



# Síntese e teste da atividade antimicrobiana do TiO<sub>2</sub> dopados com metais de terras raras

## *Synthesis and test of the antimicrobial activity of TiO<sub>2</sub> doped with rare earths*

Ana Carla Souza Araujo (orientado)\*, Eduardo Borges Lied (orientador)<sup>†</sup>, Rafaela Fernandes Homero (orientado)<sup>‡</sup>

### RESUMO

O presente estudo teve o objetivo de analisar a efetividade antimicrobiana do TiO<sub>2</sub> após processo de dopagem com Lantânio e Cério utilizando bactérias de *Escherichia coli*. Para isto, foram preparados pó de TiO<sub>2</sub> dopados Lantânio e Cério à razões mássicas de 0,03; 0,15 e 0,3%. Nas placas de Petri foram realizados micropoços para receber as bactérias manipuladas com a técnica chamada de Concentração Inibitória Mínima (CIM), nas quais podem ser formadas halos de inibição de crescimento bactericida devido a ativação fotocatalítica dos pigmentos sintetizadas. Os resultados encontrados definiram que o pigmento de TiO<sub>2</sub> e Lantânio a 0,3% obteve valores mais promissores com um halo de inibição de 1,05 cm. Podendo ser explicado pelo baixo valor do intervalo de energia, aumentando a eficiência na adsorção de fótons visíveis e na atividade fotocatalítica e, conseqüentemente, na atividade antimicrobiana. Este resultado comprova que o pigmento de TiO<sub>2</sub> e Lantânio a 0,3%, além de ser eficiente na atividade fotocatalítica, analisada em estudos anteriores, apresenta atributos de atividade antimicrobiana.

**Palavras-chave:** fotocatalisador, antimicrobiano, Lantanídeos.

### ABSTRACT

This study aimed to analyze the antimicrobial effectiveness of TiO<sub>2</sub> after a doping process with Lanthanum and Cerium using *Escherichia coli* bacteria. For this, Lanthanum and Cerium doped TiO<sub>2</sub> powders were prepared at mass ratios of 0.03; 0.15 and 0.3%. In Petri dishes, microwells were made to receive the bacteria manipulated with the technique called Minimum Inhibitory Concentration (MIC), in which halos of inhibition of bactericidal growth can be formed due to the photocatalytic activation of the synthesized pigments. The results found defined that the TiO<sub>2</sub> and 0.3% Lanthanum pigment obtained more promising values with and inhibition halo of 1.05cm. It can be explained by the low value of the energy range, increasing the efficiency in the adsorption of visible photons and in the photocatalytic activity and, consequently, in the antimicrobial activity. This result proves that the TiO<sub>2</sub> and 0.3% Lanthanum pigment, in addition to being efficient in photocatalytic activity, analyzed in previous studies, presents attributes of antimicrobial activity.

**Keywords:** photocatalyst, antimicrobial, Lanthanides.

## 1 INTRODUÇÃO

O objetivo desse trabalho foi analisar, através de estudos experimentais, a efetividade antimicrobiana do pigmento sintetizado em laboratório após o processo de dopagem com Lantânio e Cério suportadas pelo

\* Engenharia Ambiental, Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Medianeira, Paraná, Brasil; [arauj.anacarla@gmail.com](mailto:arauj.anacarla@gmail.com)

<sup>†</sup> Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Campus Medianeira; [eduardolied@utfpr.edu.br](mailto:eduardolied@utfpr.edu.br)

<sup>‡</sup> Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Medianeira, Paraná, Brasil; [rhomero@alunos.utfpr.edu.br](mailto:rhomero@alunos.utfpr.edu.br)



Dióxido de Titânio com bactérias de *Escherichia coli*. Na qual, esta bactéria tem seu papel fundamental, pois é o organismo procariota mais importante no campo da microbiologia devido ao seu rápido desenvolvimento e por estar presente no trato gastrointestinal de humanos e de alguns animais, mas ao se direcionar à algumas regiões do corpo, pode provocar graves infecções.

Sabe-se que os microrganismos apresentam uma grande preocupação não somente a saúde humana, como já mencionado, mas também ao meio ambiente e as indústrias. Ainda, com o crescimento dessas mazelas ocasionadas por microrganismos patogênicos, o desenvolvimento de estudos sobre a atuação da inibição de agentes antimicrobianos tem aumentado proporcionalmente. Esses atuantes de inibição podem ser considerados como naturais ou químicos com uma origem orgânica ou inorgânica (HAN, 2005).

Uma das estratégias que podem ser adotadas como material antimicrobiano é o uso do Dióxido de Titânio ( $\text{TiO}_2$ ), no qual é uma substância que apresenta funcionalidade bactericida (PASQUET et al., 2014).

De acordo com a literatura, a atividade bactericida de filmes de  $\text{TiO}_2$  irradiados com luz ultravioleta sobre o desenvolvimento da *Escherichia coli* apresentam mecanismos de desordenamento da membrana citoplasmática desses microrganismos (Sunada et al., 2003).

Para o auxílio dessas atividades antimicrobianas é utilizada a atividade fotocatalítica com a luz ultravioleta, definida pelos Processos Oxidativos Avançados, onde são alternativas tecnológicas de tratamento de água, solo e ar que contribuem para a remoção de micropoluentes orgânicos devido a representatividade do grupo de processos caracterizados pela geração de radicais hidroxila ( $\text{OH}^\cdot$ ).

Com tudo isso, além da atividade fotocatalítica sobre o agente antimicrobiano, é possível aumentar a efetividade dessa degradação sob a bactéria estudada?

Através da dopagem suportada pelo  $\text{TiO}_2$  com o grupo de lantanídeos, Lantânio e Cério, pode-se contribuir com a atividade antimicrobiana devido a incorporação de átomos ou íons em uma estrutura cristalina de um material modificando a estrutura mássica do cristal. Influenciando, assim, as propriedades elétricas, físicas e químicas dos óxidos semicondutores pela dopagem de íons metálicos e, dependendo do dopante, recebendo ou doando elétrons (ROY et al., 2012).

## 2 MÉTODO

Para a realização dos ensaios da atividade antimicrobiana, foram produzidas as amostras, conforme a Tabela 1 abaixo. De acordo com pesquisas anteriores (Araújo et al., 2020), foram pré-determinadas as concentrações para os dopantes à razões mássicas de 0,03; 0,15 e 0,3%, tanto para o Lantânio, quanto para o Cério.

**Tabela 1 – Tabela referente ao pigmento sintetizado com o suporte, dopante e concentração respectivamente utilizada**

Suporte	Dopante	Concentração (%)
$\text{TiO}_2$	Nitrato de Lantânio	0,03
$\text{TiO}_2$	Nitrato de Lantânio	0,15
$\text{TiO}_2$	Nitrato de Lantânio	0,3
$\text{TiO}_2$	Nitrato de Cério	0,03
$\text{TiO}_2$	Nitrato de Cério	0,15
$\text{TiO}_2$	Nitrato de Cério	0,3

**Fonte: A autoria própria (2021).**

Para preparar os pigmentos de  $\text{TiO}_2$  + Nitrato de Lantânio ( $\text{LaN}_3\text{O}_9 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ) foram adicionados 4g de  $\text{TiO}_2$ , às razões mássicas apresentadas na Tabela 2, em seguida.



**Tabela 2 – Tabela referente as massas utilizadas para preparar os pigmentos**

Pigmento	Concentração (%)	Massa (g)
TiO <sub>2</sub> + La	0,03	0,0012
TiO <sub>2</sub> + La	0,15	0,006
TiO <sub>2</sub> + La	0,3	0,012

Fonte: Autoria própria (2021).

Assim, foram dispersas em 100mL de água destilada para as três soluções e foram levadas para o agitador magnético por 30 minutos. Após isso, foram levadas para o banho ultrassônico em 37kHz por 7 minutos. Seguiram, novamente, para o agitador por mais 40 minutos e foram dispostas, cada uma, em um cadinho de porcelana e deixadas na estufa por 12 horas.

Na Figura 1 pode ser observado os pigmentos sintetizados de TiO<sub>2</sub> + Lantânio à razões mássicas de 0,03; 0,15 e 0,3%, conforme explicados anteriormente.

**Figura 1 – Pigmentos sintetizados de TiO<sub>2</sub> + Lantânio à razões mássicas de 0,03; 0,15 e 0,3%**



Fonte: Autoria própria (2021).

O mesmo procedimento foi realizado para o pigmento com suporte de TiO<sub>2</sub> + Cério nas mesmas proporções tanto para o suporte, quanto para os dopantes impregnados.

Para a preparação das análises do efeito antimicrobiano por halo de inibição com a bactéria *Escherichia coli*, seguiram as recomendações do *Clinical and Laboratory Standarts Institute* (CLSI, 2012a).

Foram isoladas as colônias bacterianas e, após 24 horas, as mesmas foram ajustadas em solução salina estéril (0,85%) contendo NaCl para uma concentração de 10<sup>8</sup> UFC mL<sup>-1</sup> (Unidades Formadoras de Colônia), analisadas com o auxílio de espectrofotômetro no comprimento de onda de 619 nm.

Foram despejados, em placas de Petri, o meio de cultura *Mueller Hinton* até a sua solidificação. Após isso, as bactérias passaram pela técnica de semeadura nas placas de Petri, com a ajuda de um *swab* estéril e dispostas em direções diferentes para uma deposição mais completa.

Em cada um dos emplacements foram realizados três micropoços equidistantes, com um diâmetro de, aproximadamente, 0,8 cm, sendo depositados os pigmentos sintetizadas em laboratório com o suporte de TiO<sub>2</sub> e dopadas em Lantânio e Cério à razões mássicas de 0,03; 0,15 e 0,3% com a técnica da Concentração Inibitória Mínima (CIM), descrita em seguida, e incubadas a 37°C por 24 horas.

A mensuração do halo de inibição foi utilizada uma régua simples para analisar o crescimento microbiano através da equação abaixo:

$$\text{Halo de inibição} = D_{\text{externo}} - D_{\text{interno}} \quad (1)$$



Onde  $D_{\text{externo}}$  é o diâmetro externo formado pela ação do agente antimicrobiano em relação aos microrganismos em centímetro (cm) e  $D_{\text{interno}}$  é o diâmetro ocupado pelo agente antimicrobiano em centímetros (cm)

A medição da CIM seguiu a metodologia descrita pela *Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI, 2012b)*, com algumas modificações. As soluções foram preparadas com  $4\text{g mL}^{-1}$  para cada pigmento sintetizado e analisado em água ultrapura, com homogeneização obtida através do ultrassom.

### 3 RESULTADOS

Através das análises realizadas, foi possível observar halos de inibição em algumas placas de Petri, ocasionadas pelo impedimento do desenvolvimento de bactérias *E. coli* no meio de cultura contendo as concentrações inibitórias mínimas (CIM), conforme a Tabela 3 exibe abaixo.

**Tabela 3 – Resultados referentes às medições dos halos de inibição de crescimento de *E. coli*.**

<b>Pigmentos Sintetizados</b>	<b>Raio (cm)</b>
TiO <sub>2</sub> + La 0,03%	0,5
TiO <sub>2</sub> + La 0,03%	0,9
TiO <sub>2</sub> + La 0,15%	1
TiO <sub>2</sub> + La 0,15%	0,8
TiO <sub>2</sub> + La 0,3%	1,1
TiO <sub>2</sub> + La 0,3%	1
TiO <sub>2</sub> + Ce 0,03%	0
TiO <sub>2</sub> + Ce 0,03%	0
TiO <sub>2</sub> + Ce 0,15%	0
TiO <sub>2</sub> + Ce 0,15%	0
TiO <sub>2</sub> + Ce 0,3%	0,7
TiO <sub>2</sub> + Ce 0,3%	1,3

**Fonte: A autoria própria (2021).**

Mediante aos valores expostos, pode-se realizar uma média aritmética entre as duplicatas de cada pigmento sintetizado para uma análise única, de acordo com a Tabela 4.

**Tabela 4 – Tabela referente as médias aritméticas das medições dos halos de inibição de crescimento de *E. coli* sobre o CIM com pigmentos sintetizados**

<b>Pigmentos Sintetizados</b>	<b>Raio (cm)</b>
TiO <sub>2</sub> + La 0,03%	0,7
TiO <sub>2</sub> + La 0,15%	0,9
TiO <sub>2</sub> + La 0,3%	1,05
TiO <sub>2</sub> + Ce 0,03%	0
TiO <sub>2</sub> + Ce 0,15%	0
TiO <sub>2</sub> + Ce 0,3%	1

**Fonte: A autoria própria (2021).**

Com os resultados obtidos, pode-se verificar que a inibição com os pigmentos constituídos de TiO<sub>2</sub> + Lantânio apresentou eficiência significativa, principalmente, a razão mássica de 0,3% com a média de 1,05 cm de halo nas duas análises realizadas.



Estudos similares confirmam os valores promissores encontrados neste presente trabalho, podendo ser explicado pela diferença do desempenho das nanopartículas e, neste caso, pode-se pressupor que quanto mais baixo o valor do intervalo de energia, mais eficiência na adsorção de fótons visíveis, aumentando a atividade fotocatalítica e, conseqüentemente, a atividade antimicrobiana (Caratto et al., 2016).

Ainda, pode ser comprovado com outras pesquisas relacionadas que a degradação de poluentes orgânicos através do alaranjado de metila, por exemplo, à razões mássicas de 0,1 a 0,3%, com dopante de nanopartículas de Lantânio suportada por  $TiO_2$ , apresentou maior desempenho na amostra de 0,3%, como o presente estudo.

O que pode ser apontado por Dal'Toé (2018) que a presença de nanopartículas de Lantânio auxilia na atividade fotocatalítica e, conseqüentemente, na atividade antimicrobiana devido à capacidade adsorvida deste material, bem como o aumento das vacâncias na superfície, formando uma maior quantidade de grupos hidroxilas ( $OH^-$ ) adsorvidas e uma maior capacidade de absorção no visível do que outros dopantes.

Enquanto que, para os pigmentos compostos ao  $TiO_2$  + Cério, não apresentou halos de inibição nas placas de Petri para as razões mássicas de 0,03 e 0,15%, apenas para a de 0,3%, com a média de 1 cm de diâmetro. Resultado que, se comparado ao  $TiO_2$  + Lantânio, não atingiu um valor tão considerável. O que pode ser fundamentado pela adição de Cério deslocar o valor do *band gap* do catalisador da região do ultravioleta para o violeta (Muñoz-Batista et al., 2014).

O auxílio da luz ultravioleta para estimular a atividade fotocatalítica do suporte analisado, no caso do estudo o  $TiO_2$ , pode ser explicada pela associação dos pares de elétrons ou o *gap* gerado no processo de fotoexcitação interagindo com a membrana celular dos microrganismos, ocasionando a morte devido a destruição de minerais, proteínas e, conseqüentemente, nos materiais genéticos (Bonilla et al., 2013; Fu et al., 2005; Joo et al., 2005).

#### 4 CONCLUSÃO

O presente estudo evidencia a eficiência da atividade fotocatalítica do  $TiO_2$  dopado com nanopartículas de Lantânio, apresentando efeitos mais expressivos se comparado ao outro dopante utilizado como o Cério.

Ainda pode ser concluído que, das três razões mássicas utilizadas, a mais significativa no dopante de Lantânio suportada por  $TiO_2$  foi a concentração de 0,3%. Fato este que já tinha sido encontrado em pesquisas anteriores (Araújo et al., 2020) sobre a atividade fotocatalítica dos pigmentos sintetizados com dopantes de Lantânio nas mesmas razões mássicas apresentadas neste estudo, suportadas pelo  $TiO_2$ . Com isso, é interessante estudos futuros dos pigmentos sintetizados sobre a toxicidade aplicada nas bactérias de *Escherichia coli* de forma mais detalhada.

Assim, pode-se constatar uma maior efetividade do  $TiO_2$  dopado, principalmente, com Lantânio para a atividade antimicrobiana por pigmentos sintetizados em laboratório com o auxílio da luz ultravioleta, ocasionando uma expectativa positiva sobre a degradabilidade de microrganismos patógenos por métodos menos agressivos ao meio ambiente.

#### AGRADECIMENTOS

O presente trabalho foi realizado com apoio da Universidade Tecnológica Federal do Paraná/Brasil. Agradeço ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico CNPq – Brasil e a Fundação Araucária FA – Paraná/Brasil, as quais fomentaram a minha pesquisa e ao meu professor orientador Eduardo Borges Lied por toda orientação e ensinamentos.



## REFERÊNCIAS

- CARATTO, Valentina *et al.* **Atividade antibacteriana de tubos endotraqueais revestidos com dióxido de titânio padrão e dopados com nitrogênio: um estudo in vitro**: Antibacterial activity of standard and N-doped titanium dioxide-coated endotracheal tubes: an in vitro study. **Rev Bras Ter Intensiva**, [s. l.], p. 55-62, 9 jan. 2017. DOI 10.5935/0103-507X.20170009.
- Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). **Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests; Approved Standards-Twelfth Edition**. CLSI document M02-A12 (ISBN 1-56238-985 [Print]; ISBN 1-56238-986-6 [Eletronic]). Clinical and Laboratory Standards Institute, 950 West Valley Road, Suite 2500, Wayne, Pennsylvania 19087 USA, 2015.
- DAL'TOÊ, Adrieli Teresinha Odorcik. **DIÓXIDO DE TITÂNIO DOPADO COM LANTÂNIO E RECOBERTO COM NANOPARTÍCULAS DE PRATA PARA A DEGRADAÇÃO FOTOCATALÍTICA DE POLUENTES ORGÂNICOS**. 2018. 189 p. Tese de Doutorado (Doutor em Engenharia Química, área de Concentração de Desenvolvimento de Processos Químicos e Biotecnológicos) - Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis - SC, 2018.
- DE ALBUQUERQUE, Ananda Karoline Camelo. **Síntese de Nanoestruturas de ZnO e TiO<sub>2</sub> Via Método Sol-Gel Proteico e Reação de Combustão para Aplicação em Fotoproteção**. 2018. 53 p. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Engenharia dos Materiais) - Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa - PB, 2018.
- DIAS, Eduarda Cristina Caixeta; SAEKI, Margarida Juri; ROCHA, Kleper de Oliveira. **FOTOCATALISADORES DE DIÓXIDO DE TITÂNIO DOPADO COM CÉRIO NO TRATAMENTO DE EFLUENTES CARREGADOS DE CORANTE: USO E REUSO DO CATALISADOR**. XXI Congresso Brasileiro de Engenharia Química, Fortaleza - CE, 25 set. 2016.
- HOERNING, Alessandra; SCARATTI, Gidiane; MOREIRA, Regina de Fátima Peralta Muniz. **Síntese e estudo da atividade fotocatalítica de dióxido de titânio co dopado com samário e óxido de grafeno**. 6º Congresso Internacional de Tecnologias para o Meio Ambiente, Bento Gonçalves - RS, 10 abr. 2018.
- MOHR, L. C. *et al.* EFEITO ANTIMICROBIANO DE NANOPARTÍCULAS DE ZnO E TiO<sub>2</sub> FRENTE AS BACTÉRIAS S. AUREUS E E. COLI. **Revista do Congresso Sul Brasileiro de Engenharia de Alimentos**, [s. l.], v. 3, ed. 1, p. 1-10, 2017.
- RAMALHO, ONÉCIMA BIATRIZ DE MEDEIROS. **Estudo da atividade fotocatalítica e antimicrobiana de TiO<sub>2</sub> dopada com Fe<sup>+3</sup> e Pb<sup>+2</sup> obtidas via método sonoquímico**. Orientador: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Fabiana Villela da Motta. 2019. 89 p. Dissertação de Mestrado (Mestrado em Ciências e Engenharia de Materiais) - Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal - Rio Grande do Norte, 2019.
- SOUSA, M.E.B *et al.* SÍNTESE, CARACTERIZAÇÃO E AVALIAÇÃO DO PODER ANTIMICROBIANO DO NANOCOMPÓSITO Ag/TiO<sub>2</sub>. **The Journal of Engineering and Exact Sciences**, [s. l.], ano 2020, v. 6, ed. 5, 12 dez. 2020. DOI 10.18540.