6 (Kosmulski, 2002).

O ponto isoelétrico do cloranfenicol é de 2,43, ou seja, a valores de pH abaixo de 2,43, a sua superfície encontra-se carregada positivamente e a valores de pH superiores a 2,43 a sua superfície encontra-se carregada negativamente (ChemAxon). A solução aquosa de cloranfenicol usada nas fotodegradações, apresenta pH de aproximadamente 7,20. Ou seja, a este valor de pH e tendo em conta o ponto isoelétrico do cloranfenicol, a carga superficial das partículas de cloranfenicol, encontram-se carregadas negativamente. Assim, uma vez que as nanopartículas de CdS

se encontram carregadas negativamente em toda a gama de pH estudada, estas não serão as nanopartículas ideais para serem usadas como catalisadoras da fotodegradação do cloranfenicol, uma vez que o cloranfenicol se encontra carregado negativamente. Os nanocompósitos de CdS com TiO_2 , ao contrário das nanopartículas de CdS, apresentam uma zona entre 2,00 e 3,70, na qual a superfície das partículas se encontra carregada positivamente, sugerindo assim, que apenas nesta gama de valores de pH não haverá repulsão de cargas entre a superfície do nanocompósitos e a superfície do cloranfenicol. Para valores de pH acima de 3,70 já irá ocorrer repulsão, uma vez que ambas as superfícies se encontram carregadas negativamente. Uma vez que o pH da solução aquosa de cloranfenicol é de aproximadamente 7,20, irá ocorrer repulsão de cargas entre a superfície dos nanocompósitos e a superfície do cloranfenicol.

4.3.2. Caracterização das nanopartículas de sulfureto de cobre, em *batch*

Por análise de XRD, todas as amostras demonstraram ter cristalites de *covellite* (*Reference Code*: 01-078-0876) (da Costa P. *et al*, 2013).

Por SEM confirmou-se que as partículas eram esféricas e de pequenas dimensões e a análise de EDS acoplada, comprovou a presença de cobre e enxofre nas nanopartículas provenientes das sínteses química, biológica e biológica com TiO₂, sendo que nesta última foi também detetado titânio e oxigênio (da Costa P. *et al*, 2013).

Por TEM foi determinado o tamanho das partículas, sendo que as nanopartículas de CuS provenientes da síntese biológica apresentavam aproximadamente 3,3nm±0,6nm. Já as nanopartículas de CuS com TiO₂ sintetizadas biologicamente, apresentavam tamanhos compreendidos entre os 20-30nm, com uma distribuição de CuS homogênea sobre o TiO₂ (da Costa P. *et al*, 2013).

4.3.2.1. Espectroscopia de Refletância Difusa

Na tabela 15, encontram-se os valores de *band gap* determinados para as nanopartículas de CuS e de CuS com TiO₂ (0,06g/50mL), ambas sintetizadas biologicamente, e também o valor de *band gap* de TiO₂ comercial. Este último foi determinado com o objetivo de comparar o efeito que as nanopartículas de CuS conferem ao TiO₂, quando acoplados. Comprova-se que todas as amostras têm propriedades semicondutoras de acordo com *Kondarides, 2012*. Ao formar nanocompósitos de CuS com TiO₂, o valor de *band gap* aumenta, relativamente às partículas de CuS sem TiO₂. Mais importante é referir que o valor do *band gap* do dos nanocompósitos do TiO₂ com CuS é inferior ao valor de *band gap* do TiO₂ sozinho, sugerindo que estes nanocompósitos sejam melhores semicondutores que o TiO₂, uma vez que necessitam de uma menor energia para os elétrons passarem da banda de valência para a banda de condução, pois ao formar nanocompósitos de materiais semicondutores, formam-se estados intermédios de transição, que permitem diminuir a energia necessária (Linsebigler *et al*, 1995; Li, 2013, Kernazhitsky *et al*, 2013).

Tabela 15 - Valores de *band gap* das nanopartículas de CuS, de CuS com TiO₂ (0,06g/50mL), ambas sintetizadas biologicamente, e de TiO₂ comercial (João Pinto, comunicação pessoal, 9 de Março de 2014).

	<i>E_g</i> (Ev)
TiO ₂	3,29
CuS	2,21
CuS-0.06g TiO ₂	3,09

4.3.2.2. Potencial Zeta

Ao analisar a figura 22, constata-se que as nanopartículas de CuS e de CuS com TiO₂ (0,06g/50mL) serão susceptíveis de sofrerem agregação devido a atrações interpartículas de Van der Waals, uma vez que os seus valores de potencial zeta se encontram dentro do intervalo +20 a -25mV. (NanoComposix, 2012). O TiO₂ comercial apresenta o mesmo comportamento já referido na análise à figura 21.

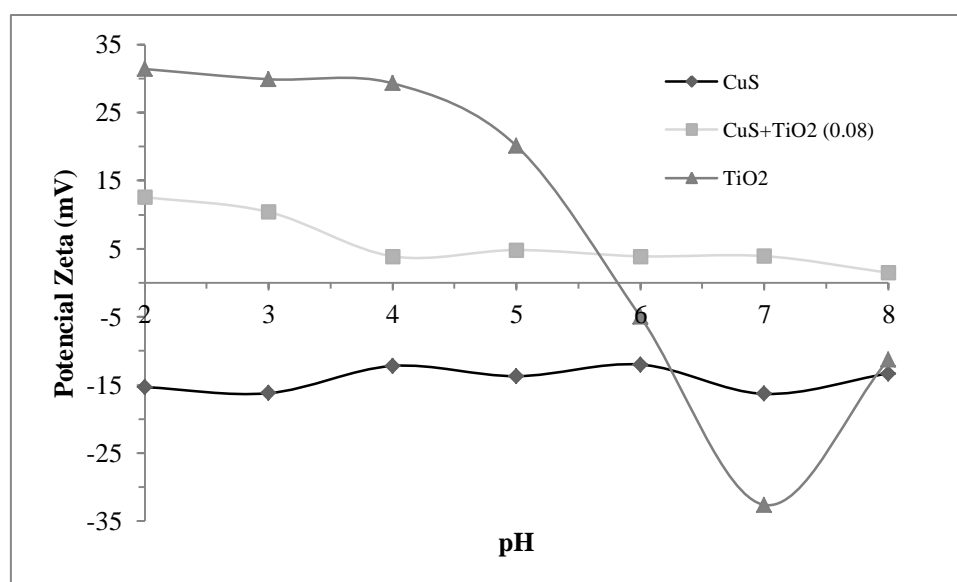


Figura 22 - Valores de potencial zeta das nanopartículas de CuS, de CuS com TiO₂ (0,06g/50mL), ambas sintetizadas biologicamente, e de TiO₂ comercial.

As nanopartículas de CuS e de CuS com TiO₂ não apresentam ponto isoelétrico., Sendo assim, pode dizer-se que a sua superfície se encontra sempre carregada, não

havendo equilíbrio entre as cargas negativa e positiva. As nanopartículas de CuS encontram-se carregadas negativamente em toda a gama de pH. Ao formarem-se os nanocompósitos de CuS com TiO₂, estes mantêm carga superficial positiva em toda a gama de pH.

A solução aquosa de cloranfenicol usada nas fotodegradações, apresenta pH de aproximadamente 7,20. Ou seja, a este valor de pH e tendo em conta o ponto isoelétrico do cloranfenicol (2,43), a carga superficial das partículas de cloranfenicol é negativa. Assim sendo, os nanocompósitos de CuS com TiO₂ talvez possam ser adequados para serem usados como catalisadores da fotodegradação do cloranfenicol, pois apresentam cargas superficiais diferentes ao pH da solução aquosa de cloranfenicol, evitando assim a repulsão de cargas. O mesmo não acontece com as nanopartículas de CuS, uma vez que a sua carga superficial é negativa e, em contacto com a solução aquosa de cloranfenicol proporcionará uma repulsão de cargas, pois ambas encontram-se carregadas negativamente.

4.3.3. Caracterização das nanopartículas de sulfureto de prata, em *batch*

4.3.3.1. Difraccção de Raios X

Nas figuras 23 e 24, encontram-se os difratogramas obtidos dos precipitados resultantes das sínteses biológica e biológica com TiO_2 (0,06g/50mL) de Ag_2S . Na figura 22, os resultados demonstram que o composto obtido é *Acanthite*, tendo como fórmula química Ag_2S . É formado predominantemente pela forma cristalina monoclinica, mas também em menor escala pela forma cristalina ortorrômbica. Na figura 23, foi identificado *Acanthite* na forma cristalina monoclinica, mas também se identificam picos correspondentes à difracção de anatase e de rutilo correspondentes ao TiO_2 .

Recorrendo à equação de *Scherrer* (equação 3), a média do tamanho dos cristalites de Ag_2S estimada foi de 201nm usando para o cálculo o pico de maior intensidade. Assim, não é possível considerar as partículas de Ag_2S obtidas nanopartículas, uma vez que apenas se consideram nanopartículas, partículas com tamanho inferior a 100nm (Thakkar *et al*, 2010).

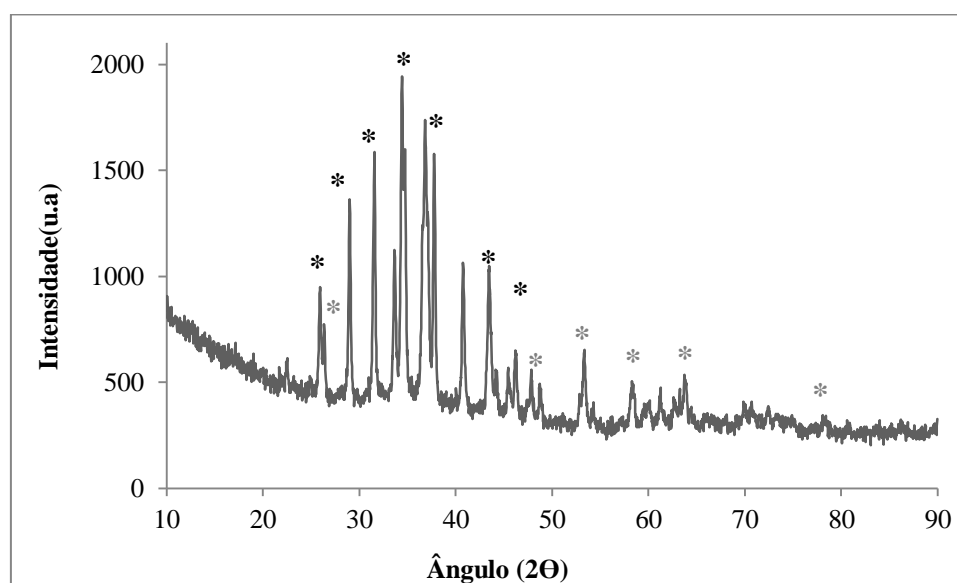


Figura 23 - Difrátograma dos precipitados obtidos através de síntese biológica de Ag_2S , correspondente às fases monoclinica e ortorrômbica (*) (*Reference Code*: 00-014-0072 (*) e 00-003-0844 (*), respectivamente).

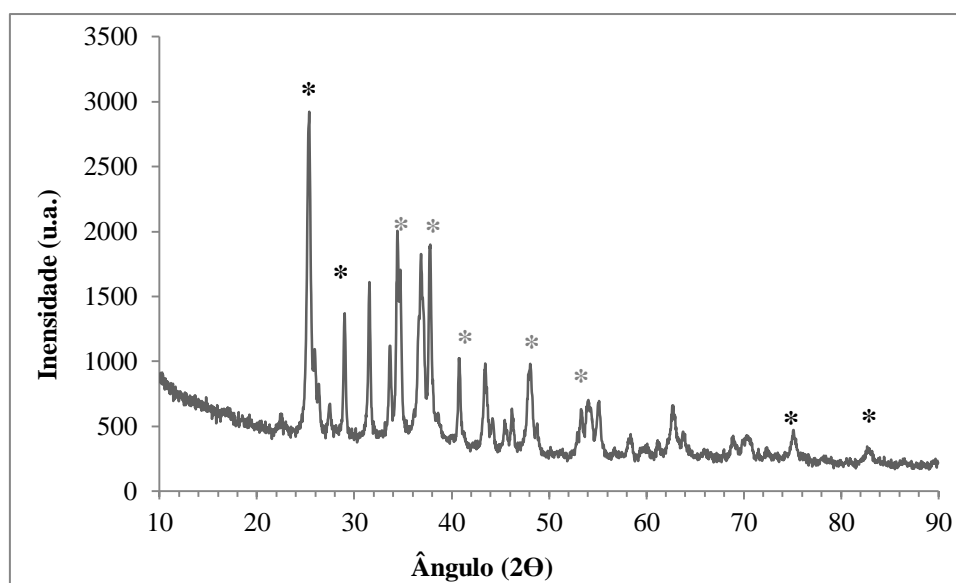


Figura 24 - Difratoograma dos precipitados obtidos através de síntese biológica de Ag_2S com TiO_2 (0,06g/50mL), correspondente à fase monoclinica (*) (Reference Code: 00-014-0072), ao TiO_2 (*) (Reference Code: 00-002-0387 e Reference Code: 01-073-1782).

4.3.3.2. SEM/EDS

As figuras 25, 26 e 27 mostram, respetivamente, as imagens de SEM e o correspondente EDS para as nanopartículas de Ag_2S sintetizadas quimicamente, biologicamente e biologicamente com TiO_2 (0,06g/50mL).

Por análise das figuras, pode constatar-se que a morfologia das nanopartículas é esférica. Como esperado a análise de EDS confirma a presença de prata e de enxofre nas três amostras analisadas. Na figura 27 confirma-se também a presença de titânio e de oxigénio, relativos ao TiO_2 .

Na análise de EDS da amostra relativa às nanopartículas de Ag_2S obtidas por síntese química (figura 25) é possível encontrar para além de prata e de sulfureto, vestígios de carbono, oxigénio e de sódio. A presença do sódio poderá dever-se à solução de Na_2S que foi usada para a precipitação de Ag_2S .

Nas figuras 26 e 27, relativas às nanopartículas de Ag_2S obtidas por síntese biológica e biológica com TiO_2 , respetivamente, é possível encontrar para além dos

compostos já referidos acima, vestígios de carbono, cálcio, magnésio e fósforo, uma vez que estes compostos fazem parte da composição do meio de crescimento das SRB que geram o sulfureto usado para a precipitação da prata em Ag_2S .

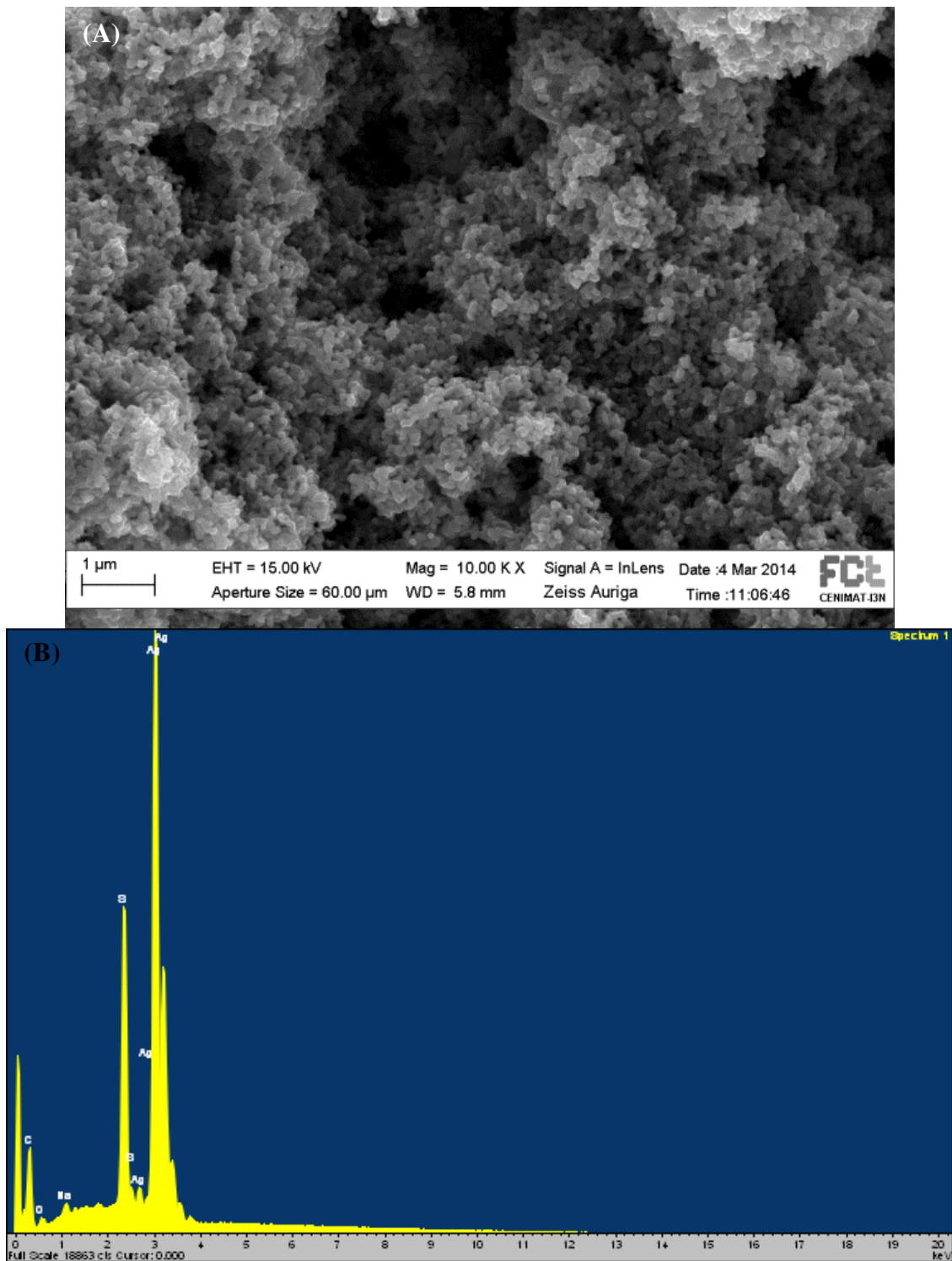


Figura 25 – Imagem de SEM (A) e correspondente espectro de EDS (B), das partículas de Ag_2S sintetizadas quimicamente.

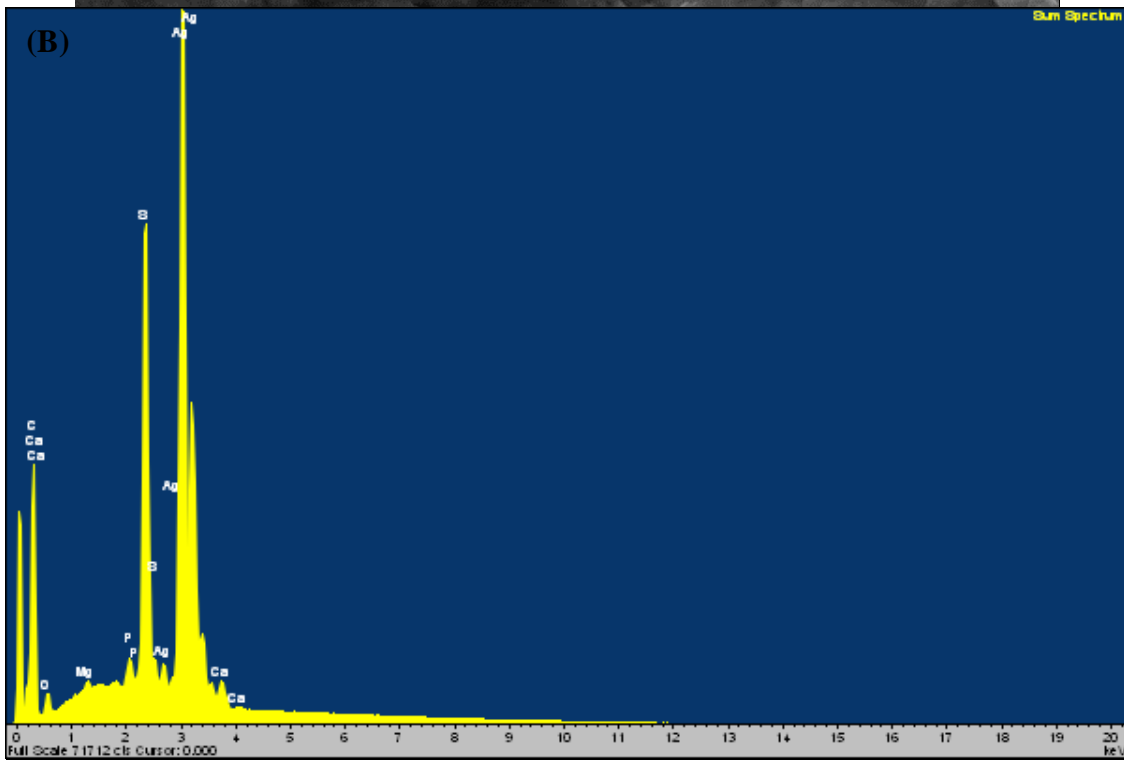
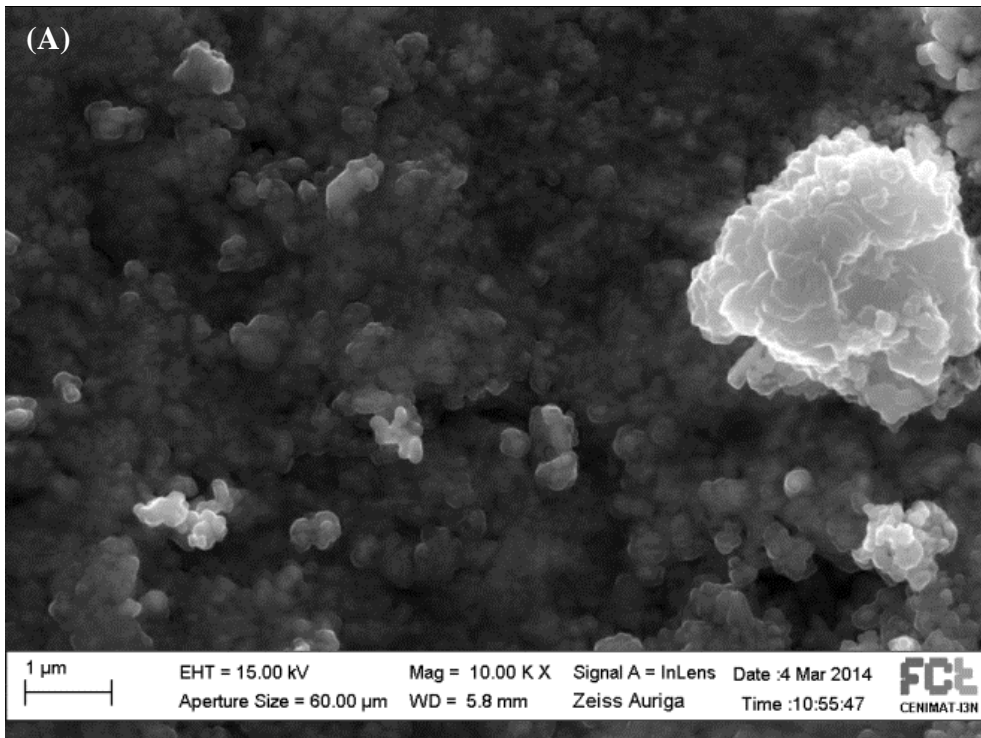


Figura 26 – Imagem de SEM (A) e correspondente espectro de EDS (B), das partículas de Ag_2S sintetizadas biologicamente.

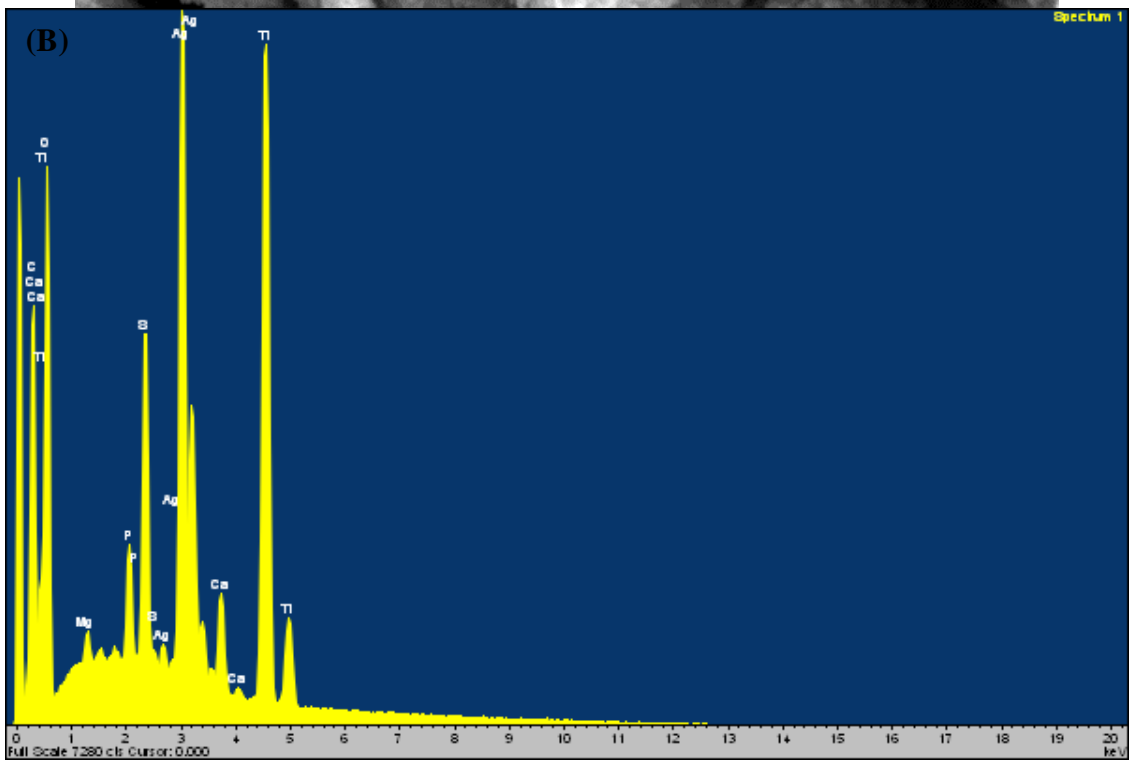
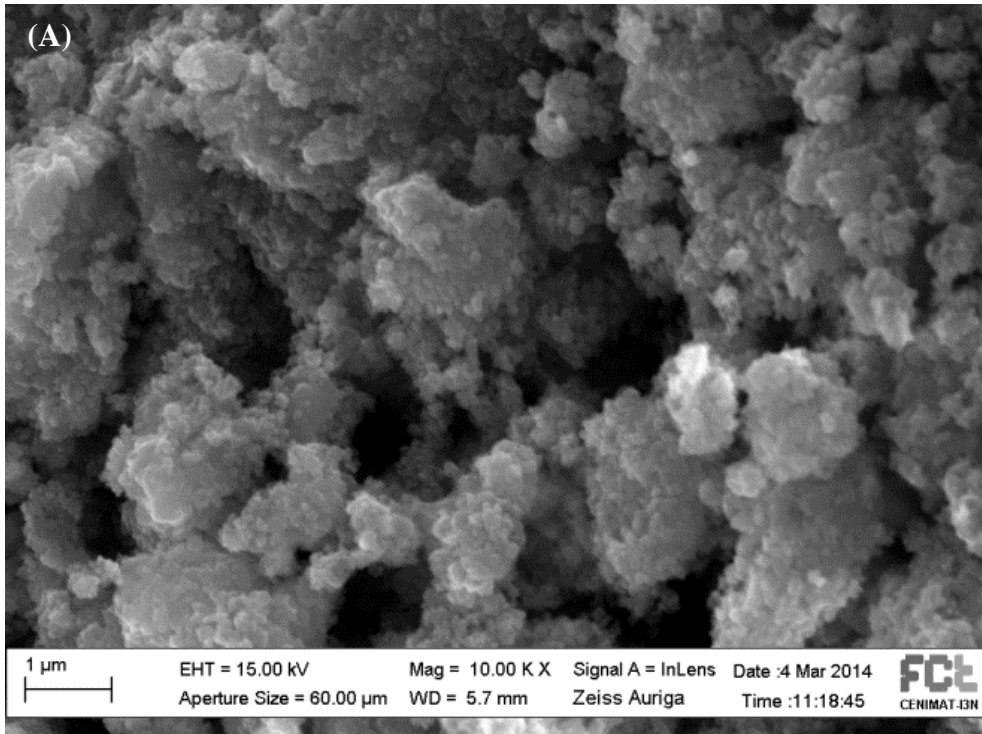


Figura 27 - Imagem de SEM (A) e correspondente EDS (B), das nanopartículas de Ag_2S sintetizadas biologicamente com TiO_2 (0,06g/50mL).

4.3.3.3. TEM/EDS

As figuras 28, 29 e 30 correspondem, respetivamente, às partículas de Ag_2S sintetizadas química e biologicamente e de Ag_2S sintetizadas com TiO_2 sintetizadas biologicamente.

Por análise à figura 28 (A) não é possível definir a morfologia das partículas, pois apresentam formas muito irregulares. Através da figura 29 (A), constata-se que as partículas apresentam uma morfologia heterogénea, uma vez que se observam partículas esferoidais mas também partículas com morfologia não definida. Já as partículas de Ag_2S sintetizadas com TiO_2 (figura 30 (A)) apresentam uma morfologia esférica irregular.

Não foi possível determinar o tamanho das partículas de Ag_2S sintetizadas quimicamente, uma vez que elas não apresentam uma forma definida. As partículas de Ag_2S sintetizadas biologicamente apresentam tamanhos compreendidos entre 63 – 173nm, presumindo assim, que o precipitado obtido é formado por nanopartículas mas também por partículas de maiores dimensões. Este resultado está de acordo com a estimativa prevista anteriormente por XRD. Para as partículas de Ag_2S sintetizadas com TiO_2 , os tamanhos das partículas variam entre 13 – 44nm. Este resultado demonstra, mais uma vez, a consistência da estimativa obtida por XRD.

Por análise de EDS identificou-se prata, enxofre e cobre para as partículas provenientes de todas as sínteses feitas, sendo que mais uma vez o cobre é proveniente da matriz usada. A análise de EDS das partículas de Ag_2S sintetizadas com TiO_2 apresentaram para além dos compostos referidos anteriormente, titânio e oxigénio, como era de esperar.

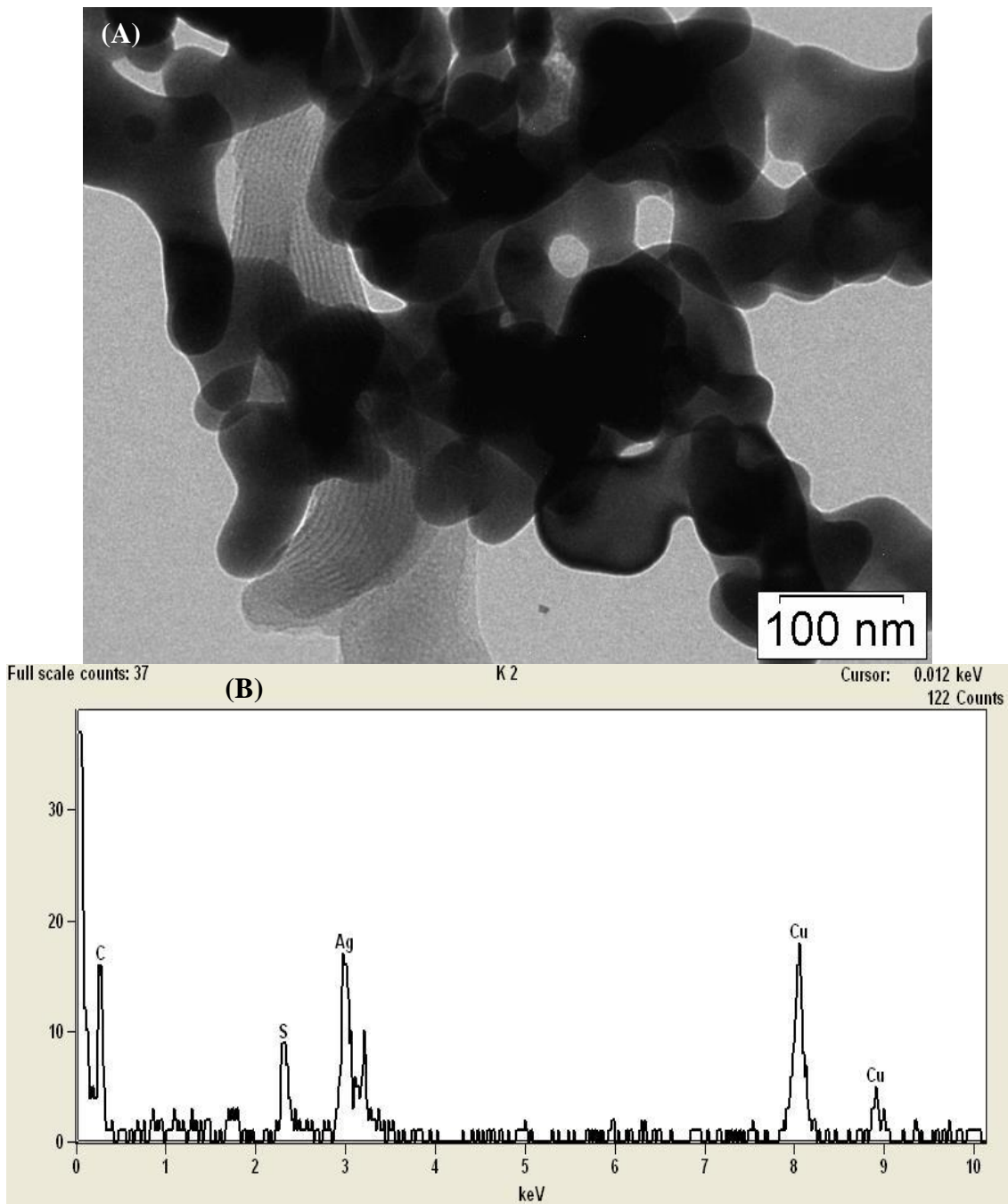


Figura 28 - Imagem de TEM (A) e correspondente espectro de EDS (B), das nanopartículas de Ag_2S sintetizadas quimicamente.

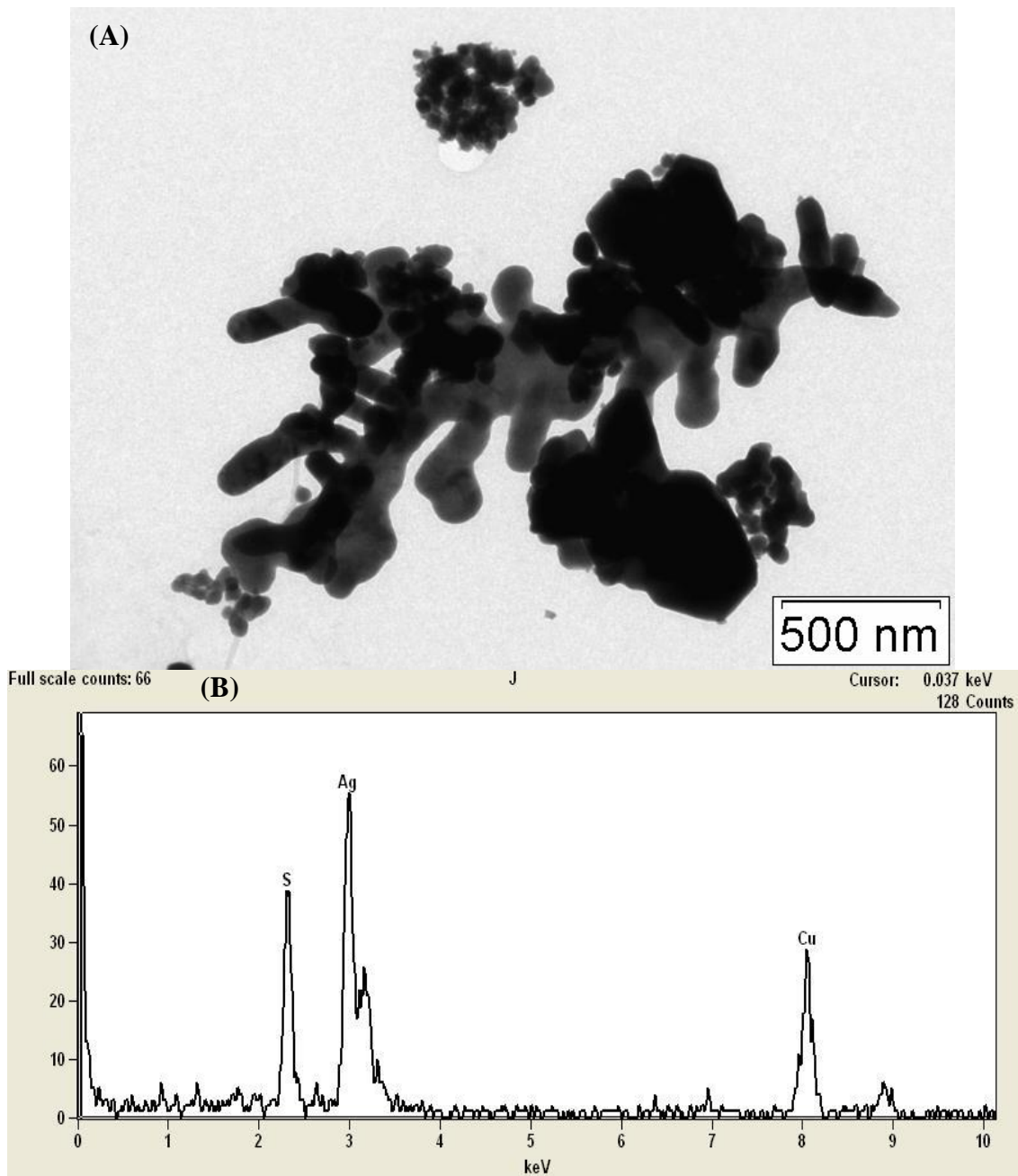


Figura 29 - Imagem de TEM (A) e correspondente espectro de EDS (B), das nanopartículas de Ag_2S sintetizadas biologicamente.

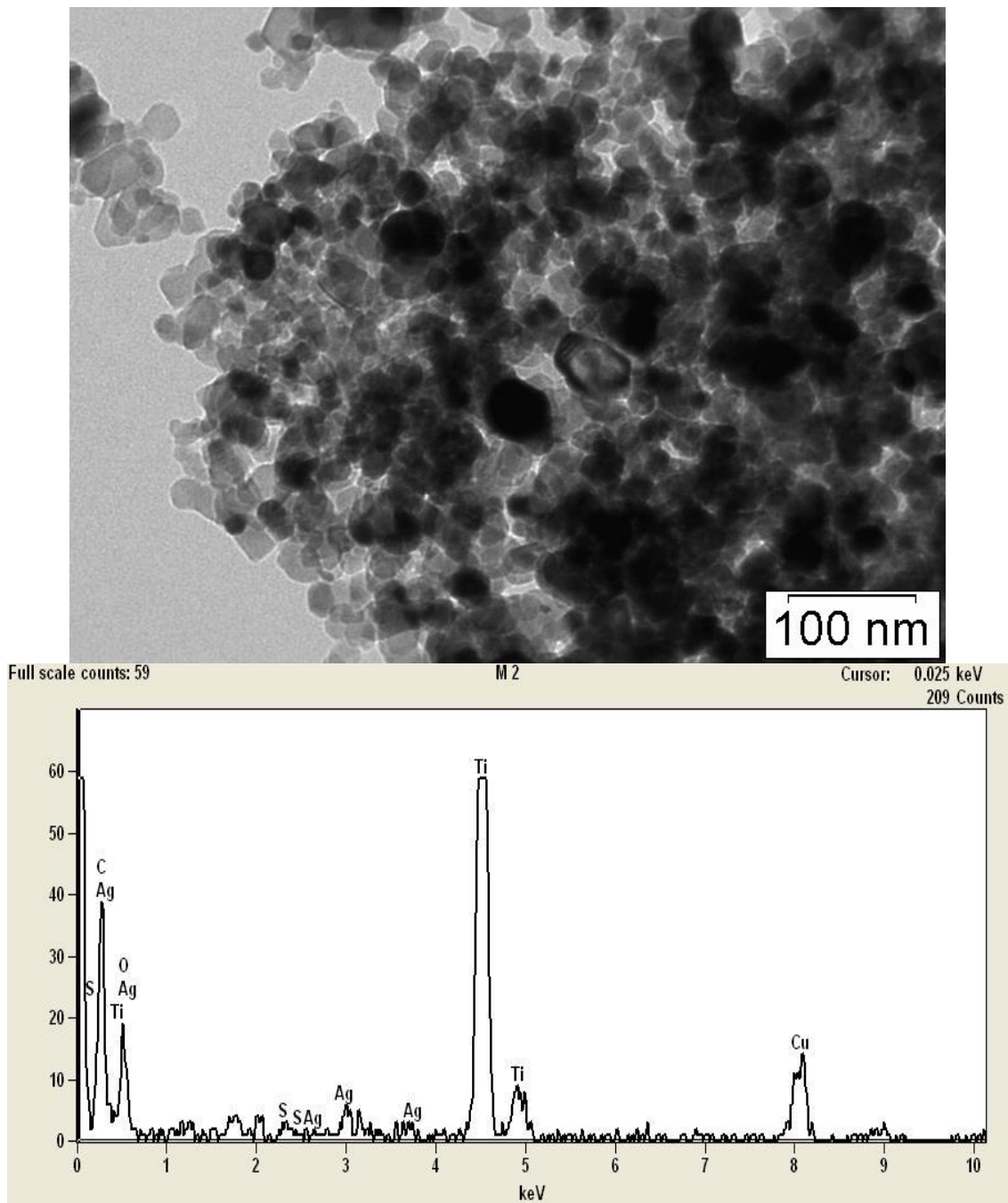


Figura 30 - Imagem de TEM das nanopartículas de Ag_2S sintetizadas biologicamente com TiO_2 (0,06g/50mL).

Futuramente poderá experimentar-se fazer uma síntese por pulsos numa tentativa de obter nanopartículas de Ag_2S , pois ao adicionar maiores volumes em curtos intervalos de tempo, aumenta-se a sobressaturação relativa da solução, proporcionando a formação de precipitados de Ag_2S de menores dimensões.

4.3.3.4. Espectroscopia de Refletância Difusa

Por análise dos dados representados na figura 31, constata-se que as partículas de Ag_2S e o nanocompósitos com TiO_2 apresentam uma maior percentagem de refletância difusa, quando comparados ao TiO_2 , o que sugere que as primeiras absorvem menos radiação que as partículas de TiO_2 . No entanto os resultados também sugerem que absorverão radiação numa gama mais alargada de comprimentos de onda (que abrange todo o espectro de visível e ainda o IV) do que o TiO_2 , o que poderá ser importante no sentido de poderem ser utilizadas em fotocatalise usando luz solar natural.

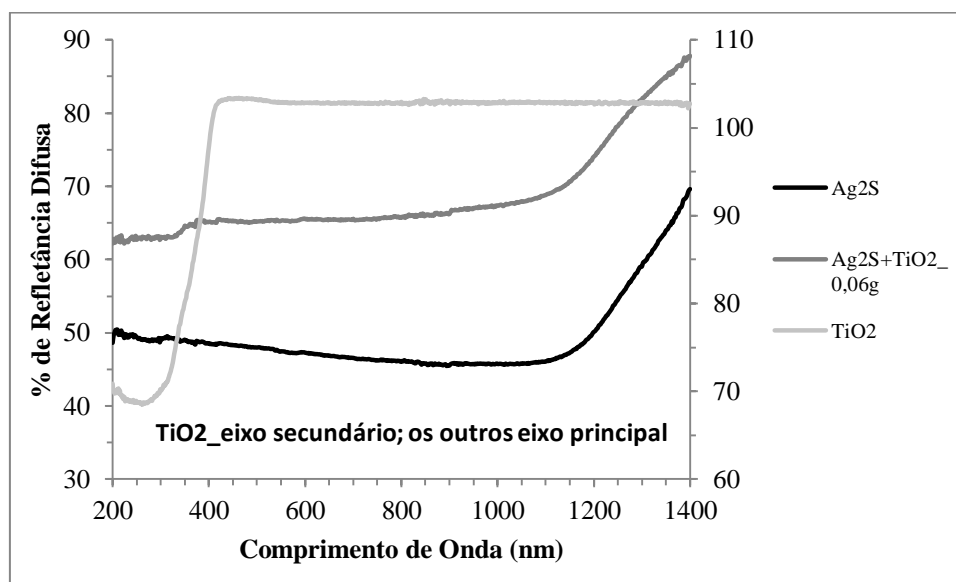


Figura 31 - Percentagem de refletância difusa em função do comprimento de onda para as amostras de Ag_2S sintetizado biologicamente e Ag_2S sintetizado biologicamente com TiO_2 (0,06g/50mL).

Na figura 32 encontram-se representados os coeficientes de KM em função do comprimento de onda. Por análise desta, observamos que as nanopartículas de Ag_2S e os nanocompósitos com TiO_2 , apresentam uma elevada gama de absorção no espectro de 200 a aproximadamente 1350nm. Sugerindo que as nanopartículas e os nanocompósitos refletem menos radiação nas zonas UV e na zona do visível do que o TiO_2 usado sozinho. O facto de os nanocompósitos com TiO_2 refletirem menos do que o

TiO₂ sozinho, pode estar relacionado ao valor de *band gap* das nanopartículas de Ag₂S variar de 0,90 a 1,05eV, de acordo com Neves *et al.* (Neves *et al.*, 2009).

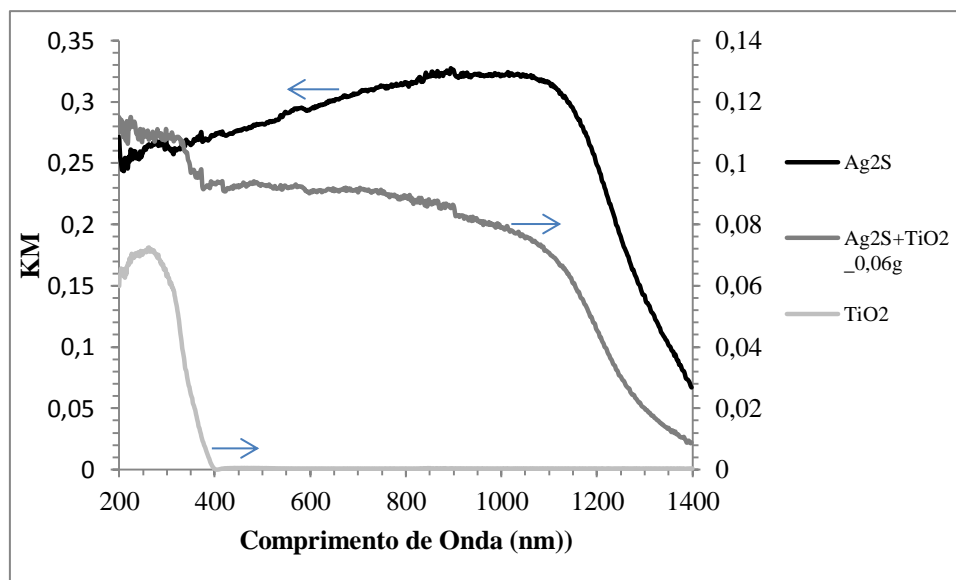


Figura 32 - Valores de KM em função do comprimento de onda para as amostras de Ag₂S sintetizado biologicamente e Ag₂S sintetizado biologicamente com TiO₂ (0,06g/50mL)

Como se pode ver por análise da figura 33, os valores de *band gap* das nanopartículas de Ag₂S e dos nanocompósitos com TiO₂ são muito próximos. Como previsto, os valores de *band gap* para as nanopartículas de Ag₂S e para os nanocompósitos com TiO₂ variam entre 0,5 a 1,0eV. Segundo Neves *et al.*, estes nanocompósitos poderão ser usados como fotocatalisadores em processos de degradação que requeiram baixos valores de energia quando comparados com o TiO₂, uma vez q o seu valor de *band gap* é mais baixo (Neves *et al.*, 2009).mais uma vez o valor de *band gap* do TiO₂ foi determinado encontrando-se entre 3,0 a 3,5eV, estando de acordo com o já anteriormente determinado e com a literatura (Bhatkhande *et al.*, 2001; Blake, 1994; Robert & Malato, 2002; Gupta *et al.*, 2007; He & Chen, 2012).

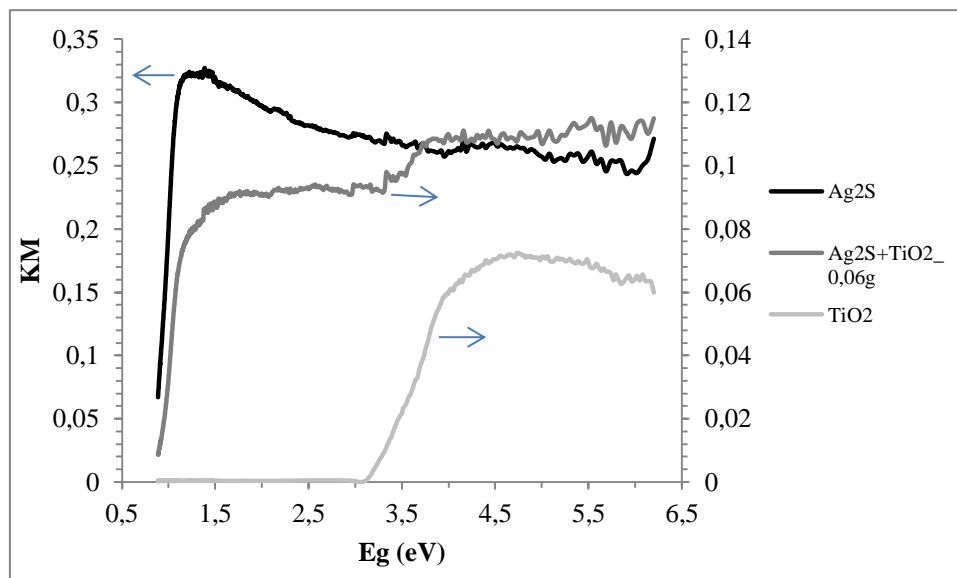


Figura 33 - Valores de KM em função do comprimento de onda para as amostras de Ag_2S e de Ag_2S com TiO_2 (0,06g/50mL), ambas sintetizadas biologicamente.

Na tabela 16, podem consultar-se os valores de *band gap* determinados pela equação 5, para as partículas de Ag_2S e nanocompósitos de Ag_2S com TiO_2 (0,06g/50mL), ambas sintetizadas biologicamente. O valor de *band gap* do TiO_2 foi mais uma vez determinado com fim de comparar o efeito que as nanopartículas de Ag_2S conferem ao TiO_2 , quando acoplados. Todos os compostos apresentam propriedades semicondutoras de acordo com *Kondarides, 2012*, porém, ao formar nanocompósitos de Ag_2S com TiO_2 , o valor de *band gap* diminui, evidenciando mais uma vez que estes poderão ser usados como fotocatalisadores de processos de degradação que requerem baixos valores de energia.

Tabela 16 - Valores de *band gap* das nanopartículas de Ag_2S , de Ag_2S com TiO_2 (0,06g/50mL), ambas sintetizadas biologicamente, e de TiO_2 comercial.

	<i>Eg</i> (eV)
TiO_2	3,11
Ag_2S	0,92
$\text{Ag}_2\text{S}+\text{TiO}_2$ (0,06g/50mL)	0,92

4.3.3.5. Potencial Zeta

Por análise da figura 34, pode constatar-se que as partículas de Ag_2S serão estáveis em solução a valores de pH superiores a 6, uma vez que o seu valor de potencial zeta é menor do que -25mV . Porém, a valores de pH inferiores (entre 2 a 4) elas serão susceptíveis de se agregarem devido a atrações de Van der Waals, uma vez que os seus valores de potencial zeta encontram-se compreendidos entre $+20\text{mV}$ a -20mV (NanoComposix, 2012). Os nanocompósitos de Ag_2S com TiO_2 ($0,06\text{g}/50\text{mL}$) serão susceptíveis de agregar em solução, devido a atrações de Van der Waals, uma vez que os seus valores de potencial zeta se encontram entre 0 e cerca de -20mV (NanoComposix, 2012). O TiO_2 comercial apresenta o mesmo comportamento referido na figura 21.

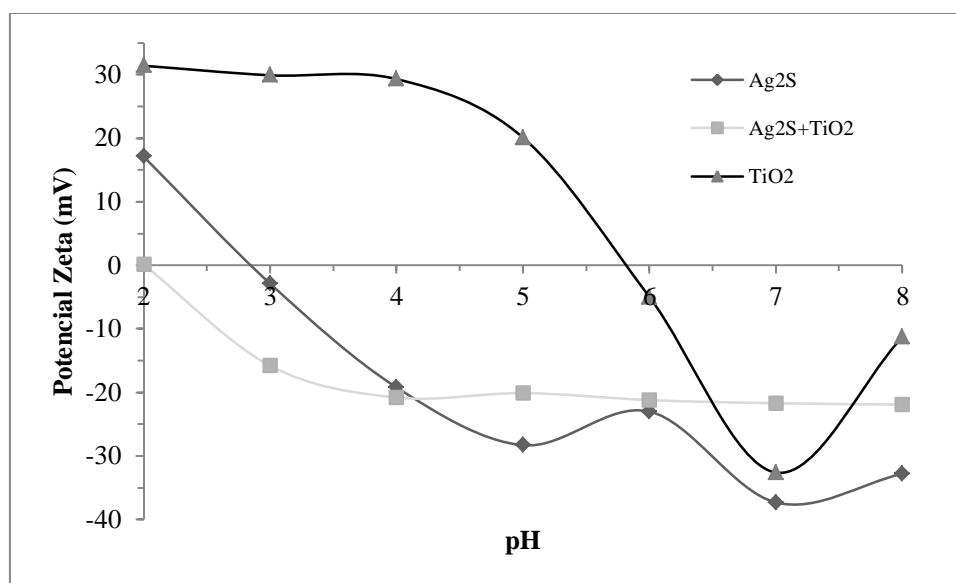


Figura 34 - Valores de potencial zeta das nanopartículas de Ag_2S , de Ag_2S com TiO_2 ($0,06\text{g}/50\text{mL}$), ambas sintetizadas biologicamente, e de TiO_2 comercial.

As partículas de Ag_2S apresentam ponto isoelétrico para pH próximo de 3, ou seja a este valor de pH a carga elétrica das partículas é igual a zero havendo um equilíbrio de cargas à superfície das partículas. Contudo, os nanocompósitos de Ag_2S com TiO_2 ($0,06\text{g}/50\text{mL}$) não apresentam ponto isoelétrico, apesar de a pH 2 o seu valor de potencial zeta ser muito próximo de zero ($0,117\text{mV}$), o que poderá sugerir um

equilíbrio parcial de cargas. As partículas de Ag_2S e de Ag_2S com TiO_2 encontram-se carregadas negativamente em praticamente toda a gama de pH estudada, à exceção das partículas de Ag_2S com TiO_2 que apresentam carga positiva para valores de pH inferiores a 3. Tendo em conta que o valor do ponto isoelétrico do cloranfenicol é de 2,43 e que o pH da solução aquosa de cloranfenicol é aproximadamente 7,20 as partículas de Ag_2S e de Ag_2S com TiO_2 não serão as ideais para serem usadas como catalisadoras na fotodegradação do cloranfenicol, uma vez que deverá dar-se repulsão de cargas à superfície das partículas de cloranfenicol e de Ag_2S ou de Ag_2S com TiO_2 .

4.3.4. Caracterização das partículas de níquel, em *batch*

4.3.4.1. Difração de Raios X

As figuras 35 e 36 correspondem, respectivamente, aos difratogramas dos precipitados obtidos por síntese química e biológica sem acerto de pH. A partir da análise dos difratogramas na base de dados, não foi possível identificar sulfureto de níquel na amostra, como era esperado. Porém foi identificado sulfato de níquel hexahidratado ($\text{NiSO}_4 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$), sendo a forma cristalina predominante a monoclinica.

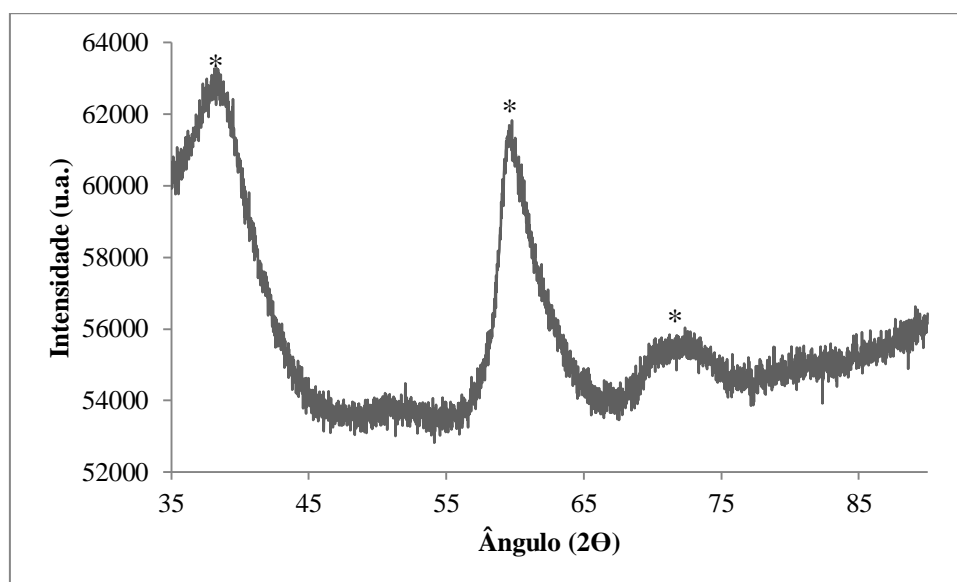


Figura 35 - Difratograma dos precipitados obtidos através de síntese química de $\text{NiSO}_4 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, correspondente à fase monoclinica (*) (*Reference Code: 00-033-0955*).

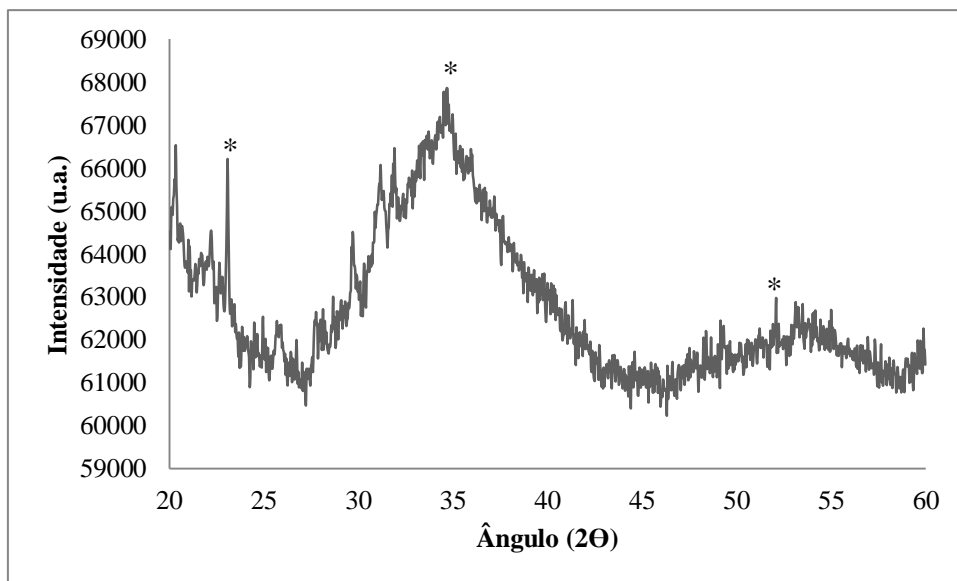


Figura 36 - Difratoograma dos precipitados obtidos através de síntese biológica sem controle de pH. Os picos identificados correspondem a $\text{NiSO}_4 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ de fase monoclinica (*) (*Reference Code: 00-033-0955*).

Também com acerto do pH da solução metálica, não foi possível obter NiS, obtendo-se igualmente $\text{NiSO}_4 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, de acordo com os difratogramas das figuras 37 e 38, que apresentam uma melhor resolução dos picos.

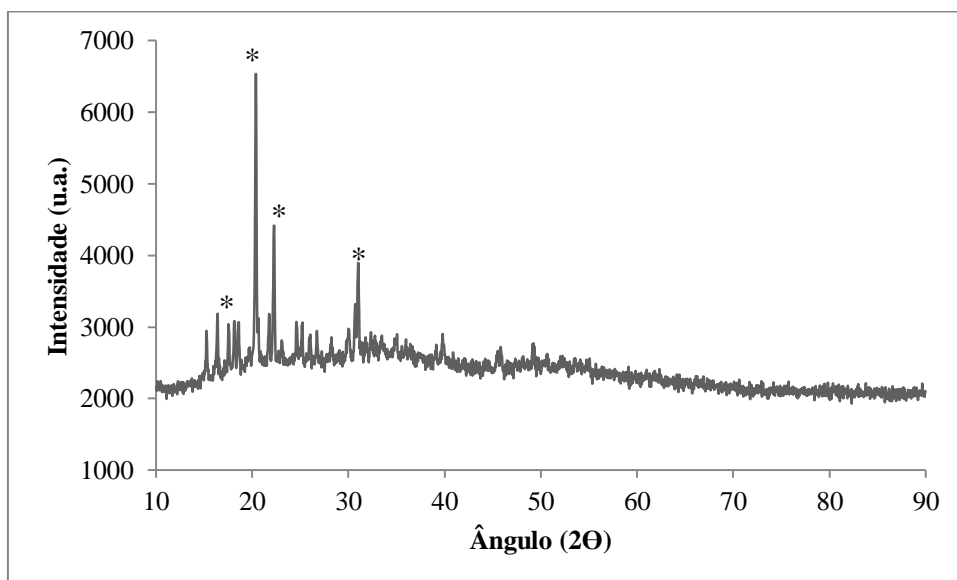


Figura 37 - Difratoograma dos precipitados obtidos através de síntese biológica a pH 3. Os picos identificados correspondem a $\text{NiSO}_4 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ de fase monoclinica (*) (*Reference Code: 01-079-0105*).

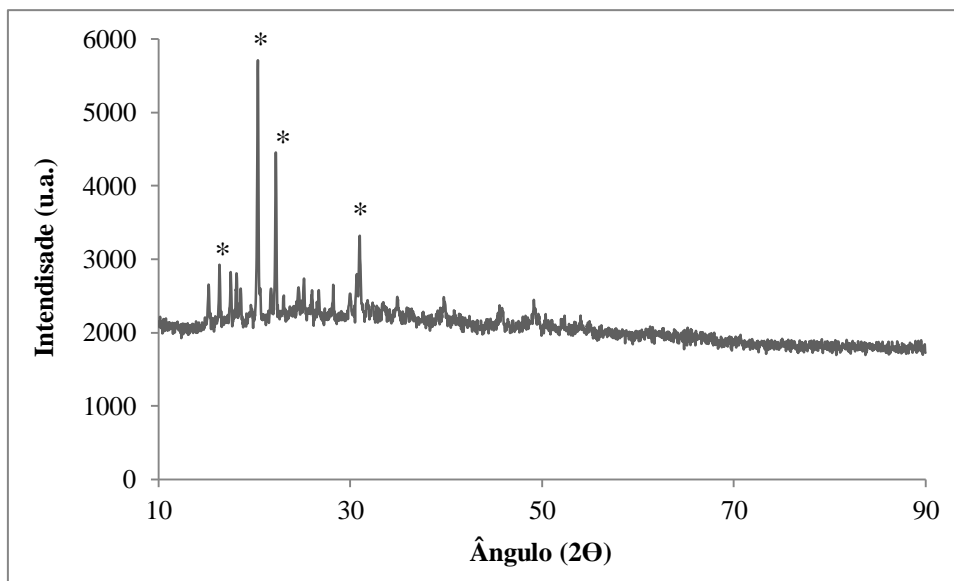


Figura 38 - Difratograma dos precipitados obtidos através de síntese biológica a pH 7. Os picos identificados correspondem a $\text{NiSO}_4 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ na fase monoclinica (*) (Reference Code: 01-079-0105).

Segundo Karbanee *et al.*, se houver um aumento da solubilidade do $\text{H}_2\text{S}(\text{g})$, através de um aumento de temperatura e/ou pressão usando um catalisador como por exemplo o níquel em pó, facilitar-se-á a precipitação de NiS (Karbanee *et al.*, 2008). Futuramente poder-se-á testar novas condições experimentais para a síntese de nanopartículas de NiS fazendo estes parâmetros variar.

4.3.4.2. SEM/EDS

Ambos os precipitados obtidos por síntese biológica com controlo de pH, foram analisados por SEM e EDS. As figuras 39 e 40 correspondem, respetivamente, aos acertos de pH da solução metálica para 3 e 7. Através da análise de EDS foi possível identificar níquel, enxofre e oxigénio em grandes quantidades. Tal como nas amostras analisadas anteriormente, também aqui é possível encontrar vestígios de cálcio, fósforo e carbono, possivelmente provenientes do meio de crescimento das SRB.

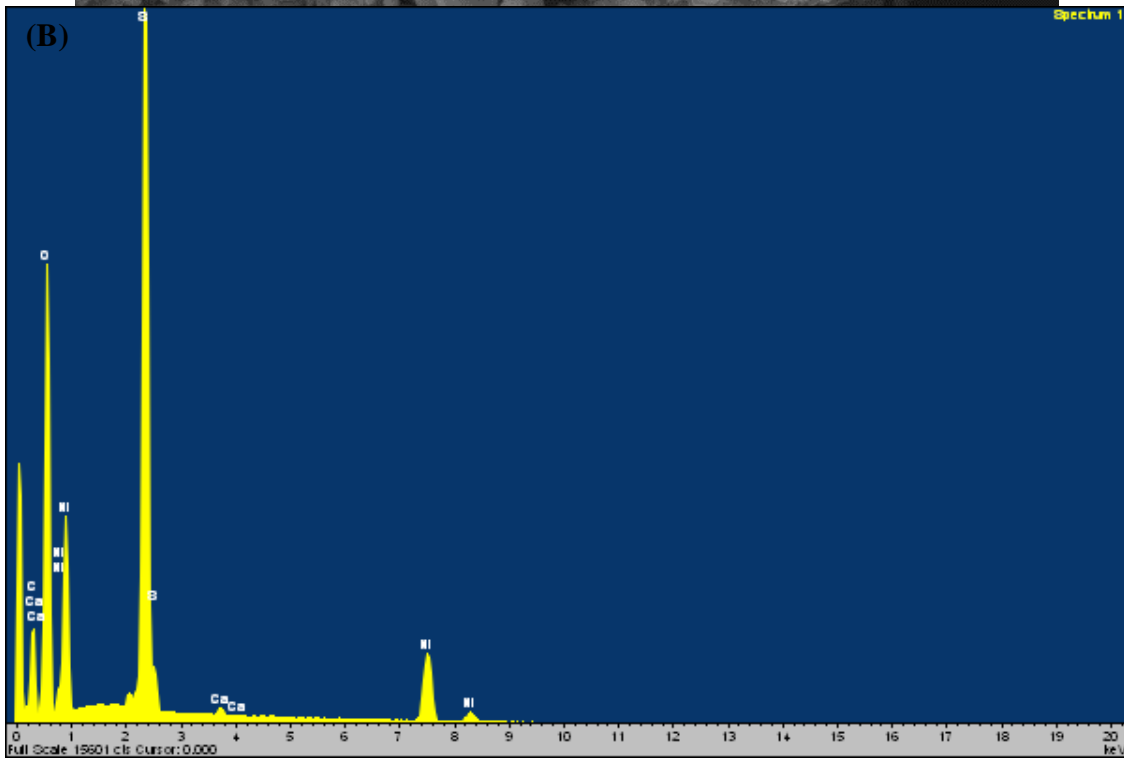
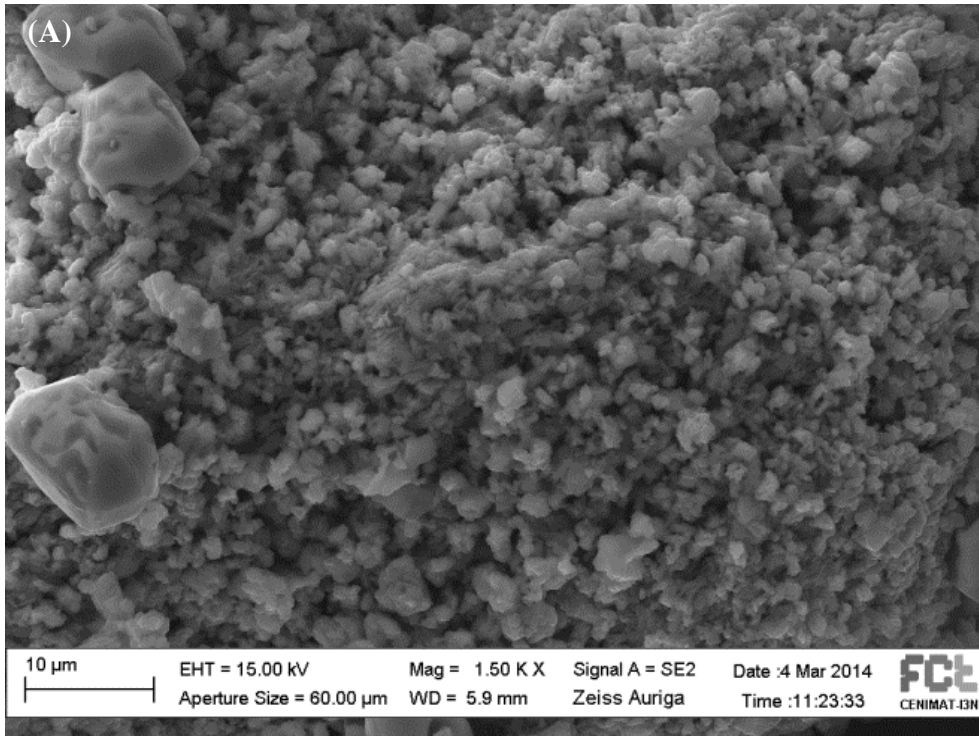


Figura 39 - Imagens de SEM (A) e espectro de EDS correspondente (B) das partículas resultantes da síntese biológica a pH 3.

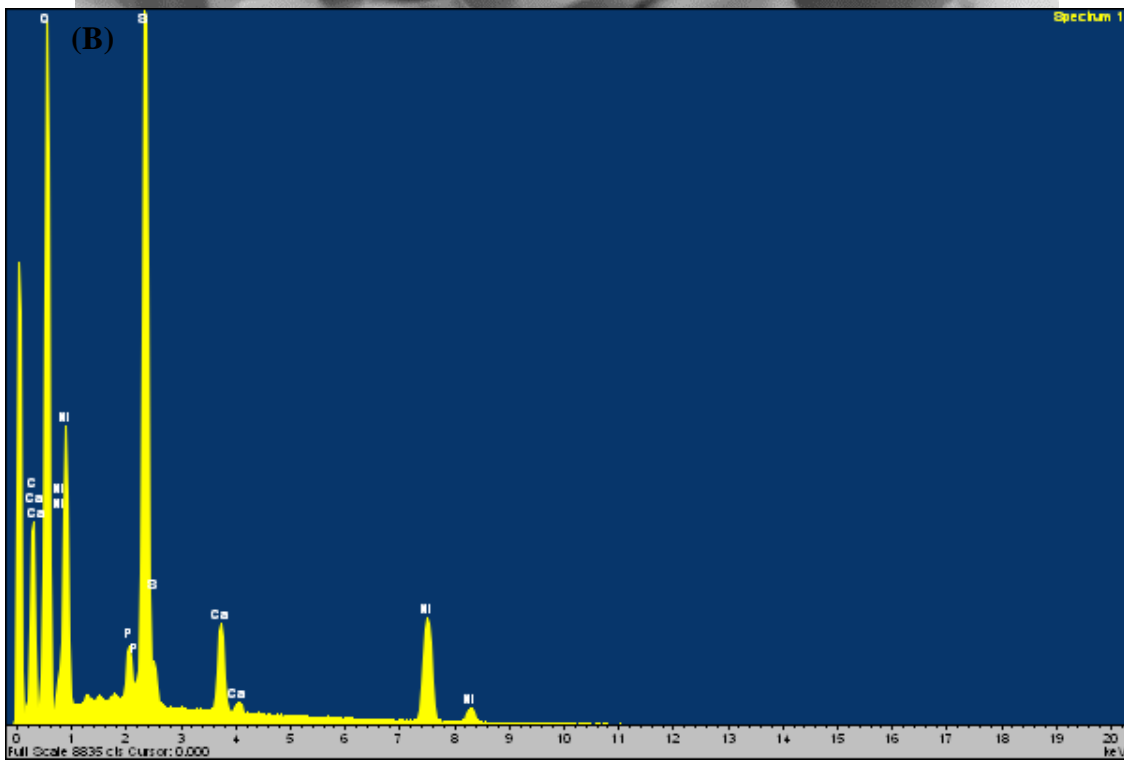
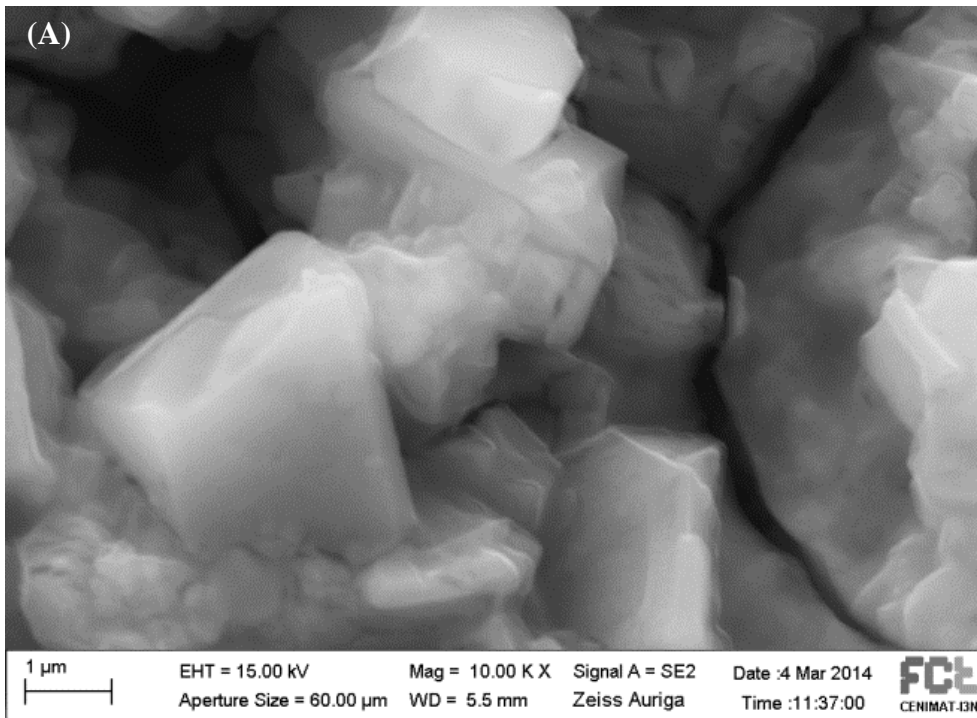


Figura 40 - Imagens de SEM (A) e espectro de EDS correspondente (B) das partículas resultantes da síntese biológica a pH 7.

4.3.5. Caracterização das partículas de cobalto, em *batch*

4.3.5.1. Difracção de Raios X

Por análise do difratograma das partículas resultantes do ensaio de síntese biológica sem acerto de pH, figura 41, não é possível identificar qual o composto obtido, uma vez que se observam apenas três picos largos, para os quais não foi possível encontrar uma correspondência na base de dados utilizada.

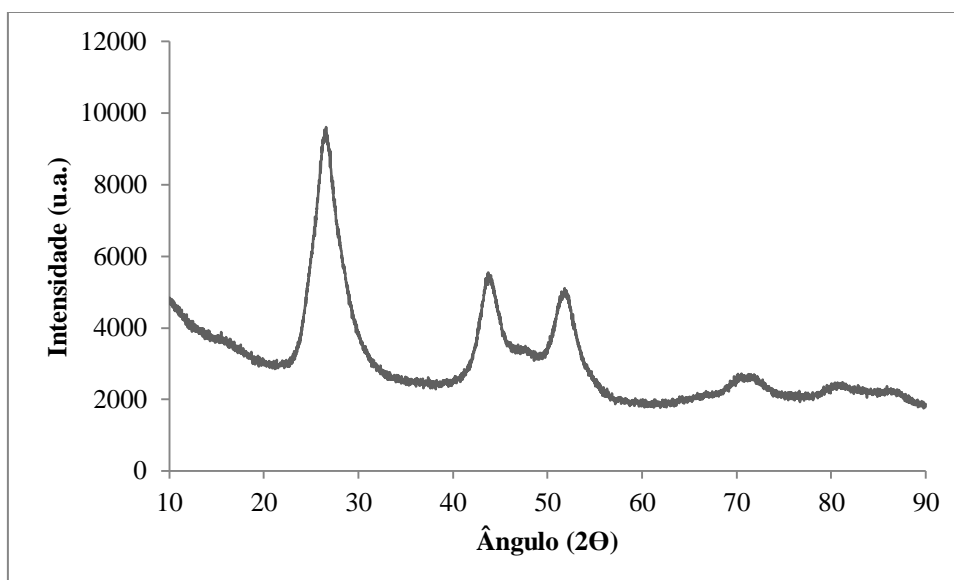


Figura 41- Difratograma dos precipitados de cobalto obtidos através de síntese biológica sem controle de pH.

Já o difratograma das partículas de cobalto precipitadas biologicamente com pH 3, figura 42, obteve-se uma correspondência a $\text{CoSO}_4 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, *moorhouseite*, no qual a forma cristalina predominante é a monoclinica. Em escala muito menor, é também possível a identificação de picos correspondentes a H_2SO_4 , ácido sulfúrico, na forma cristalina monoclinica.

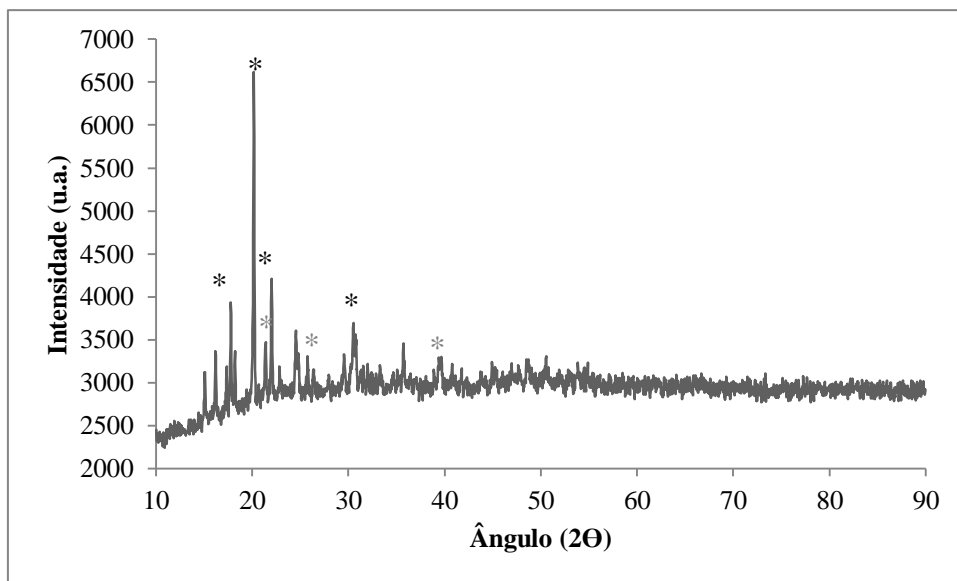


Figura 42 - Difratoograma dos precipitados obtidos através de síntese biológica a pH 3, de $\text{CoSO}_4 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (*), (Reference Code: 00-016-0304) e H_2SO_4 (*) (Reference Code: 01-077-0367). Ambos os compostos obtidos se encontram na fase cristalina monoclinica.

O difratograma das partículas obtidas a pH 7, figura 43, mostram, para além de $\text{CoSO}_4 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ com a mesma referência do precipitado acima indicado, S_8 , enxofre, na forma cristalina monoclinica e $\text{H}_2\text{SO}_4 \cdot (\text{H}_2\text{O})_{6,5}$, também na forma cristalina monoclinica.

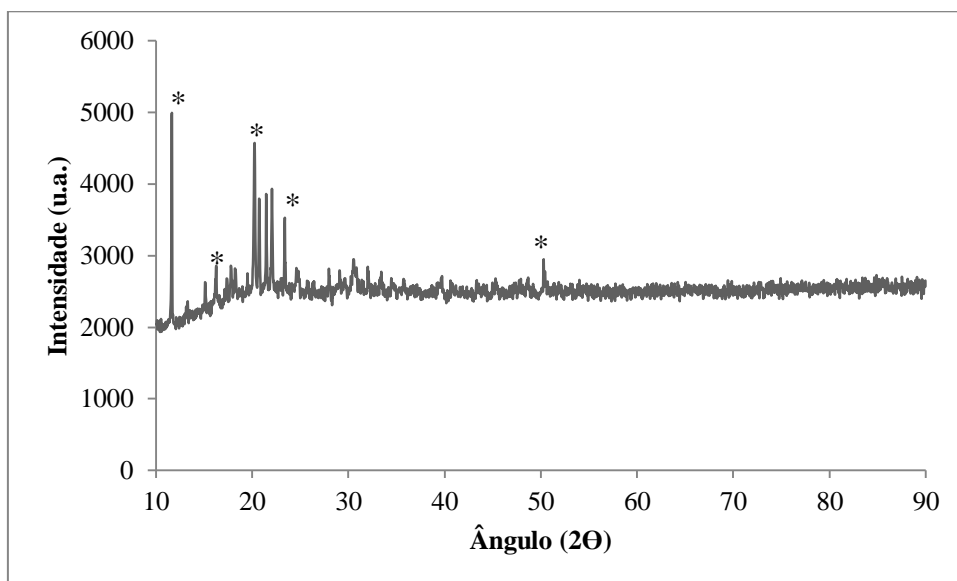


Figura 43 - Difratoograma dos precipitados obtidos através de síntese biológica a pH 7. Os picos identificados correspondem a $\text{CoSO}_4 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, (Reference Code: 00-016-0304) na fase cristalina monoclinica (*).

4.3.5.2. SEM/EDS

As partículas obtidas a pH 3 foram analisadas por SEM e EDS, figura 44, Através da análise de EDS é possível confirmar a presença de cobalto, oxigênio, enxofre e carbono na amostra, possivelmente provenientes de componentes presentes no meio nutriente. Através de SEM não é possível definir uma estrutura para as partículas, uma vez que elas apresentam uma forma robusta.

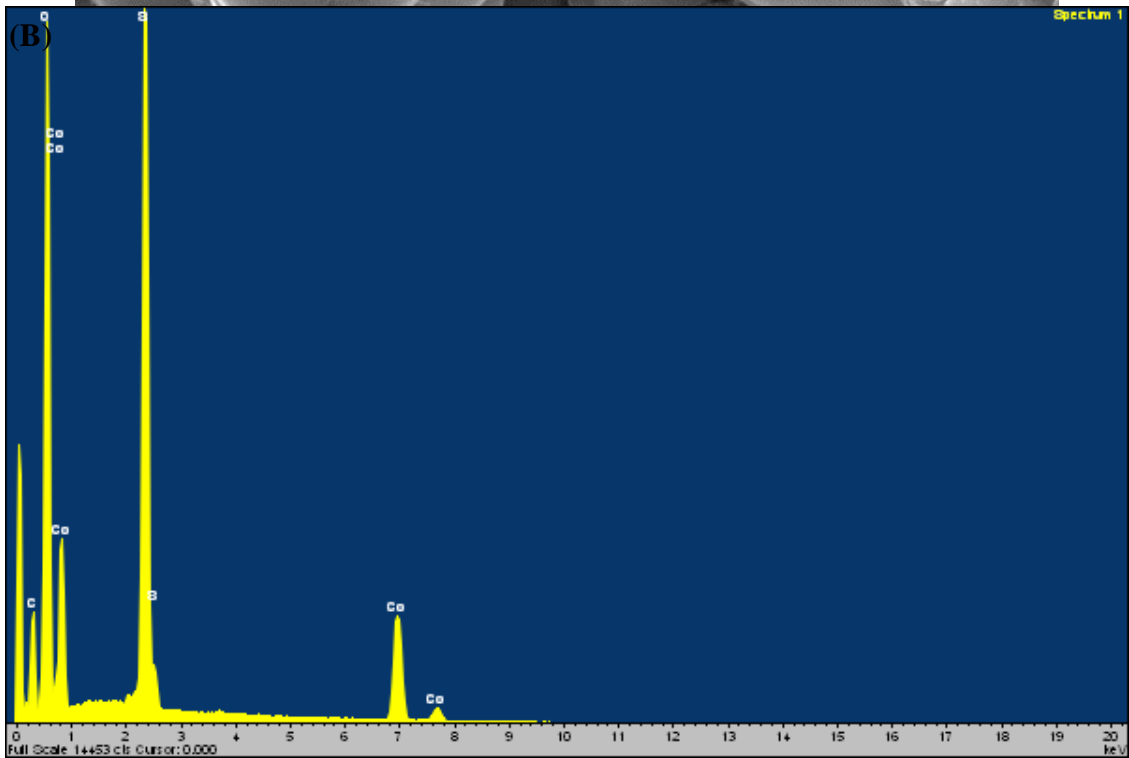
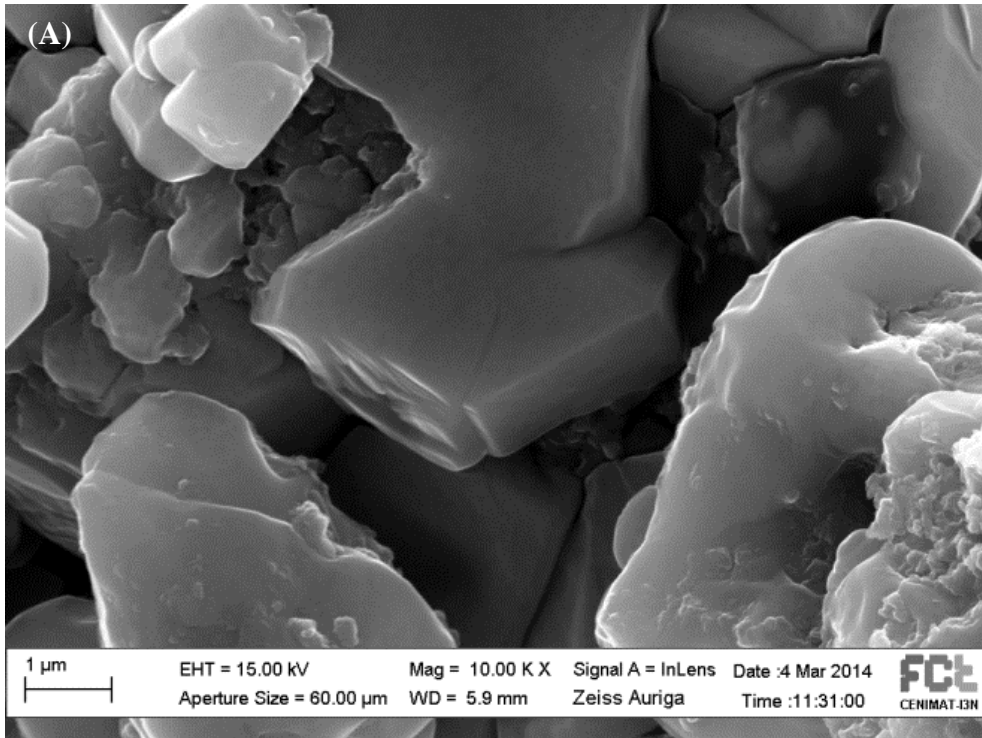


Figura 44 - Imagens de SEM (A) e espectro de EDS correspondente (B) das partículas resultantes da síntese biológica a pH 3.

4.4. Ensaios de Fotodegradação do Cloranfenicol

4.4.1. Ensaios de fotodegradação em fotorreator

A figura 45 mostra a correlação $C/C_{m\grave{a}e}$ em função do tempo de irradiação de luz UV, sendo $C/C_{m\grave{a}e}$ a razão entre a absorvância ao longo do tempo e a absorvância da solução mãe de cloranfenicol, ambas a 276nm (porque este comprimento de onda corresponde ao comprimento de onde de absorção máxima do cloranfenicol).

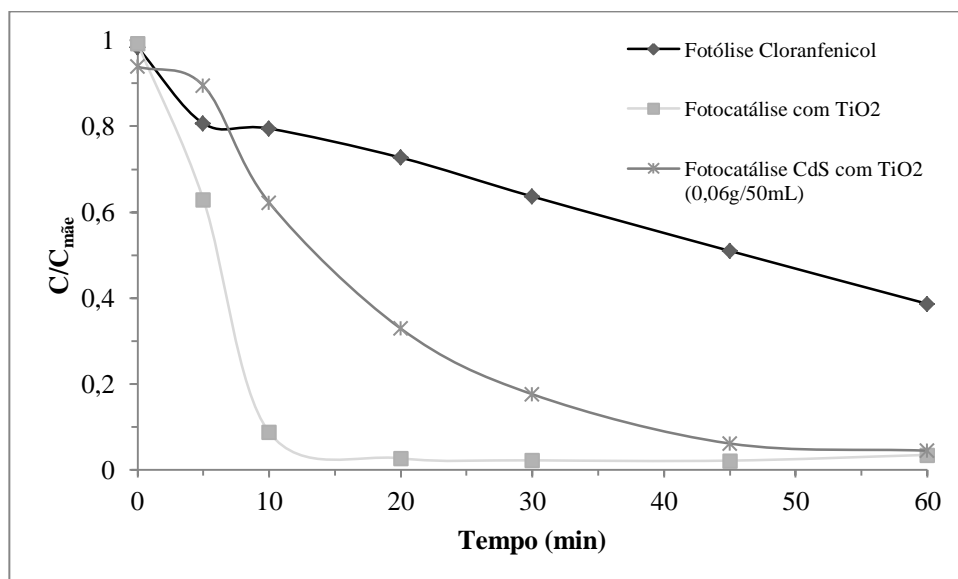


Figura 45 - Correlação $C/C_{m\grave{a}e}$ em função do tempo de irradiação de luz UV.

A figura 46 apresenta a porcentagem de cloranfenicol ao longo do tempo de irradiação de luz UV. Quando não é usado qualquer catalisador na fotodegradação – fotólise – a degradação do cloranfenicol é lenta e este apenas é degradado 60% ao fim de uma hora de irradiação. É esperado que usando um semicondutor como catalisador da fotodegradação, esta seja mais rápida e completa. Foi feita a fotocatálise com TiO_2 comercial e com os nanocompósitos de CdS com TiO_2 , sendo que a primeira foi realizada com o intuito de ser uma referência positiva. Quando o nanocompósito foi utilizado a degradação do cloranfenicol ao fim de uma hora de irradiação foi praticamente completa, cerca de 95%. No entanto, o uso de TiO_2 como catalisador

demonstrou ser o melhor, uma vez que a sua utilização resultou em cerca de 97% de degradação de cloranfenicol em menos de 15 minutos de exposição à radiação.

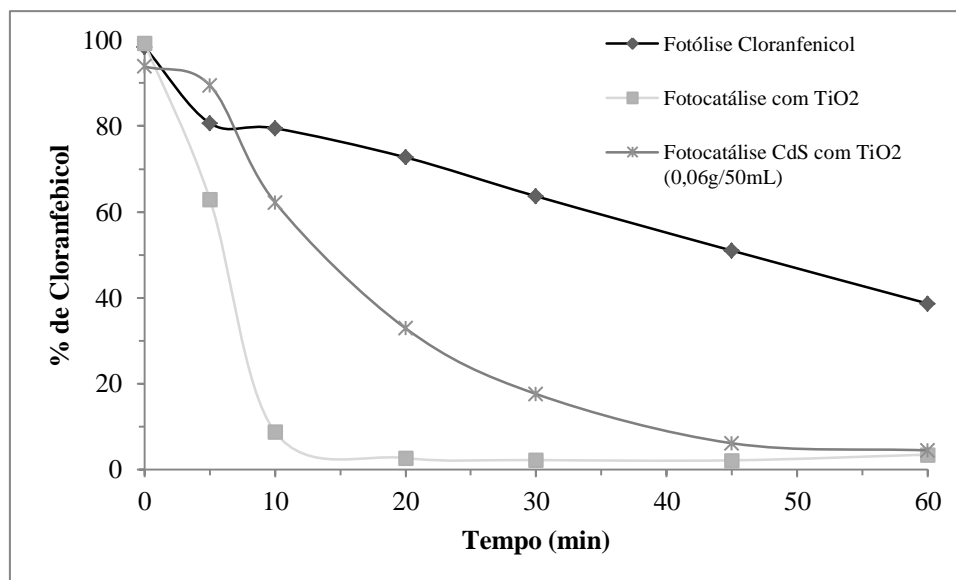


Figura 46 - Percentagem de cloranfenicol degradado ao longo do tempo de irradiação de luz UV, a 276nm.

Assumindo que a degradação de uma molécula orgânica segue aproximadamente uma cinética de pseudo-primeira ordem, de acordo com o modelo de Langmuir-Hinshelwood (Chatzitakis *et al*, 2008), representando graficamente como $\ln(C_{m\grave{a}e}/C)$ em função do tempo (figura 47) dever-se-á obter uma relação linear de acordo com a equação 6, sendo o declive da reta a constante de velocidade de pseudo-primeira ordem aparente (K_{app}) e t é o tempo de irradiação.

$$\ln\left(\frac{C_{m\grave{a}e}}{C}\right) = K_{app} \times t \quad (6)$$

Na realidade os dados experimentais vão ao encontro do modelo de Langmuir-Hinshelwood, uma vez que as curvas obtidas de $\ln(C_{m\grave{a}e}/C)$ em função do tempo de exposição apresentam um comportamento aproximadamente linear indicando uma cinética de pseudo-primeira ordem de fotodegradação do cloranfenicol. A fotólise foi a que apresentou menor K_{app} de $0,0141\text{min}^{-1}$, enquanto que a fotocatálise com TiO_2 foi a

que apresentou um K_{app} maior, de $0,1359\text{min}^{-1}$, o que está de acordo com os resultados anteriormente obtidos.

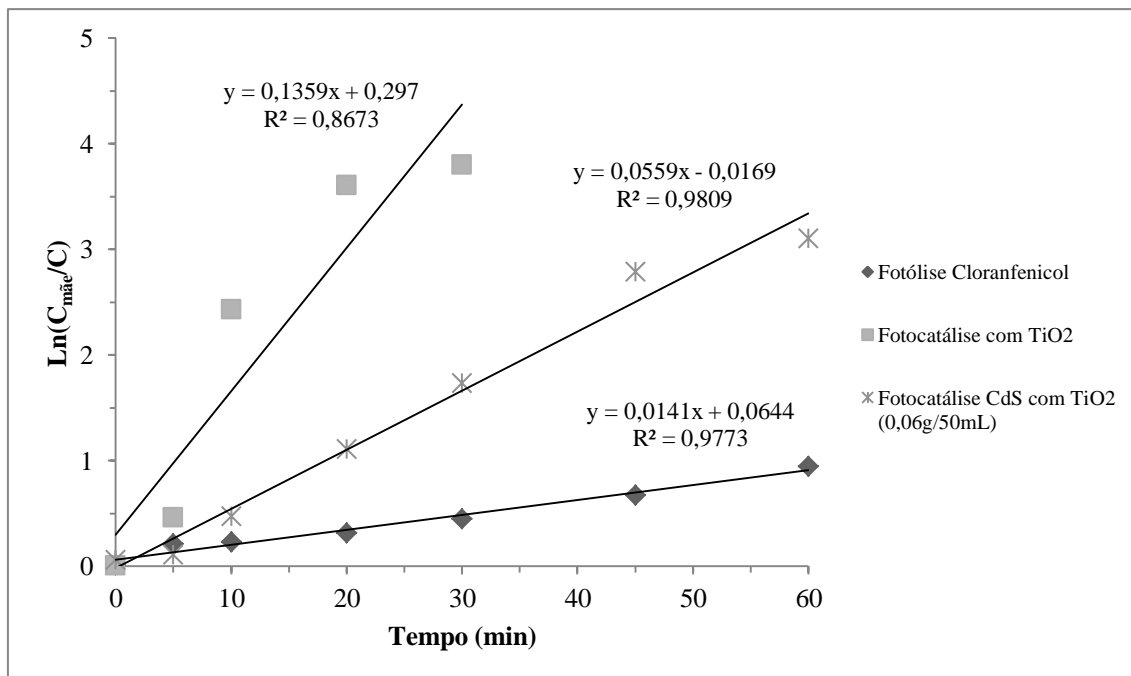


Figura 47 – Representação da regressão linear $\text{Ln}(C_{\text{mãe}}/C)$ em função do tempo de exposição à radiação.

Para além dos nanocompósitos de Cds com TiO_2 , não se mostraram tão eficientes como o TiO_2 para a fotodegradação do cloranfenicol. Foi possível observar que as nanopartículas e os nanocompósitos sofreram fotocorrosão, devido à mudança de cor dos precipitados em solução, que inicialmente apresentavam uma cor amarelada mas que no fim da fotodegradação dá-se o aparecimento de uma cor branca. Poderá ser este um dos motivos que impediu as nanopartículas e nanocompósitos de serem tão ou mais eficientes do que o TiO_2 .

4.4.2. Ensaio de fotodegradação por exposição à luz solar

A figura 48 representa a correlação $C/C_{m\grave{a}e}$ em função do tempo de irradiação de luz solar. A figura 49 apresenta a percentagem de cloranfenicol ao longo do tempo de irradiação.

A fotólise do cloranfenicol à luz solar é muito menos eficiente comparativamente à que ocorre no fotorreator, uma vez que por exposição à luz solar apenas degrada cerca de 20% do antibiótico ao fim de 4 horas e 30 minutos.

Também nos ensaios à luz solar, o catalisador que demonstrou ser o mais eficiente, foi o TiO_2 comercial, que foi usado como referência positiva, com uma percentagem de degradação do cloranfenicol de cerca de 95% ao fim de 4 horas e 30 minutos.

As nanopartículas de CdS e os respectivos nanocompósitos com TiO_2 apresentam uma percentagem de degradação do cloranfenicol de aproximadamente 25% e 94%, respetivamente. Também nestes ensaios ocorreu a fotocorrosão das partículas de CdS, dado que se observou uma mudança de cor dos precipitados em solução, que inicialmente apresentavam uma cor amarelada mas que no fim da fotodegradação mudaram a sua cor para branco.

Já as nanopartículas de CuS e os seus nanocompósitos, não apresentam valores de fotodegradação do cloranfenicol por exposição à luz solar elevados, aproximadamente 27% e 0% ao fim de 4 horas e 30 minutos, respetivamente, figura 48.

As partículas de Ag_2S degradam apenas cerca de 10% do cloranfenicol em solução ao fim de 4 horas e 30 minutos por exposição à luz solar. Assim, pode-se concluir que não foi possível fazer uma fotodegradação eficiente do cloranfenicol por exposição à luz solar usando como catalisador qualquer um dos nanocompósitos de TiO_2 sintetizados.

A figura 50 apresenta as curvas de $\ln(C_{m\grave{a}e}/C)$ em função do tempo de exposição à luz solar. Consultando a tabela 17 e a figura 50, vê-se que os dados experimentais, à exceção do que acontece para a fotodegradação com o nanocompósito de CuS com

TiO₂, não estão de acordo com o modelo de Langmuir-Hinshelwood, pois não apresentam comportamento linear.

Tabela 17 - Equações e coeficientes de correlação linear, obtidos a partir da figura 48.

	Equações e coeficientes de correlação linear
Fotólise do cloranfenicol	$y = 0,0133x - 0,2624$ $R^2 = 0,06769$
Fotocatálise com TiO₂	$y = 0,0133x - 0,2624$ $R^2 = 0,06769$
Fotocatálise com CdS	$y = 0,0008x - 0,9225$ $R^2 = 0,2055$
Fotocatálise com CdS+ TiO₂	$y = 0,0008x - 0,9225$ $R^2 = 0,2055$
Fotocatálise com CuS	$y = 0,0018x - 1,1612$ $R^2 = 0,9175$
Fotocatálise com CuS+TiO₂	$y = 0,0002x - 1,124$ $R^2 = 0,1$
Fotocatálise com Ag₂S	$y = 0,0008x - 1,1176$ $R^2 = 0,7544$

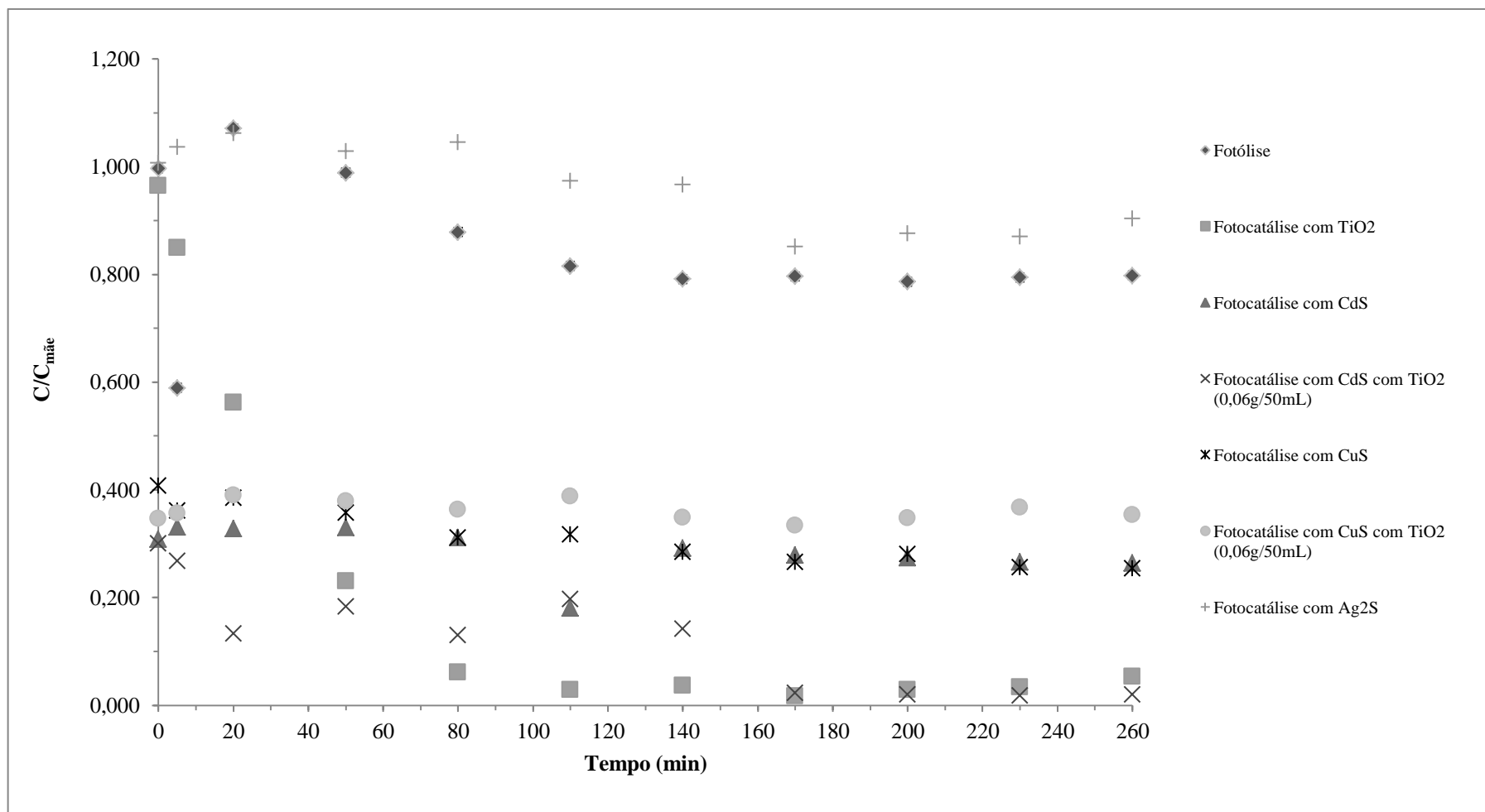


Figura 48 - Correlação $C/C_{mãe}$ em função do tempo de irradiação de luz solar.

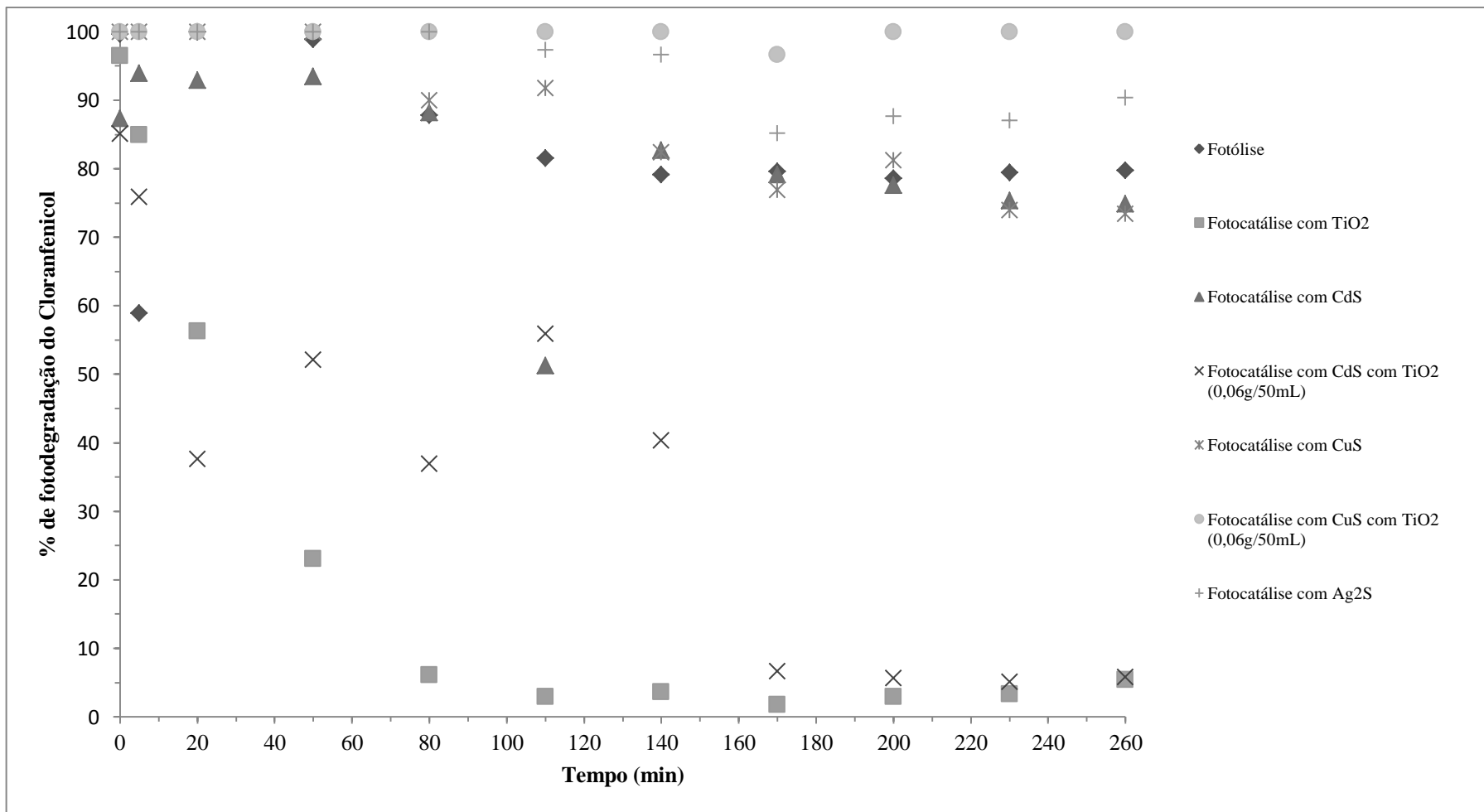


Figura 49 - Percentagem de cloranfenicol degradado ao longo do tempo de irradiação de luz solar.

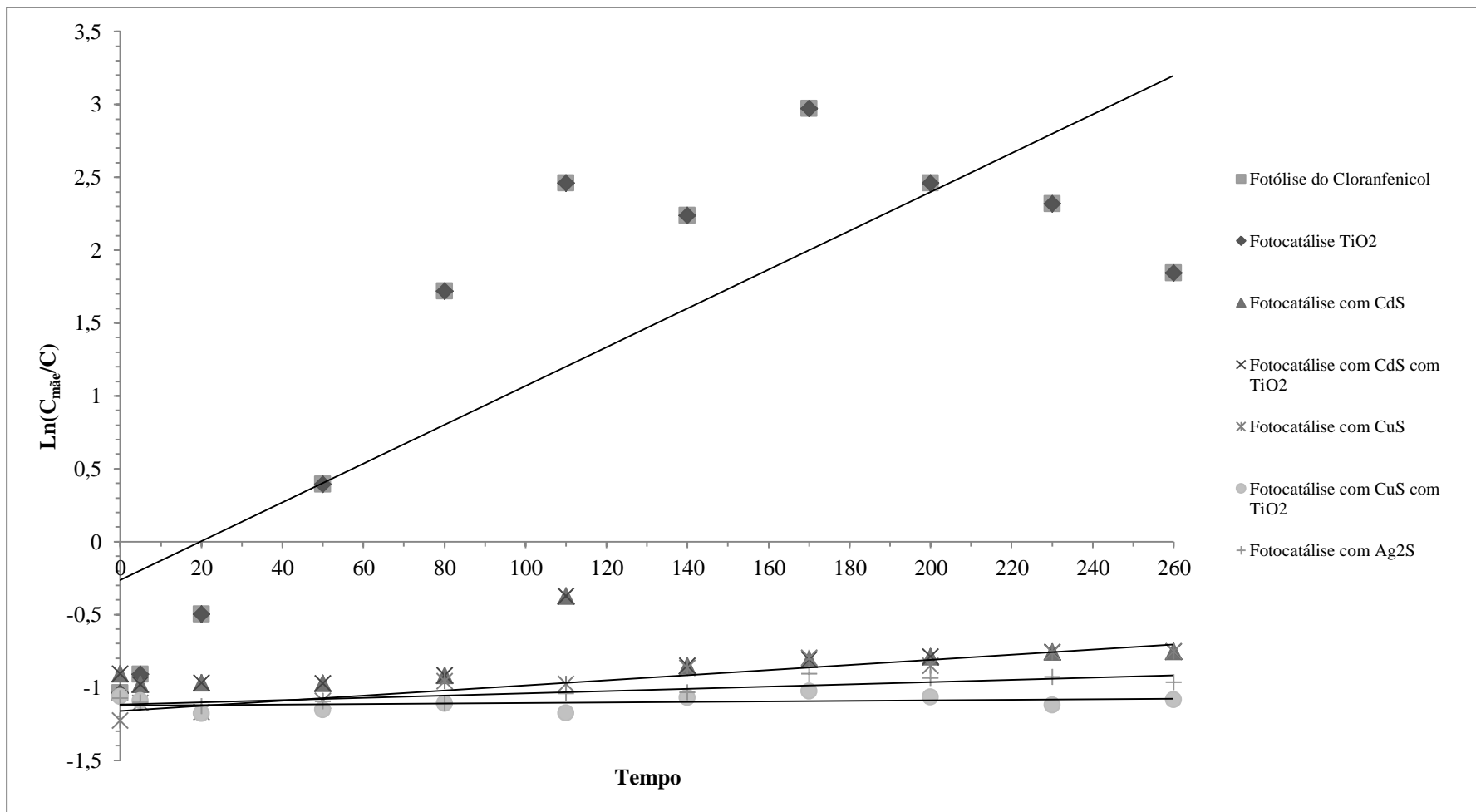


Figura 50 - Representação da regressão linear $\ln(C_{mãe}/C)$ em função do tempo de exposição à luz solar.

5. Conclusão

Foi possível com recurso a sulfureto gerado biologicamente pelas SRB sintetizar as nanopartículas de sulfureto de cádmio, sulfureto de cobre e respetivos nanocompósitos com TiO₂. Foi também possível precipitar partículas de sulfureto de prata e respetivo nanocompósito de TiO₂. Porém tal não aconteceu com o níquel e o cobalto.

As nanopartículas de CdS e nanocompósitos com TiO₂ apresentam tamanhos de aproximadamente 11 – 44nm e 22 – 68nm, respetivamente, estrutura cristalina cúbica e morfologia esférica. Os seus valores de *band gap* são, respetivamente, 2,25eV e 3,73eV, o que lhes confere propriedades semicondutoras. As nanopartículas de CdS não apresentam ponto isoelétrico, mantendo carga negativa à superfície das partículas. Os nanocompósitos de CdS com TiO₂ apresentam valor de ponto isoelétrico a valores de pH próximos de 3,9, sendo que a pH abaixo a carga superficial estará carregada positivamente e vice-versa. Constata-se que as nanopartículas de CdS e de CdS com TiO₂ (0,06g/50mL) serão susceptíveis de sofrerem agregação devido a atrações interpartículas de Van der Waals, uma vez que os seus valores de potencial zeta se encontram dentro do intervalo +20 a -25mV.

As nanopartículas de CuS e seus nanocompósitos com TiO₂ apresentam tamanhos de 3,3nm e 20 – 30nm, respetivamente. Ambos apresentam como estrutura cristalina *covellite* e morfologia esférica. Os seus valores de *band gap* são respetivamente, 2,21eV e 3,09eV, o que lhes confere propriedades semicondutoras. Tanto as nanopartículas como os nanocompósitos não apresentam valor de ponto isoelétrico, sendo que as nanopartículas se encontram carregadas negativamente e os nanocompósitos se encontram carregados positivamente, em toda a gama de pH estudada. Constata-se que as nanopartículas de CuS e de CuS com TiO₂ (0,06g/50mL) serão susceptíveis de sofrerem agregação devido a atrações interpartículas de Van der Waals, uma vez que os seus valores de potencial zeta se encontram dentro do intervalo +20 a -25mV.

As partículas de Ag_2S e seus nanocompósitos com TiO_2 , apresentam tamanhos entre 63 – 173nm e entre 13 – 44nm, respectivamente. Ambos apresentam estrutura cristalina monoclinica e as primeiras apresentam para além desta estrutura uma estrutura ortorrômbica. A morfologia de ambas é esférica. Tanto as partículas de Ag_2S como os compósitos com TiO_2 , apresentam o mesmo valor de *band gap* de 0,92eV. O valor ponto isoelétrico para as partículas de Ag_2S é próximo de pH 2,9, os compósitos não apresentam valor de ponto isoelétrico, mantendo carga negativa em toda a gama de pH estudada. Constatar-se que as partículas de Ag_2S serão estáveis em solução a valores de pH superiores a 6, uma vez que o seu valor de potencial zeta é menor do que -25mV. Porém, a valores de pH inferiores (entre 2 e 4) elas serão susceptíveis de se agregarem devido a atrações de Van der Waals, uma vez que os seus valores de potencial zeta encontram-se compreendidos entre +20mV a -20mV. Os compósitos de Ag_2S com TiO_2 (0,06g/50mL) serão susceptíveis de agregar em solução, devido a atrações de Van der Waals, uma vez que os seus valores de potencial zeta se encontram entre 0 e cerca de -20mV.

Dos ensaios de síntese realizados usando solução de níquel e sulfureto gerado biologicamente resultou não a obtenção de sulfureto de níquel, mas a formação de $\text{NiSO}_4 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ de estrutura cristalina monoclinica, mesmo nos ensaios onde houve ajuste do pH da solução metálica.

Não foi possível identificar o composto obtido através da síntese usando solução de cobalto e sulfureto gerado biologicamente. Porém a partir das sínteses com acerto inicial do pH para 3 e 7, obteve-se $\text{CoSO}_4 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ de estrutura cristalina monoclinica. Na síntese em que o pH inicial foi 3, obteve-se também H_2SO_4 , enquanto que na síntese a pH inicial 7, obteve-se S_8 e $\text{H}_2\text{SO}_4 \cdot (\text{H}_2\text{O})_{6,5}$. Todos os compostos identificados apresentavam estrutura monoclinica.

Os resultados obtidos dos ensaios fotocatalítico em fotorreator, sugerem que a fotocatalise mais eficiente foi a aquela em que se usou TiO_2 comercial (que foi usado meramente como referência positiva), com percentagem de degradação do cloranfenicol de 97%, sendo também a que apresenta um maior valor constante de velocidade de pseudo-primeira ordem de $0,1359\text{min}^{-1}$. Ao submeter-se a irradiação UV os nanocompósitos de CdS com TiO_2 , estes sofrem fotocorrosão, não sendo por isso, viáveis como catalisadores de fotodegradação.

Também os resultados fotocatalíticos realizados por exposição à luz solar, sugerem que TiO_2 é o melhor catalisador, com uma percentagem de degradação de cloranfenicol de aproximadamente 95% ao fim de 4 horas e 30 minutos. Seguem-se os nanocompósitos de CdS com TiO_2 com cerca de 94%, de fotodegradação daquele antibiótico, em contraste com cerca de 25% de degradação quando apenas é usado CdS, não obstante de este sofrer fotocorrosão. Os nanocompósitos de CuS com TiO_2 não conseguem degradar o cloranfenicol, embora o CuS quando usado sozinho tenha permitido degradar cerca de 27% do cloranfenicol ao fim de 4 horas e 30 minutos.

A utilização de Ag_2S como fotocatalisador permite obter uma percentagem de degradação do cloranfenicol de cerca de 10% ao fim de 4 horas e 30 minutos. Não foram ainda testados os nanocompósitos de Ag_2S .

6. Perspectivas Futuras

Futuramente poder-se-á:

- Tentar a síntese de outros sulfuretos metálicos, nomeadamente de metais do grupo da platina, nomeadamente de ródio, paládio, platina, entre outros.
- Testar aplicações para os compostos obtidos de $\text{NiSO}_4 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ e $\text{CoSO}_4 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, definir o seu estado de pureza e determinar o seu valor comercial.
- Tentar sintetizar nanocompósitos de TiO_2 recoberto com vários sulfuretos metálicos que apresentem diferentes valores de *band gap*, de modo a formar nanocompósitos com mais do que uma energia de transição intermédia, e também alargar a gama do espectro para que esse nanocompósito irá absorver.
- Testar uma síntese por pulsos numa tentativa de obter nanopartículas de Ag_2S , pois ao adicionar maiores volumes em curtos intervalos de tempo, aumenta-se a sobressaturação relativa da solução, o que proporcionará a formação de partículas de Ag_2S de menor tamanho
- Testar uma síntese fazendo variar a temperatura e/ou pressão usando um catalisador como por exemplo o níquel em pó, facilitar-se-á a precipitação de NiS (Karbanee *et al.*, 2008).
- Testar novas condições experimentais para a síntese de nanopartículas de CoS , tais como a pressão e a concentração de metal em solução.
- Fazer estudos de fotocatalise usando os nanocompósitos de Ag_2S sintetizados.
- Testar a ação das nanopartículas sintetizadas na degradação de outros poluentes orgânicos.

Bibliografia

- Al-Zuhair, S., El-Naas, M. H., & Al-Hassani, H. (2008). Sulfate inhibition effect on sulfate reducing bacteria. *J. Biochem Tech*, 1(2): 39-44.
- Andreozzi, R., Caprio, V., Marotta, R., & Radovnikovic, A. (2003). Ozonation and H₂O₂/UV Treatment of Clofibric Acid in Water: A Kinetic Investigation. *Journal of Hazardous Materials*, B103: 233-246.
- Baran, W., Sochacka, J., & Wardas, W. (2006). Toxicity and Biodegradability of Sulfonamides and Products of their Photocatalytic Degradation in Aqueous Solutions. *Chemosphere*, 65: 1295-1299.
- Barton, L., & Fauque, G. (2009). Biochemistry, Physiology and Biotechnology of Sulfate-Reducing Bacteria. In *Advances in Applied Microbiology* (pp. 68(2): 41-98). Elsevier Inc.
- Benitez, F. J., Acero, J. L., Real, F. J., Roldan, G., & Rodriguez, E. (2013). Modeling the photodegradation of emerging contaminants in waters by UV radiation and UV/H₂O₂ System. *Journal of Environmentak Scince and Health, Part A*, 48: 120-128.
- Bhatkhande, D., Pangarkar, V., & Beenackers, A. (2001). Photocatalytic Degradation for Environmental Applications - A Review. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, 77: 102-116.
- Blake, D. (1994). *Bibliography of Work on the Photocatalytic Removal of Hazardous Compounds from Water and Air*. Colorado: National Renewable EnergyLaboratory.
- Brown, L., & Holme, A. (2009). *Química Geral Aplicada à Engenharia*. São Paulo: Cengage Learning edições Ltda.
- Buffle, M., Schumacher, J., Salhi, E., Jekel, M., & Gunten, v. U. (2006). Measurement of the Initial Phase of Ozone Decomposition in Water and Wastewater by Means of a Continuous Quench.flow System: Application to Disinfection and Pharmaceutical Oxidation. *Water Research*, 40: 1884-1894.

- Castillo, J., Pérez-López, R., Caraballo, M. A., Neito, J. M., Costa, M. C., Olías, M., et al. (2012). Biologically-induced precipitation of sphalerite–wurtzite nanoparticles by sulfate-reducing bacteria: Implications for ac. *Sci Total Environ*, 423(0): 176-184.
- Castro, H. F., Williams, N. H., & Ogram, A. (2000). Phylogeny of sulfate-reducing bacteria. *FEMS Microbiology Ecology*, 31(1): 1-9.
- Chatzitakis, A., Berberidou, C., Paspaltsis, I., Kyriakou, G., Sklaviadis, T., & Poullos, I. (2008). Photocatalytic Degradation and drug Activity Reduction of Chloranphenicol. *Water Research*, 42: 386-394.
- ChemAxon. (s.d.). *Chemicalize.org*. Obtido em 27 de Junho de 2014, de <http://www.chemicalize.org/structure/#!/mol=chloramphenicol&source=fp>
- Cindy, F., & J.T., J. (s.d.). Introduction to Diffuse Refletance. *Infrared Fourer Transform Spectroscopy*. Japan: Spectra-Techm.
- Costa, M. C., & Duarte, J. C. (2005). Bioremediation of Acid Mine Drainage using Acidic Soil and Organic Wastes for Promoting Sulphate-Reducing Bacteria Activity on a Column Reactor. *Water, Air and Soil Pollution*, 165: 325-345.
- Czech, B., & Rubinowaska, K. (2013). TiO₂-Assisted Photocatalytic Degradation of Diclofenac, Metoprolol, Estrone and Chloramphenicol as Endocrine Disruptors in Water. *Adsorption*, 19: 619-630.
- da Costa, J. P., Girão, A. V., Lourenço, J. P., Monteiro, O. C., Trindade, T., & Costa, M. C. (2012). Synthesis of nanocrystalline ZnS using biologically generated sulfide. *Hydrometallurgy*, 117: 57-63.
- da Costa, J., Girao, A., Lourenco, J., Monteiro, O., Trindade, T., & Costa, M. (2012). Synthesis of nanocrystalline ZnS using biologically generated sulfide. *Hydrometallurgy*, 117: 57-63.
- da Costa, P., Girão, V., Lourenço, P., Monteiro, C., Trindade, T., & Costa, M. C. (2013). Green synthesis of covellite nanocrystals using biologically generated sulfide: Potencial for Bioremediation Systems. *Journal of Environmental Management*.

- Dharma, J., & Pisal, A. (s.d.). Simple Method of Measuring the Band Gap Energy Value of TiO₂ in the Powder Form using a UV/Vis/NIR Spectrometer. Application note, Copyright ©2009-2012, PerkinElmer, Inc. Shelton, CT USA.
- Doll, T., & Frimmel, F. (2004). Kinetic Study of Photocatalytic Degradation of Carbamazepine, Clofibric Acid, Isomeprol and Iopromide Assisted by Different TiO₂ Materials - Determination of Intermediates and Reaction Pathways. *Water Research*, 38: 955-964.
- Fawell, J., & Ong, C. N. (2012). Emerging contaminants and the implications for drinking water. *Water Resources Development*, 28(2): 247-263.
- Ferreira, P. M., Barros Timmonos, A., Neves, M. D., Dynarowicz, P., & Trindade, T. (2001). Langmuir-Blodgett manipulation of capped cadmium sulfide quantum dots. *Thin Solid Films*, 393(1-2): 272-277.
- Fullston, D., Fornasiero, D., & Ralston, J. (1999). Zeta potential study of the oxidation of copper sulfide minerals. *Colloids and Surfaces*, 113-121.
- Gadd, G. (2010). Metals, minerals and microbes: geomicrobiology and bioremediation. *Microbiol-Sgm*, 156: 609-643.
- Ge, X. N., & Zhang, Z. (2002). A novel route to prepare cadmium sulfide nanorods. *Radiat Phys Chem*, 64(3): 223-227.
- Gosar, M. (2004). Environmental impacts of metal mining. *Materials and Geoenvironment*, 51(4): 10.
- Gupta, P., & Ramrakhiani, M. (2009). Influence of the Particle Size on the Optical Properties of CdSe Nanoparticles. *The Open Nanoscience Journal*, 3: 15-19.
- Gupta, V., Jain, R., Mittal, A., Mathur, M., & Sikarwar, S. (2007). Photochemical Degradation of the Hazardous Dye Safranin-T using TiO₂ Catalyst. *Journal of Colloid and Interface Science*, 309: 464-469.
- Halling-Sorensen, B., Nielsen, S., Lanzky, P., Ingerslev, F., Lützhof, H., & Jorgensen, S. (1998). Occurrence, Fate and Effects of Pharmaceutical Substances in the Environment - A Review. *Chemosphere*, 36(2): 357-393.

- Hashimoto, K., Irie, H., & Fujishima, A. (2005). TiO₂ Photocatalysis: A Historical Overview and Future Prospects. *Japanese Journal of Applied Physics*, 44(12): 8269-8285.
- He, H.-Y., & Chen, P. (2012). Recent Advances in Property Enhancement of Nano TiO₂ in Photodegradation of Organic Pollutants. *Chemical Engineering Communications*, 199(12): 1542-1574.
- Hernández, F., Riviera, A., Ojeda, A., Zayas, T., & Cedillo, L. (2012). Photochemical Degradation of the Ciprofloxacin Antibiotic and Its Microbiological Validation. *Journal of Environmental Science and Engineering*, A1: 488-453.
- Hoffmann, M. R., Martin, S. T., Choi, W., & Bahnemann, D. W. (1995). Environmental applications of semiconductor photocatalysis. *Chemical Reviews*, 95: 69-96.
- Houtman, C. J. (2010). Emerging contaminants in surface waters and their relevance for the production of drinking water in Europe. *Journal of Integrative environmental Sciences*, 7(4): 271-295.
- Isac, L. A., Duta, A., Kriza, A., Enesca, I. A., & Nanu, M. (2007). The growth of CuS thin films by spray pyrolysis. *Proceedings of the International Conference on Nanoscience and Technology*, 61: 477-481.
- Jelic, A., Gros, M., Ginebreda, A., Cespedes-Sánchez, R., Ventura, F., Petrovic, M., et al. (2011). Occurrence, partition and removal of pharmaceuticals in sewage water and sludge during wastewater treatment. *Water Research*, 45: 1165-1176.
- Johnson, D. B., & Hallberg, K. B. (2005). Acid mine drainage remediation options: a review. *Sci Total Environ*, 338(1-2). 3-14.
- Kamat, P. V. (2002). Photophysical, photochemical aspects of metal nanoparticles. *Journal of Physical Chemistry B*, 106(32): 7729-7744.
- Karbanee, N., van Hille, R. P., & Lewis, A. L. (2008). Controlled Nickel Sulfide Precipitation Using Gaseous Hydrogen Sulfide. *Industrial and engineering chemistry Research*, 47: 1596-1602.
- Kernazhitsky, L., Shymanovska, V., Gavrillo, T., Naumov, V., Kshnyakin, V., & Khalyavka, T. (2013). A Comparative Study of Optical Absorption and

- Photocatalytic Properties of Nanocrystalline Single-Phase Anatase and Rutile TiO₂ Doped with Transition Metal Cations. *Journal of Solid State Chemistry*, 198: 511-519.
- Kim, S., Park, H., & Choi, W. (2004). Comparative Study of Homogeneous Photocatalytic Redox Reactions: PW12O₄₀³⁻ vs TiO₂. *The Journal of Physical Chemistry B*, 108: 6402-6411.
- Kondarides, D. I. (2012). *Encyclopedia of Life Support Systems (EOLSS)*. Obtido em 2014, de <http://www.eolss.net/eolss-sampleallchapter.aspx>
- Kosmulski, M. (2002). The pH-Dependent Surface Charging and the Points of Zero Charge. *Journal of Colloid and Interface Science*, 253: 77-87.
- Labrens, M., & Banfield, J. F. (2004). Sulfate-reducing bacteria-dominated biofilms that precipitate ZnS in a subsurface circumneutral-pH mine drainage system. *Microb Ecol*, 47: 205-217.
- Leroy, P., Tournassat, C., & Bizi, M. (2011). Influence of surface conductivity on the apparent zeta potential of TiO₂ nanoparticles. *Journal of Colloid and Interface Science*, 442-453.
- Lewis, A. (2010). Review of metal sulphide precipitation. *Hydrometallurgy*, 104(2): 222-234.
- Li, M. (2013). The Research and Development of Fe Doped TiO₂. *Research of Materials Science*, 2(2): 28-33.
- Linsebigler, A., Lu, G., & Yates, J. J. (1995). Photocatalysis on TiO₂ Surfaces: Principles, Mechanisms, and Selected Results. *Chemical Reviews*, 95: 735-758.
- Liz-Marzan, Correa-Duart, M. A., Pastoriza-Santos, I., Ung, T., Kotov, K., & Giersig, M. (2001). Core-Shell nanoparticles and assemblies thereof. In *Handbook of surfaces and interfaces of materials* (pp. pp. 189-237). H.S. Nalwa (Ed): Academic Press.
- Luo, M., Liu, Y., Hu, J., Li, J., Liu, J., & Richards, R. M. (2012). General strategy for one-pot synthesis of metal sulfide hollow spheres with enhanced photocatalytic activity. *Applied Catalysis B: Environmental*, 125(0): 180-188.

- Mallick, K., Witcomb, M. J., & Scurrall, M. S. (2007). Self assembly of the metal nanoparticles: Formation of the highly oriented core-shell type, bimetallic gold-silver film. *J Nanopart Res*, 9(2): 323-330.
- Martins, M., Faleiro, M., Chaves, S., Tenreiro, R., & Costa, M. (2010). Effect of uranium (VI) on two sulphate-reducing bacteria cultures from a uranium mine site. *Sci Total enviriom*, 408(12): 2621-2628.
- Milic, N., Milanovic, M., Letic, N. G., Sekulic, M. T., Radonic, J., Mihajlovic, I., et al. (2013). Review article: Occurrence of antibiotics as emerging contaminant substances in aquatic environment. *International Journal of Environmental Health Research*, 23(4): 296-310.
- NanoComposix. (Sptember de 2012). Zeta Potential Analysis of Nanoparticles. San Diogo.
- Nekouie, R. K., Rashchi, F., & Joda, N. N. (2013). Effect of organic additives on synthesis of copper nano powders by pulsing eletrolysis. *Powder Technol(0)*.
- Neves, M. C., Nogueira, J. F., Trindade, T., Mendonça, M. H., Pereira, M. I., & Monteiro, O. C. (2009). Photosensitization of TiO₂ by Ag₂S and its Catalytic Activity on Phenol Photodegradation. *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry*, 204: 168-173.
- Onwudiwe, D. C., & Ajibade, P. A. (2011). Zn(II), Cd(II) and Hg(II) complexes of N-methyl-N-phenyl dithiocarbamate as single source precursors for synthesis of metal sulfide nanoparticles. *Mater Lett*, 65(21-22): 3258-3261.
- Palma, L. T., Costa, P. J., & Costa, C. M. (2013). Production of PbS (Galena) nanoparticles and nanocomposites using generated sulphide. *Wastes: Solutions, Treatments and Opportunities*.
- PANalytical. (2009). X'PERT POWDER. *Multipurpose diffraction for everyone*. PANalytical B.V.
- Paramguru, K. (2002). Electrochemical Aspects in Some of the Hydrometallurgical Process. *Mineral Processing and Extractive Metallurgy Review: An International Journal*, 23(2): 65-100.

- Patel, J. D., Mighri, F., & Aji, A. (2012). Generalized chemical route to develop fatty acid capped highly dispersed semiconducting metal sulphide nanocrystals. *Mater Res Bull*, 47(8): 2016-2021.
- Postgate, J. (1966). Media for sulphur bacteria. *Lab Pract*, 15(11): 1239-1244.
- Reyes-Coronado, D., Rodríguez-Gattorno, G., Espinosa-Pesqueira, M. E., Cab, C., Coss, R., & Oskam, G. (2008). Phase-pure TiO₂ Nanoparticles: Anatase, Brookite and Rutile. *Nanotechnology*, 19(145605): 10.
- Robert, D., & Malato, S. (2002). Solar Photocatalysis: A Clean Process for Water Detoxification. *The Science of the Total Environment*, 291: 85-97.
- Russel, J. (1994). *Química Geral, 2ªEd, Vols 1 e 2*. São Paulo: Makron Books.
- Scherrer, W. (1922). A Theorem on Lattice and Volumes. *Math Ann*, 86: 99-107.
- Schippers, A., & Sand, W. (1999). Bacterial leaching of metal sulfides proceeds by two indirect mechanisms via thiosulfate or via polysulfides and sulfur. *Appl Environ Microb*, 65(1): 319-321.
- Shen, Y., & Buick, R. (2004). The Antiquity of Microbial Sulfate Reducing. *Earth-Science Reviews*, 64: 243-273.
- Shimadzu Corporation. (s.d.). Measurements of Band Gap in compound Semiconductors. *Band Gap Determination from Diffuse Reflectance Spectra*. Japan: Shimadzu Corporation, International Marketing Division.
- Shokri, M., Jodat, A., Modirshahla, N., & Behnajady, M. A. (2013). Photocatalytic Degradation of Chloramphenicol in an Aqueous Suspension of Silver-Doped TiO₂ Nanoparticles. *Environmental Technology*, 34:9, 1161-1166.
- Sohrabnezhad, S., Pourahmad, A., Sadjadi, M., & Sadeghi, B. (2008). Nickel Cobalt Sulfide Nanoparticles grown on AlMCM-41 Molecular Sieve. *Physica E*, 40: 684-688.
- Sparks, D. (2005). Toxic metals in the environment: the role of surfaces. *Elements*, 1, 193-196.

- Ternes, T., Stüber, J., Herrmann, N., McDowell, D., Ried, A., Kampmann, M., et al. (2003). Ozonation: A Toll for Removal of Pharmaceuticals, Contrast Media and Musk Fragrances from Wastewater? *Water Research*, 37: 1976-1982.
- Thakkar, K. N., Mhatre, S. S., & Parikh, R. Y. (2009). Biological Synthesis of Metallic Nanoparticles. Review Article: Medicine. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology, and Medicine*, 6(2): 257-262.
- Upadhyay, R. K., Sharma, M., Singh, D. K., Amritphale, S. S., & Chandra, N. (2012). Photo degradation of synthetic dyes using cadmium sulfide nanoparticles synthesized in the presence of different capping agents. *Sep Purif Technol*, 88(0): 39-45.
- Vázquez, A., López, I., & Gómez, I. (2011). Growth of one-dimensional zinc sulfide nanostructures through electrophoretic deposition. *Mater Lett*, 65(15-16): 2422-2425.
- Verma, A., Chhikara, I., & Dixit, D. (2013). Photocatalytic Treatment of Pharmaceutical Industry Wastewater over TiO₂ using Immersion well Reactor: Synergistic Effect Coupling with Ultrasound. *Desalination and Water Treatment*, 1-7.
- Xiong, Y., Xie, Y., Yang, J., Zhang, R., Wu, C., & Du, G. (2002). In situ micelle-template-interface reaction route to CdS nanotubes and nanowires. *J Mater Chem*, 12(12): 3712-3716.
- Yacobi, B. (2004). Types of Semiconductors. In B. Yacobi, *Semiconductor Materials. An Introduction to Basic Principles* (pp. Ch.6: 141-176). California: Kluwer Academic Publishers.
- Yeo, S. Y., Tan, W. L., Abu Bakar, M., & Ismail, J. (2010). Silver sulfide/poly(3-hydroxybutyrate) nanocomposites. Thermal stability and kinetic analysis of thermal degradation. *Polymer Degradation and Stability*, 95(8): 1299-1304.
- Yu, L., Lv, Y., Chen, G., Zhang, X., Zeng, Y., Huang, H., et al. (2011). A generally synthetic route to semiconducting metal sulfide nanocrystals by using corresponding metal powder and cysteine as metallic and sulfuric sources, respectively. *Inorg Chim Acta*, 376(1): 659-663.

Zhang, J., Fu, D., Xu, Y., & Liu, C. (2010). Optimization of Parameters on Photocatalytic Degradation of Chloramphenicol using TiO₂ as Photocatalyst by Response Surface Methodology. *Journal of Environmental Sciences*, 22(8): 1281-1289.

Zhao, L., Tao, F., Quan, Z., Zhou, X., Yuan, Y., & Hu, J. (2012). Bubble template synthesis of copper sulfide hollow spheres and their applications in lithium ion battery. *Mater Lett*, 68(0): 28-31.