



UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E DA NATUREZA
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

Dissertação de Mestrado

**Cloropropil vermiculitas modificadas com derivados
de piperazina contendo zinco e cobre como agentes
antimicrobianos**

Francisco Gilmário Nunes Filho

João Pessoa – PB.

Julho - 2018



UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E DA NATUREZA
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

Dissertação de Mestrado

Cloropropil vermiculitas modificadas com derivados de piperazina contendo zinco e cobre como agentes antimicrobianos

Francisco Gilmário Nunes Filho*

Dissertação apresentada ao programa de Pós-Graduação em Química, da Universidade Federal da Paraíba, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Química Inorgânica.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Maria Gardennia da Fonseca

***Bolsista CAPES**

João Pessoa – PB.

Julho - 2018

Catalogação na publicação
Seção de Catalogação e Classificação

N972c Nunes Filho, Francisco Gilmário.

Cloropropil vermiculitas modificadas com derivados de piperazina contendo zinco e cobre como agentes antimicrobianos / Francisco Gilmário Nunes Filho. - João Pessoa, 2018.

117 f.

Orientação: Maria Gardênnia da Fonseca.

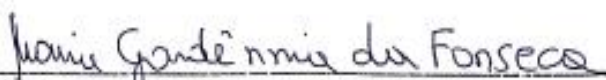
Dissertação (Mestrado) - UFPB/CCEN.

1. vermiculita. 2. ativação ácida. 3. organofuncionalização. 4. adsorção. 5. agente antimicrobiano. I. Fonseca, Maria Gardênnia da. II. Título.

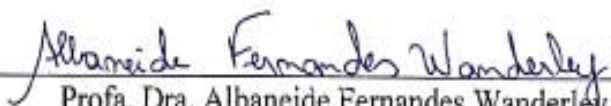
UFPB/CCEN

Cloropropil vermiculitas modificadas com derivados de piperazina contendo Cobre e Zinco como agentes antimicrobianos.

Dissertação de Mestrado apresentada pelo aluno Francisco Gilmário Nunes Filho e aprovada pela banca examinadora em 25 de julho de 2018.



Profa. Dra. Maria Gardênnia da Fonseca
Orientadora/Presidente



Profa. Dra. Albaneide Fernandes Wanderley
Examinadora



Profa. Dra. Ana Paula de Melo Alves Guedes
Examinadora

E ainda que tivesse o dom de profecia, e conhecesse todos os mistérios e toda a ciência, e ainda que tivesse toda a fé, de maneira tal que transportasse os montes, e não tivesse amor, nada seria.

1 Coríntios 13:2

Dedico este trabalho a meus pais, Maria do Carmo e Gilmário, e a minha irmã Ana Regina, por manter sempre vivo o combustível que move minha vida, o amor, por compreender a ausência e a distância, que tanto nos machuca, e mesmo assim, apoiarem incondicionalmente todas as minhas escolhas. Cada passo que eu dou é impulsionado pela luz que vocês são em minha vida.

AGRADECIMENTOS

- ❖ *A Deus pelo dom infinito do amor, por guiar meus passos nessa força e por enviar tanta luz em forma de pessoas para meu caminho, me ensinando a cada dia a forma mais linda de amar, a gratidão;*
- ❖ *À minha mãe, Maria do Carmo, ao meu pai, Gilmaro, e a minha irmã, Regina, por todo amor, apoio e incentivo, por sempre acreditarem em mim, e se fazerem a base sólida que firma meus pés neste chão, vocês são meu maior valor e orgulho. Em especial a minha mãe, mulher de extrema fibra, que me remete o maior significado de amor e dedicação, obrigado pela doação de vida a seus dois filhos, obrigado por ser tão presente e por nunca me deixar fraquejar.*
- ❖ *À minha família, minhas tias e primos, pelo apoio e por sempre acreditarem em mim. Em especial a minha avó, Maria (in memoriam), por todo amor, cuidado e constantes orações, és agora uma luz que me guia a cada dia, e ao meu tio Vicente (Tenta), pela enorme generosidade e preocupação constante com minha formação.*
- ❖ *À Prof.^a Dr.^a Maria Gardênnia da Fonseca, a qual tenho uma enorme admiração e respeito. Obrigado pela valorosa orientação, pelas orações nas etapas decisivas, apoio, paciência e confiança depositada. Sua preocupação pela formação de profissionais competentes, éticos e comprometidos, é admirável.*
- ❖ *Aos professores das bancas Dr.^a. Ana Paula de Melo Alves Guedes, Dr. José Geraldo de Paiva Espínola e Dr.^a Albaneide Fernandes Wanderley, pelas contribuições dadas na qualificação da dissertação.*
- ❖ *A todos os profissionais e professores do NEP/LACOM, em especial a Laís, Alex e Ana Rita, pela dedicação e agilidade na realização das análises de DRX e FTIR.*
- ❖ *A todos os professores que participaram da minha formação, pelos conhecimentos e ensinamentos transmitidos. Em especial a Prof.^a. Dr.^a. Albaneide Fernandes, ao Prof. Dr. Luciano Leal e ao Prof. Dr. Carlos Davidson pela inspiração que vocês são em minha vida.*
- ❖ *Aos meus “Neens” do LACOM: Denise, Mariana, Suellen, Laís, Luís, Leandro, Wanderson, Poliana, Rafael, Luzia, Adriana, Arnayara, Saloana, Graycy, Juliana, João, Cleibson, Vanúbia, Katiane, Ana Rita, Débora, Alex, Jacqueline, Tiago, Nadja, Alexandra e Clarisse, pela grande amizade, carinho e fundamental importância nessa jornada, quero leva-los comigo por toda minha vida.*
- ❖ *Aos meus amigos Rayssa, Adervando (Kiko) e Deoclécio, pelo apoio em todas as turbulências que tive nessa jornada. Obrigado pela grande amizade, e por todos os momentos de tristeza e de diversas alegrias compartilhados, tenho um carinho e uma gratidão enorme por ter vocês em minha vida.*
- ❖ *Aos presentes de luz que essa trajetória me proporcionou, Ana Luíza, Andressa, Jadson, Marcelo, Bruna, Lucas, Bárbara, Michele, Crislene e Giovanni. Em especial, aos meus companheiros do dia-a-dia Wesley Carolino e Sweltton Rodrigues pelo grande laço formado nessa convivência, pelo carinho e irmandade.*

- ❖ *Ao meu irmão de coração Vagner Silva, meu porto seguro, que tão rápido se fez família. Obrigado por todo apoio, prontidão, amor e irmandade.*
- ❖ *Ao Prof. Me. Antunes Ferreira da Silva, o qual tenho profunda admiração e carinho, pela formação do vínculo com o CFP que possibilitou a realização dos testes antimicrobianos. Obrigado por sua importante presença em minha vida e pelo apoio durante a etapa final desse trabalho.*
- ❖ *A Prof^ª. Dr^ª. Risomar Alves dos Santos, pela grande amizade, e por me acolher durante o processo seletivo e em minha chegada a cidade de João Pessoa.*
- ❖ *Ao Prof. Dr. Edson Cavalcanti de Silva Filho (LIMAV/UFPI) pela realização das análises termogravimétricas.*
- ❖ *A Central Analítica da USP pelas análises elementar de Cl e CHN.*
- ❖ *Ao Prof. Dr. Antônio Fernandes Filho (CFP/UFCG), pela disponibilização de infraestrutura e orientação na realização dos testes antimicrobianos. Obrigado pela excelente receptividade. Ao Prof. Dr. Luís Jardelino de Larcada Neto (CFP/UFCG) e a Técnica biomédica Marília Andreza da Silva Ferreira (CFP/UFCG), pela grande ajuda e prontidão durante a realização destes testes. Foi uma gratidão imensa dar um dos passos finais deste trabalho neste centro que foi e sempre será meu lar.*
- ❖ *À família que construí no CFP, que sempre caminha ao meu lado, em especial a turma pioneira de Química 2011.1, e a família RUM/RUF.*
- ❖ *Aos funcionários da PPGQ/UFPB Marcos Pequeno, Fernando e Josilda.*
- ❖ *À Capes e CNPq pelo incentivo financeiro.*

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	21
1.1. OBJETIVOS.....	23
1.1.1. Objetivo geral.....	23
1.1.2. Objetivo específico	23
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	26
2.1. Silicatos	26
2.2. Filossilicatos.....	27
2.3. Argilas e argilominerais.....	32
2.3.1. Definição e propriedades típicas.....	32
2.3.2. Ocorrência e formação geológica	33
2.4. Vermiculita.....	34
2.4.1. Formação geológica e ocorrência.....	34
2.4.2. Estrutura e propriedades gerais.....	35
2.4.3. Métodos de modificação de argilominerais	37
2.5. Atividade antimicrobiana	47
2.5.1. Atividade antimicrobiana de argilominerais.....	47
3. METODOLOGIA EXPERIMENTAL.....	58
3.1. Reagentes químicos	58
3.2. Síntese do material híbrido	58
3.2.1 Vermiculita bruta	58
3.2.2 Ativação ácida da vermiculita.....	59
3.2.3 Reação com agente sililante 3-cloropropiltrimetoxissilano	59
3.2.4. Reações subsequentes com aminas cíclicas	60
3.3. Técnicas de caracterização	62

3.3.1. Difractometria de raios X (DRX)	62
3.3.2 Espectroscopia de absorção na região do infravermelho (IV)	63
3.3.3. Análise termogravimétrica (TG/DSC)	63
3.3.4. Análise elementar carbono, hidrogênio, nitrogênio (CHN)	63
3.3.5. Análise elementar de cloro	63
3.3.6. Análise textural	64
3.3.7. Espectrometria de emissão óptica com plasma – ICP OES.	64
3.3.8. Avaliação de atividade antimicrobiana.....	65
4. RESULTADOS E DISCUSSÕES	69
4.1. Matrizes ativadas com ácido.....	69
4.1.1 Difração de raios X	69
4.1.2. Espectroscopia de absorção na região do infravermelho	72
4.1.3. Análise textural	74
4.1.4. Análise termogravimétrica.....	76
4.2. Matrizes organofuncionalizadas	78
4.2.1. Análise elementar	78
4.2.2. Difração de raios X	80
4.2.3. Espectroscopia de absorção na região do infravermelho.	83
4.2.4. Análise textural	85
4.2.5. Análise termogravimétrica.....	87
4.2.6. Espectrometria de emissão óptica com plasma – ICP OES.	93
4.2.7. Avaliação de atividade antimicrobiana.....	94

5. CONCLUSÕES	101
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	104

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 a) Estrutura da unidade tetraédrica básica dos silicatos, $(\text{SiO}_4)^{4-}$; b) Unidades tetraédricas básicas conectadas através do compartilhamento de átomos oxigênio.	26
Figura 2. Classificação dos silicatos de acordo com arranjo dos grupos tetraédricos $(\text{SiO}_4)^{4-}$	27
Figura 3. Modelos de: (A) folha tetraédrica (B) folha octaédrica	28
Figura 4. Modelos de uma estrutura (a) 1:1 e (b) 2:1, respectivamente.	29
Figura 5. (a) folha trioctaédrica; (b) folha dioctaédrica	30
Figura 6. Ciclo de formação das argilas no meio ambiente.....	34
Figura 7. Modelo estrutural da vermiculita.	36
Figura 8. Reações de silanização nas superfícies internas e superfícies externas de argilominerais.	43
Figura 9. Diferentes formas de ancoramento dos organossilanos na superfície contendo grupos silanóis: a) ligação monodentada, b) ligação bidentada e c) ligação tridentada.	44
Figura 10. Esquema da atividade antimicrobiana de argilas modificadas organicamente com sais bactericidas.	49
Figura 11. Esquema da atividade antimicrobiana das argilas modificadas organicamente.....	52
Figura 12. Fluxograma esquemático da ativação ácida da vermiculita.	59
Figura 13. Fluxograma esquemático da reação do 3-cloropropiltrimetoxissilano com os precursores ativados V1, V2, V3, e a vermiculita bruta, V0.	60
Figura 14. Fluxograma esquemático da reação do dos sólidos contendo sinalo com piperazina e com 1,4-bis-(3-aminopropil)piperazina.	61
Figura 15. Esquema experimental de adsorção das matrizes iniciais e finais com cátions metálicos.	62
Figura 16. Esquema experimental do teste de concentração inibitória mínima (CMI)	66
Figura 17. Método colorimétrico com resazurina para leitura visual do teste CIM.	67
Figura 18. Difratoograma de raios X da vermiculita bruta.	69

Figura 19. Difratoigramas de raios X para vermiculita bruta e matrizes ativadas.	71
Figura 20. Vermiculita antes (V0) e após o tratamento de ativação ácida (V1, V2 e V3).	72
Figura 21. Espectros na região do infravermelho para a vermiculita e amostras ativadas por ácido.	72
Figura 22. Isotermas de adsorção e dessorção de nitrogênio para (a) vermiculita bruta e suas matrizes ativadas b) V1, c) V2 e d) V3.	74
Figura 23. Curvas termogravimétricas e suas derivadas da vermiculita bruta e das matrizes ativadas: a) V0; b) V1; c) V2 e d) V3.	77
Figura 24. Esquema sequencial das reações de organofuncionalização por substituição nucleofílica das matrizes ácidas da vermiculita.	80
Figura 25. Difratoigramas de raios X dos sólidos organofuncionalizados: V1-Cl, V1-P e V1-AMP.	81
Figura 26. Difratoigramas de raios X dos sólidos organofuncionalizados: V2-Cl, V2-P e V2-AMP.	81
Figura 27. Difratoigramas de raios X dos sólidos organofuncionalizados: V3-Cl, V3-P e V3-AMP.	82
Figura 28. Esquema generalizado de reação do 3-cloropropiltrimetoxissilano com a vermiculita.	82
Figura 29. Espectros de absorção na região do infravermelho dos sólidos: V1, V1-Cl, V1-P e V1-AMP.	83
Figura 30. Espectros de absorção na região do infravermelho dos sólidos: V2, V2-Cl, V2-P e V2-AMP.	84
Figura 31. Espectros de absorção na região do infravermelho dos sólidos: V3, V3-Cl, V3-P e V3-AMP.	84
Figura 32. Isotermas de adsorção e dessorção de nitrogênio para matrizes sinalizadas: e) V1-Cl, f) V2-Cl e g) V3-Cl.	86
Figura 33. Curvas termogravimétricas e suas derivadas das matrizes organofuncionalizadas com o agente sililante Cl: e) V1-Cl; f) V2-Cl e g) V3-Cl.	88
Figura 34. Curvas termogravimétricas das matrizes organofuncionalizadas com o agente sililante 3-cloropropiltrimetoxissilano e das matrizes ativadas precursoras.	89

Figura 35. Curvas termogravimétricas e suas derivadas das vermiculitas com piperazina: h) V1-P; i) V2-P e j) V3-P.....	90
Figura 36. Curvas termogravimétricas e suas derivadas das vermiculitas com 1,4-Bis-(3-aminopropil)piperazina: k) V1-AMP; l) V2-AMP e m) V3-AMP.	91
Figura 37. Curvas termogravimétricas das matrizes modificadas com piperazina e das matrizes sinalizadas precursoras.	93
Figura 38. Curvas termogravimétricas das matrizes modificadas com 1,4-Bis-(3-aminopropil)piperazina e das matrizes sinalizadas precursoras.	93
Figura 39. Teste de Concentração Inibitória Mínima (CMI), em mg.cm-3 apresentados em microplacas de diluição, com diluição seriada no decorrer das colunas verticais e último micropoço utilizado como controle de crescimento bacteriano (CN), para espécie <i>S. aureus</i> , pelos seguintes sólidos: A) V0Cu001; B) V2-AMPCu001; C) V2-PCu001; D) V0Cu005; E) V2-AMPCu005; F) V2-PCu005; G) V0; H) V1; I) V2; J) V3; K) V1-AMP; L) V2-AMP; M) V3-AMP; N) V1-P; O) V2-P; P) V3-P; Q) V0Zn001; R) V2-AMPZn001; S) V2-PZn001; T) V0Zn005; U) V2-AMPZn005; V) V2-PZn005.....	95
Figura 40. Teste de Concentração Inibitória Mínima (CMI), em mg.cm-3 apresentados em microplacas de diluição, com diluição seriada no decorrer das colunas verticais e último micropoço utilizado como controle de crescimento bacteriano (CN), para espécie <i>E. coli</i> , pelos seguintes sólidos: A) V0Cu001; B) V2-AMPCu001; C) V2-PCu001; D) V0Cu005; E) V2-AMPCu005; F) V2-PCu005; G) V0; H) V1; I) V2; J) V3; K) V1-AMP; L) V2-AMP; M) V3-AMP; N) V1-P; O) V2-P; P) V3-P; Q) V0Zn001; R) V2-AMPZn001; S) V2-PZn001; T) V0Zn005; U) V2-AMPZn005; V) V2-PZn005.....	96

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Classificação de filossilicatos planares.....	31
Tabela 2. Relação de alguns trabalhos com silanização de vermiculitas.	46
Tabela 3. Relação de alguns trabalhos de vermiculitas quimicamente modificadas utilizadas em atividade antimicrobiana.	55
Tabela 4. Dados de pureza e fórmulas moleculares dos reagentes química utilizados.	58
Tabela 5. Propriedades texturais obtidas por medidas de adsorção/dessorção de N ₂ para a vermiculita bruta e ativados. S _{BET} - área superficial específica, V _μ - volume de microporos e D _p - diâmetro médio de poro.....	76
Tabela 6. Dados de perdas de massa obtidas por análise termogravimétrica (TG/DTG) para os sólidos: V0, V1, V2 e V3.	78
Tabela 7. Análise elementar de cloro em porcentagem e em quantidade de matéria por massa de massa dos materiais modificados.	79
Tabela 8. Análise elementar de carbono, hidrogênio e nitrogênio em porcentagem e em quantidade de matéria por massa de massa dos materiais modificados.	79
Tabela 9. Propriedades texturais obtidas por medidas de adsorção/dessorção de N ₂ para os sólidos silanizados. S _{BET} - área superficial, V _μ - volume de microporos e D _p - diâmetro médio de poro.	87
Tabela 10. Dados de perdas de massa obtidas por análise termogravimétrica (TG/DTG) para as matrizes organofuncionalizadas por silanização: V1-Cl, V2-Cl e V3-Cl.	89
Tabela 11. Dados de perdas de massa obtidas por análise termogravimétrica (TG/DTG) para as matrizes organofuncionalizadas com P e AMP: V1-P, V2-P, V3-P, V1-AMP, V2-AMP e V3-AMP.	92
Tabela 12. Quantidade de Cu ²⁺ adsorvido nos ensaios de modificação da Vermiculita bruta e matrizes nitogrenados com cations metálicos.	94
Tabela 13. Quantidade de Zn ²⁺ adsorvido nos ensaios de modificação da Vermiculita bruta e matrizes nitogrenados com cations metálicos.	94
Tabela 14. Concentrações inibitórias mínimas (CMI) em μg.cm ⁻³ da vermiculita bruta, matrizes ativadas, matrizes organofuncionalizadas com aminas cíclicas e matrizes modificadas com espécies metálicas.....	97

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

V0	Vermiculita bruta
V1	Vermiculita ativada com HNO_3 1 mol.dm ⁻³ ;
V2	V2 – Vermiculita ativada com HNO_3 2 mol.dm ⁻³ ;
V3	V3 – Vermiculita ativada com HNO_3 3 mol.dm ⁻³ ;
V0-CI	V0-CI - Vermiculita bruta modificada com o agente sililante 3-cloropopriltrimetoxissilano;
V1-CI	V1-CI – Vermiculita ativada com HNO_3 1mol.dm ⁻³ modificada com o agente sililante 3-cloropopriltrimetoxissilano;
V2-CI	V2-CI – Vermiculita ativada com HNO_3 2 mol.dm ⁻³ modificada com o agente sililante 3-cloropopriltrimetoxissilano;
V3-CI	V3-CI – Vermiculita ativada com HNO_3 3 mol.dm ⁻³ modificada com o agente sililante 3-cloropopriltrimetoxissilano;
V1-P	V1-P – Vermiculita ativada com HNO_3 1 mol.dm ⁻³ modificada com 3-cloropopriltrimetoxissilano, e organofuncionalizada com piperazina;
V2-P	V2-P – Vermiculita ativada com HNO_3 2 mol.dm ⁻³ modificada com 3-cloropopriltrimetoxissilano, e organofuncionalizada com piperazina;
V3-P	V3-P – Vermiculita ativada com HNO_3 3 mol.dm ⁻³ modificada com 3-cloropopriltrimetoxissilano, e organofuncionalizada com piperazina.
V1-AMP	V1-AMP – Vermiculita ativada com HNO_3 1 mol.dm ⁻³ modificada com 3-cloropopriltrimetoxissilano, e organofuncionalizada com 1,4-Bis-(3-aminopropil)piperazina;
V2-AMP	V2-AMP – Vermiculita ativada com HNO_3 3 mol.dm ⁻³ modificada com 3-cloropopriltrimetoxissilano, e organofuncionalizada com 1,4-Bis-(3-aminopropil)piperazina;
V2-AMP	V2-AMP – Vermiculita ativada com HNO_3 2 mol.dm ⁻³ modificada com 3-cloropopriltrimetoxissilano, e organofuncionalizada com 1,4-Bis-(3-aminopropil)piperazina;
V0Cu001	VCu001 – Sólido resultante da vermiculita bruta submetida a um processo de adsorção de Cu^{2+} , a 0,01 mol.dm ⁻³ ;
V2-PCu001	V2-PCu001 - Sólido resultante da matriz V2-P submetida a um processo de adsorção de Cu^{2+} , a 0,01 mol.dm ⁻³ ;
V2-AMPCu001	V2-AMPCu001 - Sólido resultante da matriz V2-AMP submetida a um processo de adsorção de Cu^{2+} , a 0,01 mol.dm ⁻³ ;
V0Cu005	VCu005 – Sólido resultante da vermiculita bruta submetida a um processo de adsorção de Cu^{2+} , a 0,05 mol.dm ⁻³ ;
V2-PCu005	V2-PCu005 - Sólido resultante da matriz V2-P submetida a um processo de adsorção de Cu^{2+} , a 0,05 mol.dm ⁻³ ;
V2-AMPCu005	V2-AMPCu005 - Sólido resultante da matriz V2-AMP submetida a um processo de adsorção de Cu^{2+} , a 0,05 mol.dm ⁻³ ;

V0Zn001	VZn001 – Sólido resultante da vermiculita bruta submetida a um processo de adsorção de Zn^{2+} , a $0,01 \text{ mol.dm}^{-3}$;
V2-PZn001;	V2-PZn001 - Sólido resultante da matriz V2-P submetida a um processo de adsorção de Zn^{2+} , a $0,01 \text{ mol.dm}^{-3}$;
V2-AMPZn001	V2-AMPZn001 - Sólido resultante da matriz V2-AMP submetida a um processo de adsorção de Zn^{2+} , a $0,01 \text{ mol.dm}^{-3}$
V0Zn005	VZn005 – Sólido resultante da vermiculita bruta submetida a um processo de adsorção de Zn^{2+} , a $0,05 \text{ mol.dm}^{-3}$
V2-PZn005	V2-PZn005 - Sólido resultante da matriz V2-P submetida a um processo de adsorção de Zn^{2+} , a $0,05 \text{ mol.dm}^{-3}$
V2-AMPZn005	V2-AMPZn005 - Sólido resultante da matriz V2-AMP submetida a um processo de adsorção de Zn^{2+} , a $0,05 \text{ mol.dm}^{-3}$
CTC	Capacidade de troca catiônica
DRX	Difração de raios X
CIM	Concentração inibitória mínima
TG/DTG	Análise termogravimétrica/derivada
DSC	Calorimetria exploratória diferencial
CHN	Análise elementar de carbono, hidrogênio e nitrogênio
CN	Controle de crescimento bacteriano positivo
NI	Ausência de atividade antimicrobiana
N_{Cl}	Quantidade de matéria por grama de 3-cloropropiltrimetoxissilano ancorado
q	Quantidade de matéria por grama de grupos orgânicos nitrogenados ancorados

RESUMO

Título: Cloropropil vermiculitas modificadas com derivados de piperazina contendo zinco e cobre como agentes antimicrobianos

Autor: Francisco Gilmário Nunes Filho

Orientadora: Prof^a. Dr^a Maria Gardennia da Fonseca

Palavras-chave: vermiculita, ativação ácida, organofuncionalização, adsorção, agente antimicrobiano.

A vermiculita é um filossilicato planar com estrutura 2:1, di ou trioctaédrica, com alto grau de substituições isomórficas e alta carga lamelar cuja neutralidade eletrostática ocorre por cátions hidratados na região interlamelar, comumente Mg^{2+} . A ativação ácida da vermiculita gera grupos Si-OH, que permitem interação covalente com silanos. Neste trabalho, amostras de vermiculita foram ativadas com ácido HNO_3 a 1,00; 2,00 e 3,00 mol.L⁻¹ cujos produtos reagiram com 3-cloropropiltrimetoxisilano. Os sólidos silanizados interagiram com as aminas cíclicas, piperazina (PPZ) e 1,4-Bis-(3-aminopropil)piperazina (APPIP). Os sólidos precursores e organofuncionalizados adsorveram cobre e zinco, os quais foram aplicados como agentes antimicrobianos. A atividade antimicrobiana foi avaliada pelo teste de concentração inibitória mínima (CIM) para espécies *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli*. Os resultados da difração de raios X da vermiculita bruta e dos sólidos ativados mostraram espaçamento basal de 1,42 nm que foi mantido após silanização, indicando a imobilização na superfície externa da vermiculita. As novas bandas, referentes a ligações C-H e C-N presentes nos espectros de infravermelho dos produtos organofuncionalizados, e as perdas de massa referentes a decomposição de matéria orgânica verificada por termogravimetria, demonstraram a presença de grupos orgânicos na matriz inorgânica. Esses resultados foram confirmados por medidas de análise elementar de cloro e de CHN. Os centros básicos nitrogenados complexaram íons de cobre e zinco em meio aquoso. Todos os sólidos resultantes da adsorção com cobre apresentaram bom potencial de atividade antimicrobiana para as duas espécies de bactérias avaliadas, com melhores CIM para *E. coli* de 10,4 e 20,8 mg mL⁻¹.

ABSTRACT

Título: Chloropropyl vermiculites modified with piperazines containing zinc and copper as antimicrobial agents

Author: Francisco Gilmário Nunes Filho

Supervisor: Prof^a. Dr^a Maria Gardennia da Fonseca

Keywords: vermiculite, acid activation, organofunctionalization, adsorption, antimicrobial agent.

Vermiculite is a 2:1 planar phyllosilicate, di or trioctahedric, with high isomorphic substitution and high lamellar charge, which is neutralized by hydrated ions such as magnesium. Acid activation of the vermiculite results in Si-OH sites, which react covalently with silanes. In this present work, vermiculite samples were activated in 1.00, 2.00 and 3.00 mol.L⁻¹ HNO₃ and the leached solids reacted with 3-chloropropyltrimethoxysilane. The silylated solids interacted with two cyclic amines, piperazine (PPZ) and 1,4-Bis-(3-aminopropyl)piperazine (APPIP). Precursor and organofunctionalized solids adsorbed zinc and copper cations and were used as antimicrobial agents. The antimicrobial activity was evaluated through the minimum inhibitory concentration (MIC) tests for *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* bacterias. XRD patterns of the pristine and activated solids indicated that the basal spacings were 1.42 nm before and after silylation, suggesting the immobilization of the silane on external surface of the vermiculite. New bands assigned to C-H and C-N groups were observed in the infrared spectra of the organofunctionalized solids and the mass loss associated to organic matter decomposition in the thermogravimetry curves, demonstrated the presence of organic groups in the inorganic matrix. These data were confirmed by chloride and CHN elemental analysis. The nitrogen basic centers on solids complexed copper and zinc cations from aqueous solution. The copper saturated solids presented good antimicrobial activity for both bacterias and the better MIC values were 10.4 and 20.8 mg/mL for *E. coli*.

Capítulo 1

INTRODUÇÃO

1. INTRODUÇÃO

A contaminação por bactérias é um dos principais entraves em diversos setores da sociedade e uma grande preocupação na área de saúde pública. As infecções diarreicas causadas por bactérias, como a *Escherichia coli*, são uma das causas mais comuns de consultas médicas e levam a altas taxas de mortalidade e morbidade no mundo (ZHANG *et al.*, 2018). O poder de adaptação das bactérias é outro fator preocupante, a *Staphylococcus aureus*, por exemplo, uma bactéria comum no corpo humano, responsável por infecções na pele e pós-operatória, adquiriu resistência a metilina na década de 1960, os clones bacterianos, resistentes, rapidamente se espalharam pelo mundo (DEURENBERG e STOBBERINGH, 2008). Somados à forte adaptação microbiana, hábitos inadequados como uso incorreto de medicamentos e descartes inapropriado de produtos farmacêuticos, corroboram para a resistência bacteriana se configurar como um dos principais problemas da medicina moderna (OMS, 2017).

O desenvolvimento de materiais com a capacidade de inibir o crescimento bacteriano têm sido de grande interesse nos últimos anos devido ao seu uso potencial em produtos de uso diário como tintas, utensílios de cozinha, escolares e hospitalares, e outros.

Os materiais inorgânicos antibacterianos têm várias vantagens sobre os orgânicos tradicionalmente utilizados para este fim; como a estabilidade química, resistência térmica, segurança ao usuário, período de ação de longa duração, etc (LI *et al.*, 2002).

Os materiais inorgânicos antibacterianos são geralmente baseadas em íons metálicos com propriedades antibacterianas, como Ag^+ ou Cu^{2+} , que são carregados para uma matriz sólida por troca iônica. Desde os tempos antigos entre os vários agentes antimicrobianos, a prata tem sido estudada e usada para combater infecções e evitar a deterioração de alimentos (RAI *et al.*, 2006). Atualmente, muitas pesquisas tem focalizado nas propriedades antibacterianas e multifuncionais de nanopartículas de prata (NERSISYAN *et al.*, 2003; JOENG *et al.*, 2005; RAI *et al.*, 2006).

Desta forma, argilas (OHASHI *et al.*, 1998; ZHAO *et al.*, 2006), zeólitas (TOP e ULKU, 2004; RIVERA-GARZA *et al.*, 2000) e outros aluminossilicatos (LI *et al.*, 2002) foram utilizados como transportadores de metais, com bons resultados devido a sua elevada capacidade de troca, elevada área superficial e capacidade de sorção, carga de superfície negativa, inércia química e toxicidade baixa ou nula (CARRETERO, 2002). A argila vermiculita, por exemplo, empregada em diversos trabalhos, modificadas organicamente e/ou com espécies metálicas apresentou atividade bactericida para várias espécies bacterianas (HOLESOVÁ *et al.*, 2010; VALÁSKOVA *et al.*, 2010; HUNDÁKOVÁ *et al.*, 2013; HOLESOVÁ *et al.*, 2014; SAMLÍKOVÁ *et al.*, 2017).

Foi demonstrado que a montmorilonita, trocada com íons metálicos, dispersa em água, atrai e adsorve bactérias carregadas negativamente, apresentando, assim, propriedades antibacterianas (HU e XIA, 2006).

As propriedades de argilominerais como área de superfície e a capacidade de troca catiônica podem ser modificadas através métodos, como tratamento térmico ou moagem mecânica. Outro aspecto é que as argilas são materiais abundantes, de baixo custo e com características promissoras para modificações e obtenção de materiais antimicrobianos.

No presente trabalho a vermiculita, proveniente da região de Santa Luzia – PB, foi ativada por ácido, organofuncionalizadas pela reação de silanização e submetida a reações posteriores com duas piperazinas. Essas espécies orgânicas, ancoradas em superfície inorgânica de sílica gel, mostraram resultados interessantes como agente complexante de metais pesados (ESPÍNOLA *et al.*, 2003). No estudo de Espínola e colaboradores, (2003), as matrizes inorgânicas de sílica sinalizadas reagiram com piperazina, os produtos apresentaram centros básicos (de Lewis) nitrogenados, com eficiência, para remoção de metais, a retenção máxima foi de 0,56; 0,54; 0,26 e 0,24 mmol.g⁻¹ para Cr(III), Cu(II), Mo(III) e Fe(III), respectivamente. Então, explorar metodologias com reações subsequentes das matrizes sinalizadas com moléculas orgânicas, permite uma otimização no processo de organofuncionalização de argilominerais, e obtenção de materiais híbridos com características possivelmente mais promissoras.

Os materiais organofuncionalizados produzidos neste trabalho, foram aplicados na adsorção de íons divalentes de cobre e zinco, no intuito de testar e possivelmente explorar as propriedades antimicrobinas destes metais frente às bactérias da espécie *Escherichia coli* e da espécie *Staphylococcus aureus*. Agentes antimicrobianos utilizando os metais citados, podem trazer maiores vantagens, pois quando comparados com outros metais bactericidas como a prata, são menos tóxicos ao ser humano, biocompatíveis e mais econômicos (TAMAYO *et al.*, 2016).

Assim, objetivou-se nesta investigação a obtenção de materiais híbridos inorgânico-orgânicos com potencial adsortivo para metais, e aplicação dos mesmos como agentes antimicrobianos de baixo custo, eficientes e menos tóxicos.

1.1. OBJETIVOS

1.1.1. Objetivo geral

Obter materiais híbridos inorgânico-orgânicos partindo de vermiculita ativada e silanizada, com posterior modificação com aminas cíclicas e as espécies metálicas Cu^{2+} e Zn^{2+} , afim de avaliar o potencial antimicrobiano dos materiais obtidos.

1.1.2. Objetivo específico

- Obter vermiculitas ativadas e investigar a influência da concentração de ácido nítrico no processo de ativação ácida;
- Obter materiais orgofuncionalizados pela reação da vermiculita ativada com o agente sililante 3-cloropropiltrimetoxissilano;
- Investigar a influência da reação prévia de ativação ácida em processos de silanização;
- Realizar reações subsequentes com as moléculas orgânicas piperazina e 1,4-Bis-(3-aminopropil)piperazina;
- Obter sólidos iniciais e organofuncionalizados com grupos nitrogenados e posteriormente complexados com cobre (II) e zinco (II);

- Caracterizar todos os sólidos pelas técnicas de análise elementar de cloro, análise elementar de carbono, hidrogênio e nitrogênio, análise textural, espectroscopia de absorção na região do infravermelho, análise termogravimétrica e difração de raios X;
- Avaliar o potencial antimicrobiano, a partir da determinação da concentração inibitória mínima (CIM), dos sólidos obtidos por organofuncionalização e complexados com cátions metálicos, para espécies *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli* e comparar com os sólidos precursores.

Capítulo 2

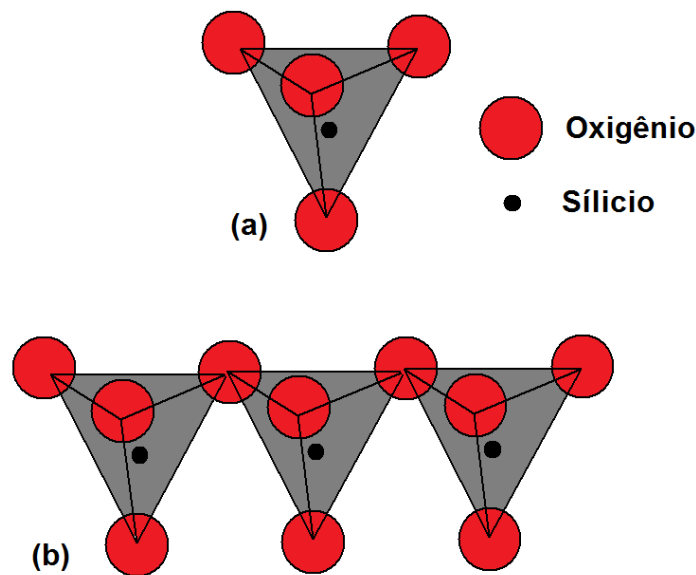
FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. Silicatos

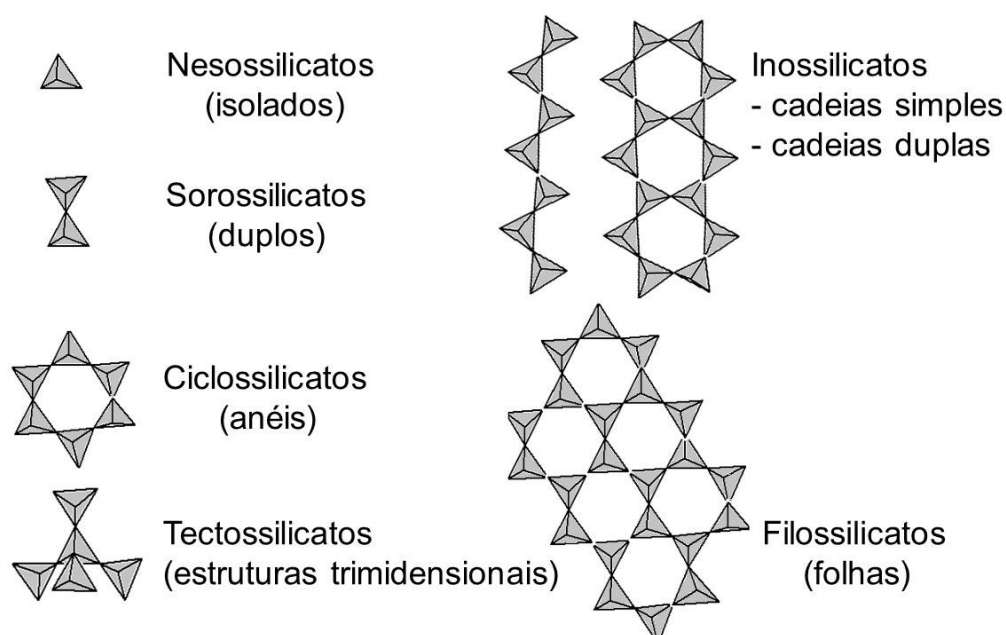
Os silicatos são um grupo de materiais com características diferenciadas, abundantes e com diversas possibilidades de aplicação (FONSECA *et al.*, 2003). Os elementos estruturais básicos dos silicatos são as unidades tetraédricas, $(\text{SiO}_4)^{4-}$, Figura 1.a, na qual o átomo de silício está ligado covalentemente a quatro átomos de oxigênios (YIN *et al.*, 2012). As unidades tetraédricas podem apresentar-se ligadas umas às outras pelo compartilhamento de oxigênios, formando uma matriz bidimensional de átomos, o que caracteriza o processo de polimerização, Figura 1.b (VELDE, 1992).

Figura 1 a) Estrutura da unidade tetraédrica básica dos silicatos, $(\text{SiO}_4)^{4-}$; b) Unidades tetraédricas básicas conectadas através do compartilhamento de átomos oxigênio.



Fonte: Próprio autor.

A representação dos silicatos depende do processo de polimerização das unidades básicas de silício (FONSECA e AIROLDI, 2003). Os tetraedros de sílica podem ocorrer como unidades isoladas, em cadeias simples ou duplas, em folhas, ou em estruturas tridimensionais (SPOSITO, 2008). A classificação dos silicatos apresenta dependência destas disposições e agrupamentos das unidades básicas de silício, ilustrado na Figura 2.

Figura 2. Classificação dos silicatos de acordo com arranjo dos grupos tetraédricos (SiO_4)⁴⁻.

Fonte: Próprio autor.

Dentre as classes de silicatos, a que possui maior aplicação na química de materiais são os filossilicatos (BERGAYA e LAGALY, 2013). Esses materiais pertencem a classe de silicatos hidratados de alumínio, magnésio e ferro, que compõem a fração de rochas, sedimentos e solos de grão fino, são comumente, os principais componentes das argilas e constituem a classe dos argilominerais (RITZ *et al.*, 2014). Apesar de serem extensamente estudados, as superfícies inorgânicas destes materiais continuam sendo muito utilizadas como suportes e em processos de modificação química (ALVES *et al.*, 2013; MOREIRA *et al.*, 2017; NASCIMENTO *et al.*, 2016), apresentando possibilidades de novas aplicações científicas e tecnológicas.

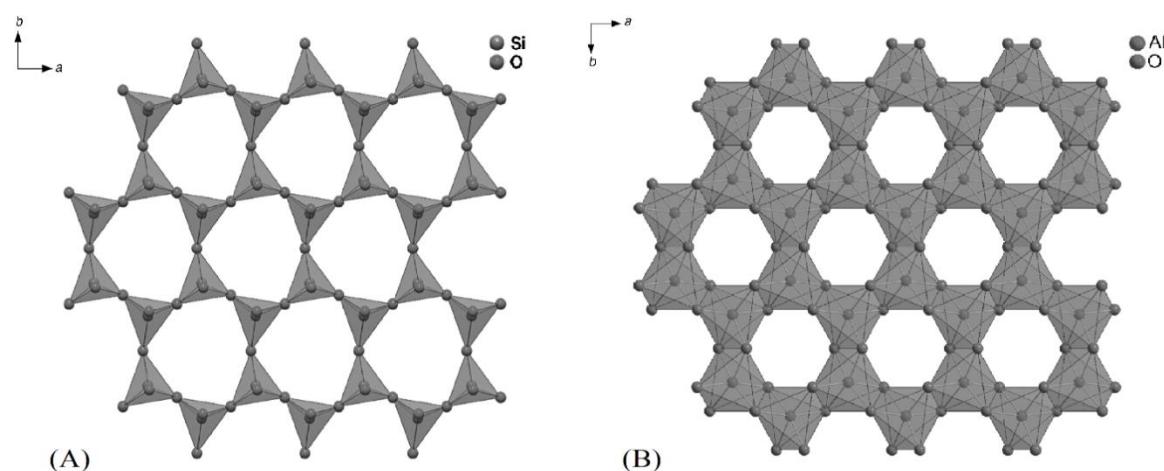
2.2. Filossilicatos

Os filossilicatos são estruturas dispostas em camadas (LEE e TIWARI, 2012). As camadas são formadas por folhas nanométricas tetraédricas e octaédricas (YIN *et al.*, 2012). A folha tetraédrica, Figura 3.A, é constituída por unidades tetraédricas de cátions T ($\text{T} = \text{Si}^{4+}$ predominantemente, Al^{3+} e Fe^{3+}) ligados covalentemente a quatro átomos de oxigênio, e ligados aos tetraedros adjacentes, através do compartilhamento dos vértices, por meio dos átomos de

oxigênio, denominados oxigênios basais, O_b , formando um padrão hexagonal infinito ao longo das direções cristalográficas a e b (BRIGATTI e LAGALY, 2013). O quarto oxigênio, que não se encontra no plano hexagonal e aponta na direção cristalográfica c é denominado oxigênio apical, O_a (BERGAYA *et al.*, 2011). Verifica-se a presença de buracos ou cavidades entre a rede hexagonal, estes são importantes nos processos de atração entre os planos tetraédricos basais sucessivos e a união das folhas das estruturas (VELDE, 1992).

A folha octaédrica, Figura 3.B, é composta por unidades de $[MO_4(OH)_2]$ ($M = Al^{3+}$, Fe^{3+} , Mg^{2+} , Fe^{2+} , mais comumente, e Li^+ , Mn^{2+} , Co^{2+} , Ni^{2+} , Cu^{2+} , Zn^{2+} , V^{3+} , Cr^{3+} ou Ti^{4+}) que se conectam uma a outra por meio do compartilhamento das bordas (BERGAYA *et al.*, 2011). Nos vértices livres se encontram os átomos de O_a , que apontam para o mesmo lado da folha e ligam as folhas tetraédricas e octaédricas formando um plano comum com a posição dos ânions octaédricos (comumente OH^- , O^{2-}). Esses encontram-se perto do centro de cada anel de seis tetraedros, mas não são compartilhados com os mesmos (BRIGATTI e LAGALY, 2013). Na união entre as folhas tetraédrica e octaédrica ocorrem distorções nas disposições das respectivas estruturas, pois os íons na folha tetraédrica não podem se “encaixar” perfeitamente aos sítios da folha octaédrica, assim para a junção das duas folhas, os pares de tetraedros devem girar, alterando a disposição hexagonal simétrica. Outras distorções verificadas na folha octaédrica também são comuns (SPOSITO, 2008).

Figura 3. Modelos de: (A) folha tetraédrica (B) folha octaédrica



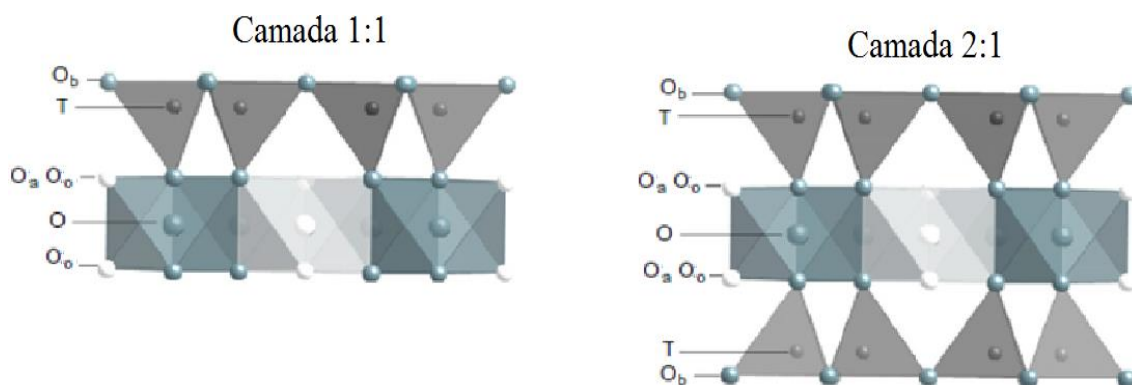
Fonte: adaptada de Bergaya *et al.*, 2011.

As camadas individuais dos filossilicatos são compostas de duas, três ou quatro folhas (LEE e TIWARI, 2012). A disposição das folhas tetraédricas e octaédricas na construção das camadas é um princípio básico de classificação para diferentes grupos de argilominerais planares (YIN *et al.*, 2012).

As estruturas do tipo 1:1, ou TO, consistem na repetição de camadas formadas por uma folha tetraédrica (T) e uma folha octaédrica (O) (BERGAYA *et al.*, 2011), Figura 4.a. Cada camada possui cerca de 0,7 nm de espessura. A configuração dessas camadas gera dois tipos de superfície, uma composta inteiramente de átomo de oxigênio O_b , pertencente a folha tetraédrica, enquanto a outra superfície é composta por oxigênio dos octaedros e grupos hidroxílos, OH (O_o), provenientes da folha octaédrica (BRIGATTI *et al.*, 2013).

Nas estruturas do tipo 2:1, ou TOT, cada camada é formada por uma folha octaédrica entre duas folhas tetraédricas, Figura 4.b. As folhas tetraédricas são invertidas e dois terços dos grupos hidroxila dos octaedros são substituídos por átomos de oxigênio apicais tetraédricos. Ambas as superfícies de tal camada são constituídas por átomos de O_b tetraédricos (BRIGATTI *et al.*, 2013).

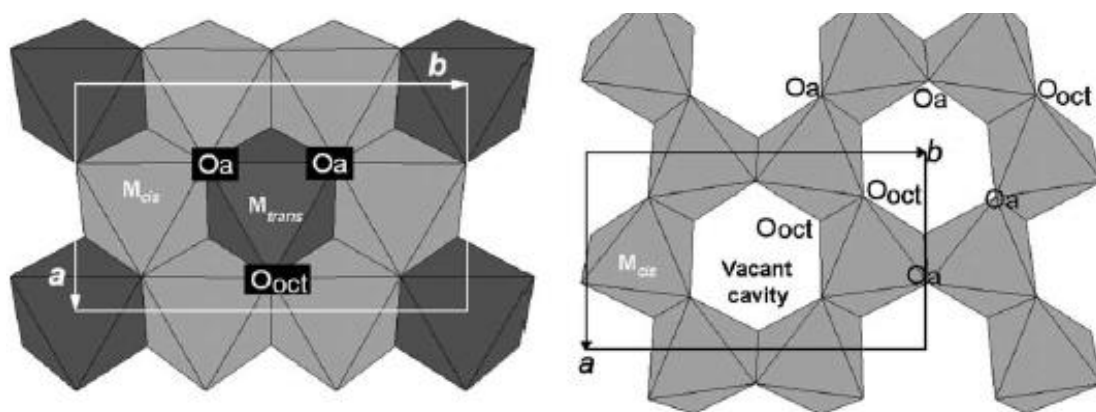
Figura 4. Modelos de uma estrutura (a) 1:1 e (b) 2:1, respectivamente.



Fonte: adaptada de BRIGATTI *et al.*, 2013.

A célula unitária de estruturas 2:1, é caracterizada por seis sítios octaédricos e oito sítios tetraédricos. A ocupação dos sítios octaédricos gera dois tipos de estrutura para esses filossilicatos. Estruturas com todos os seis sítios octaédricos ocupados são conhecidos como trioctaédrica, Figura 5.a. Se apenas quatro dos seis sítios octaedros estiverem ocupados, a estrutura é referida como dioctaédrica, Figura 5.b (BRIGATTI *et al.*, 2013).

Figura 5. (a) folha trioctaédrica; (b) folha dioctaédrica



. Fonte: adaptada de BRIGATTI *et al.*, 2013.

Em determinados filossilicatos uma carga permanente é verificada na superfície dos mesmos como resultado de substituições isomórficas. Esse fenômeno é caracterizado por substituições de cátions estruturais das camadas do argilomineral, que são, geralmente, trocados por cátions de carga menor, acarretando deficiência de carga positiva. Exemplos comuns são a substituição da espécie Si^{4+} por Al^{3+} na folha tetraédrica e a substituição de Al^{3+} por Mg^{2+} na folha octaédrica (SCHOONHEYDT e JOHNSTON, 2013). A neutralidade eletrostática é alcançada pela presença de cátions trocáveis entre as camadas estruturais (espaço interlamelar) (WAKOU e KALINICHEV, 2014).

Os cátions presentes entre as camadas do tipo 2:1 podem se apresentar anidros ou hidratados, assim a distância interlamelar está relacionada às dimensões do cátion e às camadas de água de hidratação presentes (COELHO *et al.*, 2007). A presença dos cátions no espaço interlamelar interfere nas propriedades superficiais dos argilominerais, podendo polarizar os átomos de oxigênio da superfície conferindo hidrofiliabilidade ao material (SCHOONHEYDT e JOHNSTON, 2013). Propriedades características de determinadas espécies de filossilicatos também estão correlacionadas com a presença dos cátions trocáveis, em montmorilonitas por exemplo, a afinidade por água dos cátions interlamelares, somada às forças eletrostáticas relativamente fracas entre as camadas levam a uma fácil hidratação destes cátions na presença de água, e

consequentemente ao inchaço da argila, ou seja, expansão do tamanho do espaço interlamelar (WAKOU e KALINICHEV, 2014).

Na ausência de substituições isomórficas e sítios de defeitos cristalinos, a superfície do argilomineral é composta apenas de átomos de oxigênio envolvidos em ligações Si-O, estes grupos têm um carácter covalente considerável e a superfície é hidrofóbica (SCHOONHEYDT e JOHNSTON, 2013). A região interlamelar se encontra vazia e as lamelas adjacentes apresentam interações fracas entre si, principalmente do tipo van der Waals (FONSECA e AIROLDI, 2003). Neste contexto, a classificação dos filossilicatos é norteadada em semelhanças na composição química e na estrutura cristalina, os principais grupos estão ilustrados na Tabela 1.

Tabela 1. Classificação de filossilicatos planares.

Grupo	Tipo de camada	Carga lamelar	Caráter da folha octaédrica	Principais representantes
Serpentinas caulim	1:1	0	Tri	Amesita, cronstetita, odinita
Talco-pirofilita	2:1	0	Di	Caulinita, haloisita, Pirofilita e talco
Esmeclita	2:1 Com cátions trocáveis hidratatos	0,2-0,6	Tri	Pirofilita
Vermiculita	2:1 Com cátions trocáveis hidratatos	0,6-0,9	Tri	Hectorita, saponita
Mica verdadeira (flexível)	2:1 Com cátions trocáveis monovalentes e não-hidratado	0,6-1,0	Di	Montmorilonita
Mica frágil	2:1 Com cátions trocáveis divalentes e não-hidratado	1,8-2,0	Tri	Vermiculita trioctaédrica
Clorito	2:1 Folha de hidróxido	Variável	Di	Vermiculita dioctaédrica
			Tri	Biotita, flogotipa
			Di	Ilita, muscovita
			Tri	Anandita, cintonita
			Di	Margarita
			-	Penantita
			Di	Donbassita
			Tri, Di	Coqueita, sudoita

Fonte: Adaptado de BERGAYA e LAGALY, 2013.

2.3. Argilas e argilominerais

2.3.1. Definição e propriedades típicas

Os termos, argilomineral, até então considerados neste trabalho como um grupo de minerais que compreende filossilicatos hidratados, e argila, grupo de minerais constituídos principalmente por filossilicatos, são difíceis de definir, ambos os termos muitas vezes são usados indistintamente na literatura, e carregam significações de diversas áreas de conhecimento, devido a extensão de aplicação destes materiais. Assim, para evitar ambiguidades, neste trabalho adotou-se as recomendações do JCN [Comitê de Nomenclatura Conjunta da AIPEA (Associação Internacional de Estudos em Argila) e da CMS (Sociedade de Minerais de Argila)], que aconselha a utilização do termo argilomineral para estruturas cristalográficas determinadas com precisão, e o termo argila para uma abordagem mais macroscópica, compreendendo-se como argilominerais misturados com outros minerais adicionais como impurezas (BERGAYA *et al.*, 2011; BERGAYA e LAGALY, 2013; CARRADO, 2004).

As argilas são materiais abundantes, de baixo de custo e ambientalmente seguros, conhecidas e utilizadas pelos seres humanos desde a antiguidade (BERGAYA e LAGALY, 2013). São minerais dotados de propriedades especiais, como a capacidade de certas argilas de mudar de volume, absorvendo água e íons para sua estrutura, denominada capacidade de inchaço ou expansão. Essa característica gera uma classificação entre estes materiais, podendo ser designadas como expansíveis e não-expansíveis (BERGAYA *et al.*, 2011; VELDE, 1992). Outro ponto relevante é o pequeno diâmetro dos grãos minerais, inferior a 2 μm (micrometro), e sua configuração cristalográfica, que é semelhante a uma folha, no caso filossilicatos. Estes dois fatores dão às argilas uma área superficial geralmente muito alta em relação à massa de material, o que proporciona capacidade adsorção de água, propriedade comum a todos os materiais de grão fino. Algumas delas trazem a água para a sua estrutura, fenômeno denominado absorção (VELDE, 1992).

Principais constituintes das argilas, os argilominerais apresentam uma estrutura em camadas nanométricas, a anisotropia das camadas ou partículas, a existência de diversos tipos de superfícies, a facilidade de modificação (por

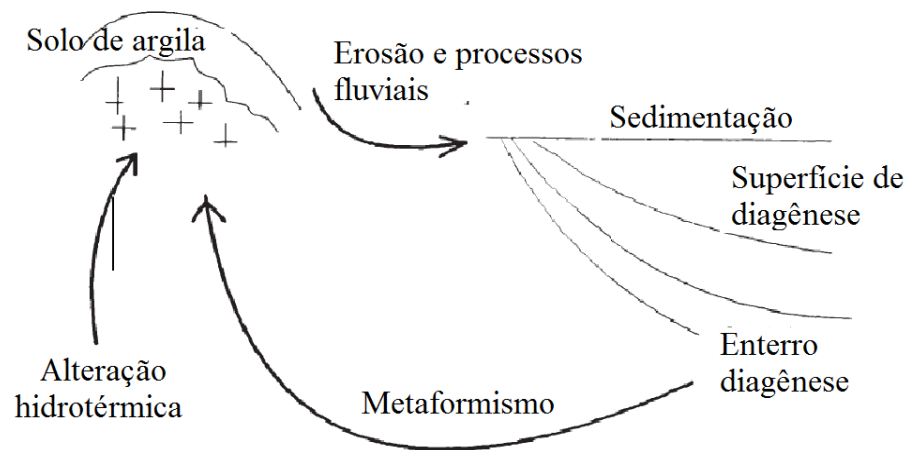
adsorção, troca iônica, silanização, entre outros), plasticidade, e endurecimento por secagem ou queima. Em contraposição às argilas, algumas espécies de argilominerais podem ser sintéticos e não conter filossilicatos (BERGAYA e LAGALY, 2013). As interações no interior da camada são fortes, devido as ligações covalentes (com contribuições iônicas devido a diferença de eletronegatividade entre os átomos), enquanto as interações entre camadas estão relacionadas com carga lamelar do material e geralmente são fracas, ou seja, as mesmas podem se separar, gerando o espaço interlamelar (BERGAYA *et al.*, 2011).

2.3.2. Ocorrência e formação geológica

As argilas são parte integrante do ambiente geológico, ocorrendo na superfície de solos, sedimentos continentais e marinhos, depósitos vulcânicos, campos geotérmicos, intrusão de rochas plutônicas, fluidos hidrotermais e rochas metamórficas (GÁLAN e FERREL, 2013).

Segundo Velde, (1992), as argilas nascem e desaparecem em um ciclo, Figura 6, que consiste na sua formação na superfície através de erupções vulcânicas e movimento de placas, erosão no solo devido agentes intempéricos, sedimentação após transporte fluvial, metaformismo que pode transformar as argilas em micas e outras fases não argilosas, assim como, a rocha metamórfica pode ser arrastada para superfície para formar solos de argila, reiniciando o ciclo. A alteração hidrotérmica também é responsável pela formação de argilas, onde alguns minerais em rochas cristalinas sofrem interação com soluções químicas naturais agressivas. Ambos os processos são relativamente semelhantes (VELDE, 1992).

Figura 6. Ciclo de formação das argilas no meio ambiente.



Fonte: Adaptado de Velde, 1992.

Em decorrência da constituição do substrato geológico brasileiro, que dispõe de extensas coberturas sedimentares, aliado à evolução geomorfológica, ocorre a geração de expressivas coberturas residuais intempéricas, assim os depósitos de argilas possuem ampla distribuição geográfica em todo território nacional (JUNIOR et al, 2005).

O Estado da Paraíba se destaca no quadro de produção nacional de argilominerais, por possuir importantes jazidas de bentonita, localizadas no município de Boa Vista. A produção brasileira de bentonitas alcançou 434 mil toneladas (t) em 2013 (DPMN, 2015). A produção de vermiculita também encontra destaque no estado paraibano, com jazidas na região de Santa Luzia (URGATE et al, 2005), bem como a produção de caulinitas e muscovita, na região do Seridó (LUZ, et al, 2005; CAVALCANTE et al, 2005).

2.4. Vermiculita

2.4.1. Formação geológica e ocorrência

A vermiculita é um argilomineral formado por intemperismo ao longo de zona de falha até a profundidade de 100 m, percolação de águas subterrâneas ou alteração hidrotermal a baixa temperatura, menor que 350°C, de micas, biotita, flogopita, olivina, piroxênio, hornblenda, diopsídio, serpentito, ou outros minérios argilosos (MOUZDAHIR et al., 2009; RITZ et al., 2014; VALÁSKOVÁ et

al., 2018). Geralmente, a transformação de micas em vermiculitas é observada em três estágios, o despreendimento de íons potássio (K^+), oxidação do ferro estrutural e hidroxilação, verificando-se a expansão do espaço interlamelar pela introdução de íons Mg^{2+} hidratados (ALEXANDRE-FRANCO *et al.*, 2011).

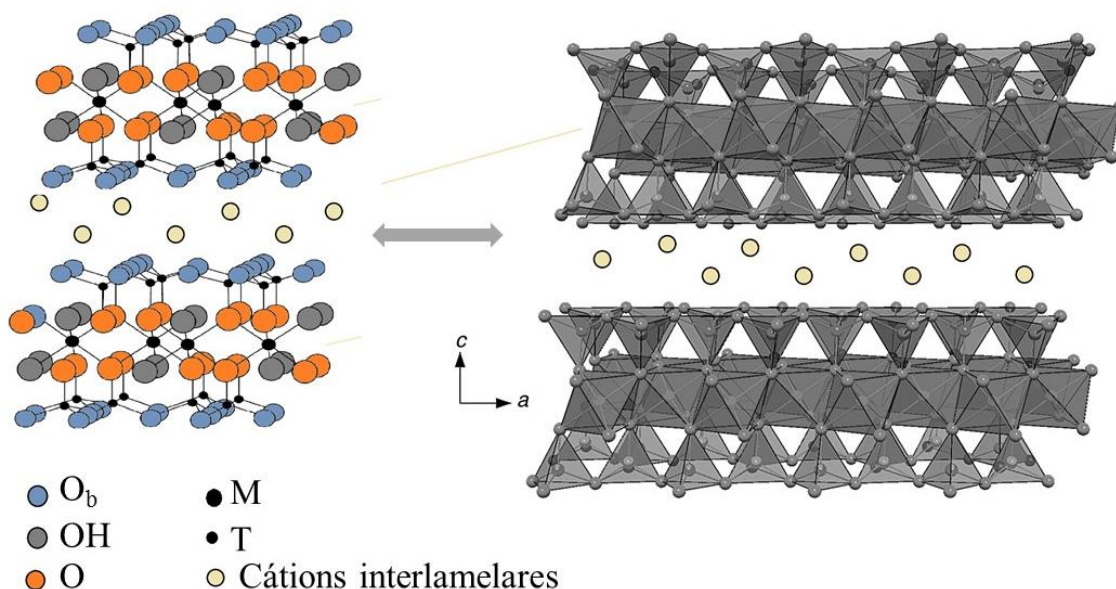
Os depósitos de vermiculita ocorrem, principalmente, em quatro tipo de rochas hospedeiras, máficas e ultramáficas, gnaisses e xistos, carbonáticas, e graníticas (RITZ *et al.*, 2014). No Brasil, há depósitos e jazidas de vermiculitas nos estados da Paraíba, Goiás e Piauí (UGARTE *et al.*, 2005). Os minérios brasileiros contêm menor quantidade de abestos, o que confere maior valor agregado ao material, além de favorecer aproveitamento econômico. As vermiculitas de Santa Luzia (PB) e Sanclerlândia (GO) são compostas de camadas mistas interestratificadas de vermiculita com outras fases mineralógicas, talco, hidrobiotita, biotita e flogopita (UGARTE *et al.*, 2005; KUPKOVÁ *et al.*, 2015). Devido a semelhanças estruturais, micas e vermiculitas geralmente ocorrem em uma ordem mista de empilhamento em que um cristal individual pode ser composto de ambas espécies (ALEXANDRE-FRANCO *et al.*, 2011). Vermiculitas brutas, assim, comumente pertencem a classe de filossilicatos de camada mista ou filossilicatos interestratificados (VALÁSKOVÁ *et al.*, 2018). De acordo com Bergaya e colaboradores (2011), a interestratificação é um fenômeno comum que pode ser considerado como um intercrescimento de diferentes tipos de camadas ao longo do eixo *c*, ou seja, ao longo da direção de empilhamento. A presença de outras fases está diretamente associada a formação do material e afeta suas propriedades (HARRAZ e HAMDY, 2010).

2.4.2. Estrutura e propriedades gerais

A vermiculita, Figura 7, é um argilomineral pertencente à classe de filossilicatos hidratados do tipo 2:1, (BERGAYA e LAGALY, 2013) encontrando-se, na forma dioctaédrica, ${}^{IV}(Si_{4-x}Al_x)({}^{IV}Fe_{2-y}Mg_y)O_{10}(OH)_2(x+y)M^+$, e mais comumente com estrutura trioctaédrica, ${}^{IV}(Si_{4-x}Al_x)({}^{IV}Mg_{3-y}M_y^{3+})O_{10}(OH)_2(x+y)Mg^{2+}$ (BERGAYA *et al.*, 2011). Apresenta coloração variante do bronze ao amarelo-amarronzado, com brilho perolado típico (UGARTE *et al.*, 2008). Os cátions mais comuns nas folhas tetraédricas (T) são Si^{4+} e Al^{3+} .

Enquanto nas folhas octaédricas encontramos, geralmente, os cátions Mg^{2+} , Al^{3+} e Fe^{2+} (DUMAN *et al.*, 2015).

Figura 7. Modelo estrutural da vermiculita.



Fonte: Adaptado de Bergaya *et al.*, (2011); Sposito, (2008).

Uma carga lamelar negativa é observada nas superfícies das vermiculitas, decorrente de substituições isomórficas, descritas anteriormente, comumente ocorre a substituição de Si^{4+} por Al^{3+} em sítios tetraédricos e a substituição de Al^{3+} por Mg^{2+} ou por cátions de carga menor nos octaedros (SCHOONHEYDT e JOHNSTON, 2013). A carga das camadas varia de 0,6 e 0,9 para meia célula unitária e confere hidrofilicidade ao argilomineral (BERGAYA e LAGALY, 2013; SCHOONHEYDT e JOHNSTON, 2013), sendo neutralizada pela presença de cátions hidratados de metais alcalinos e alcalino-terrosos na região interlamelar (QUEIROGA *et al.*, 2016). Naturalmente, verifica-se no espaço interlamelar a presença de cátions Mg^{2+} , e, menos comumente, em pequenas quantidades as espécies Ca^{2+} e Na^{+} (ALEXANDRE-FRANCO *et al.*, 2011; CARRADO, 2004).

Os cátions presentes no espaço entre as camadas são trocáveis, o que caracteriza uma importante propriedade da vermiculita, a alta capacidade de troca catiônica (CTC), que varia entre 90 e 150 cmol/Kg (centimol por quilograma de material) (SANTOS *et al.*, 2016). Além disso, os cátions interferem nas

propriedades superficiais da vermiculita, a carga nos átomos de oxigênio em contato com cátions interlamelares é maior do que na ausência dos mesmos, ou seja, eles atuam como cargas pontuais polarizando os oxigênios com os quais estão em contato (SCHOONHEYDT e JOHNSTON, 2013). A região interlamelar da vermiculita se apresenta entre 1,2 e 1,5 nm, valores maiores são observados quando as moléculas de água são trocadas por diferentes moléculas polares (SCHOONHEYDT e JOHNSTON, 2013), a variação também está diretamente associada ao grau de hidratação dos cátions presentes no espaço interlamelar (KUPKOVÁ *et al.*, 2015).

A região terminal de camada na vermiculita é conhecida como superfície externa ou de borda. Essa é uma região característica de defeitos cristalinos, associados à quebra de ligações em grupos terminais da camada, o que pode ser compensado pela formação de grupos hidroxilas, conduzindo a sítios ácidos Bronsted tais como o grupo silanol (Si-OH). Além disso, espécies Al^{3+} e Mg^{2+} são facilmente formados nesta superfície e atuam como sítios de ácido de Lewis (LAMBERT e PONCELET, 1997 *apud* KOMADEL e MANDEJOVÀ, 2013). A carga da superfície está condicionada ao pH, que altera a protonação/desprotonação dos grupos silanóis terminais e de metais expostos (YIN *et al.*, 2012). Esta é responsável por grande parte da reatividade da vermiculita, associada diretamente aos grupos silanóis, principalmente frente a reações ácido-base (BERGAYA *et al.*, 2011).

2.4.3. Métodos de modificação de argilominerais

Os métodos de modificação química de argilominerais, incluindo a vermiculita, visam alteração nas propriedades físicas e químicas da espécie precursora no intuito de ampliar as suas aplicações. Nesse sentido, faz-se necessário contextualizar o campo de aplicação das vermiculitas para que se possa entender melhor a necessidade de modificação química.

A vermiculita apresenta uma diversidade de propriedades interessantes relacionadas às suas características estruturais, em particular, elevada carga lamelar e estrutura em camadas mistas (RITZ *et al.*, 2014). Além disso, em comparação com outros argilominerais como montmorilonita, hectorita e saponita, a vermiculita possui geralmente o menor custo e possui uma maior

CTC (FERNÁNDEZ *et al.*, 2013). Desse modo, esse material encontra uma variedade de aplicações industriais e científicas.

Em geral, a aplicação específica da vermiculita depende de sua granulometria (UGARTE *et al.*, 2005). As de granulometria mais grossa são utilizadas principalmente para fins de horticultura enquanto que as de granulometria mais fina são aplicadas na produção de tintas, lubrificantes e agregados leves na construção civil (FILHO *et al.*, 2018; CIMINELLI, 2005; CAVALCANTE *et al.*, 2005), como isolante térmico e acústico (LINS, 2005), carreadores na produção de fertilizantes e alimentação animal (LUZ e ALMEIDA, 2005). Sua baixa elasticidade, baixa densidade e elevadas capacidades de adsorção permitem que a vermiculita seja também usada na composição de materiais para embalagens de uma variedade de produtos industrializados (UGARTE *et al.*, 2005).

A vermiculita apresenta capacidade adsorvente (DUMAN *et al.*, 2016), configurando-se como um matéria-prima promissora, eficiente e de baixo custo, para a remoção de poluentes aquáticos específicos e de difícil tratamento, como corantes catiônicos (DUMAN *et al.*, 2015; STAWINSKI *et al.*, 2016), fertilizantes (LI *et al.*, 2017), e metais pesados tais como as espécies Ag^+ , Pb^{2+} , Cu^{2+} , Ni^{2+} , Cs^+ , Mn^{2+} , Zn^+ (DLUGOSZ e BANACH, 2018; NASCIMENTO *et al.*, 2016; GHARIN NASHTIFAN *et al.*, 2017; YIN *et al.*, 2017; KEBABI *et al.*, 2017; de FREITAS *et al.*, 2017).

Somadas as propriedades naturais, este argilomineral também é passível a diversos tratamento físicos e químicos, geralmente práticos e pouco dispendiosos, que tornam o material mais prospectivo a aplicação (ALVES *et al.*, 2013). Dentre as principais rotas de modificação de argilominerais como a vermiculita, podemos destacar processos físicos como moagem, ativação térmica, e processos químicos como a adsorção, troca iônica com íons orgânicos ou inorgânicos, ligações e interações entre grupos orgânicos e inorgânicos, principalmente na superfície de bordas de camada, intercalação de compostos orgânicos, reações com ácidos, pilarização, polimerização e desidroxilação (BERGAYA e LAGALY, 2013).

Um exemplo de tratamento bastante utilizado e que confere múltiplas aplicações industriais a vermiculita é a expansão térmica. Quando o

argilomineral é rapidamente aquecido a altas temperaturas, de 250 °C a 1500 °C, as moléculas de água evaporam e aumentam o volume de partículas, até 1500 vezes, obtendo-se materiais leves e volumosos (HARVEY e LAGALY, 2013; MARCOS *et al.*, 2009). Na forma expandida, a vermiculita é quimicamente ativa, biologicamente inerte, apresentando propriedades interessantes, tais como baixa condutividade térmica, baixa densidade aparente, resistência e inércia química, e ponto de fusão relativamente elevado, encontrando utilidades no campo da engenharia civil, indústria química e agricultura (ALEXANDRE-FRANCO *et al.*, 2011; HARVEY e LAGALY, 2013; RASHAD, 2016; WEI e LI, 2017).

A combinação de vermiculita com nanopartículas de óxidos metálicos vem se mostrando interessante em processos de decomposição fotocatalítica, como a fotocatalise do óxido de dinitrogênio, N₂O (VALÁSKOVÁ *et al.*, 2016; VALÁSKOVÁ *et al.*, 2018). Modificações no espaço interlamelar deste argilomineral também são possíveis. Apesar da baixa capacidade de expansão, devido a alta carga lamelar que dificulta o inchaço da vermiculita, tornando difícil a dispersão de suas partículas (PERALTA *et al.*, 2018), as moléculas de água interlamelares podem ser trocadas por moléculas orgânicas polares, gerando caráter hidrofóbico, de modo que as propriedades adsorptivas para moléculas orgânicas, como polímeros, são reforçadas (LAGALY *et al.*, 2013; ISÇI, 2017). Moléculas orgânicas neutras podem formar complexos com os cátions trocáveis, sendo que estes também podem ser substituídos por cátions orgânicos (LAGALY *et al.*, 2013).

Tendo em vista a importância do processo ativação ácida e da reação de silanização da vermiculita, para compreensão deste trabalho, ênfase será dada a estes dois métodos de modificação química.

2.4.3.1. Ativação ácida

A ativação ácida é um processo bastante utilizado para otimização das propriedades físico-químicas e químicas da vermiculita. O tratamento utilizando ácido, promove a dissolução de cátions presentes nas camadas estruturais da argila, modificando sua estrutura (KOMADEL, 2016). Vários tipos de ácido são empregados para este tratamento incluindo os ácidos inorgânicos, como ácido

clorídrico, ácido sulfúrico e ácido nítrico, bem como ácidos orgânicos, como ácido acético, ácido cítrico e ácido oxálico (KUPKOVÁ *et al.*, 2015).

As características dos produtos finais estão diretamente associadas a composição das vermiculitas naturais e ao tamanho inicial das partículas (PERALTA *et al.*, 2018; ALVES *et al.*, 2013; LIU *et al.*, 2017). As condições de reação tais como temperatura, tempo de reação, natureza e quantidade do ácido utilizado, também são fatores determinantes para eficiência do processo (CHMIELARZ *et al.*, 2014; SANTOS *et al.*, 2015). Então, esta operação necessita de estudos prévios para otimizar a manipulação em função da aplicação desejada.

O tratamento ácido pode ser dividido em duas etapas, a substituição de cátions interlamelares por espécies H_3O^+ e dissolução de alumínio, ferro e magnésio das camadas estruturais (KOMADEL, 2016; KOMADEL e MANDEJOVÁ, 2013). Verificou-se que a ordem de dissolução em vermiculita é $\text{Fe}^{3+} < \text{Al}^{3+} < \text{Mg}^{2+}$, independente do ácido utilizado (clorídrico, nítrico ou sulfúrico) (CHMIELARZ *et al.*, 2012; SANTOS *et al.*, 2015). Esse processo aumenta significativamente a área superficial específica, carga negativa global, porosidade e sítios ácidos da argila (KOMADEL, 2016, SANTOS *et al.*, 2015). Os produtos dessas reações contêm sílica amorfa, ativada, porosa, protonada e hidratada com uma estrutura tridimensional reticulada (KOMADEL e MANDEJOVÁ, 2013). A sílica ativada é um material de grande interesse industrial, contudo, suas rotas de síntese são complicadas e dispendiosas. Nesse sentido, a ativação de argilominerais por tratamento ácido é uma metodologia promissora para tal finalidade, devido a simplicidade e baixo custo (WANG *et al.*, 2016).

Diversos estudos com a ativação ácida de vermiculita têm sido reportados, que evidenciam a relevância deste procedimento. Wang e colaboradores, (2016), investigaram o efeito da concentração do ácido, variando de 1, 2, 3 e 4 mol.dm^{-3} de HCl a 323 K durante 8 h, e do tempo, 2, 4, 8, 12 e 16 h para 2 mol.dm^{-3} de HCl a 323 K, no tratamento de vermiculita, obtendo produtos com elevada área superficial até 751 $\text{m}^2.\text{g}^{-1}$ para o sólido ativado com 2 mol.dm^{-3} por 8 h.

Vermiculitas tratadas com diferentes tipos de ácidos (HCl, H₂SO₄ e HNO₃) apresentaram atividade catalítica na reação de redução seletiva do óxido de nitrogênio, NO, com amônia, NH₃ (DeNO_x) (CHMIELARZ *et al.*, 2010; CHMIELARZ *et al.*, 2012) e para o processo de decomposição de N₂O a alta temperatura, destacando-se, nesse contexto, as vermiculitas tratadas com ácido sulfúrico (CHMIELARZ *et al.*, 2014). Segundo os estudos de Chmielarz e colaboradores, (2014), essa propriedade é atribuída a transferência dos componentes cataliticamente ativos durante o processo de ativação ácida, especialmente o ferro, das posições não disponíveis, folhas octaédricas, para pontos acessíveis, nas superfícies da vermiculita, onde os cátions são depositados na forma de óxidos.

A ativação ácida também é aplicada para o aumento da capacidade adsorptiva da vermiculita. O tratamento com ácido nítrico, seguido do tratamento com ácido cítrico, aumentou a capacidade de adsorção para corantes, Azul de Metileno (MB) e Astrazon Red (AR) (STAWINSK *et al.*, 2016). Em um estudo mais recente, Stawinsk e colaboradores, (2017), demonstram que um tratamento adicional a ativação ácida, com hidróxido de sódio, NaOH, aumentou ainda mais a capacidade de adsorção do material para os corantes citados. Segundo o estudo, o tratamento básico remove parte da fase amorfa formada durante a ativação ácida sobre o material, aumentando a sua cristalinidade e sua área superficial. Assim, as propriedades melhoradas da vermiculita tratada com ácido oferecem novas perspectivas para o uso deste adsorvente no tratamento de águas residuais (STAWINSK *et al.*, 2016).

As vermiculitas naturais contém baixas concentrações de grupos silanóis, devido ao fato de que eles, geralmente, só ocorrem na superfície de bordas das partículas (ALVES *et al.*, 2014). Um aspecto de grande relevância nos processos de ativação ácida da vermiculita, é o aumento do número destes grupos na superfície da argila, formados durante o tratamento, onde as ligações rompidas são compensadas pela formação do grupo OH, que por consequente tornam o material resultante mais reativo (KOMADEL, 2016). Assim, as matrizes ativadas podem ser utilizadas como suporte para outras reações, como a reação de sinalização, que ampliam suas possibilidades de aplicação (NASCIMENTO *et al.*, 2016; SANTOS *et al.*, 2016).

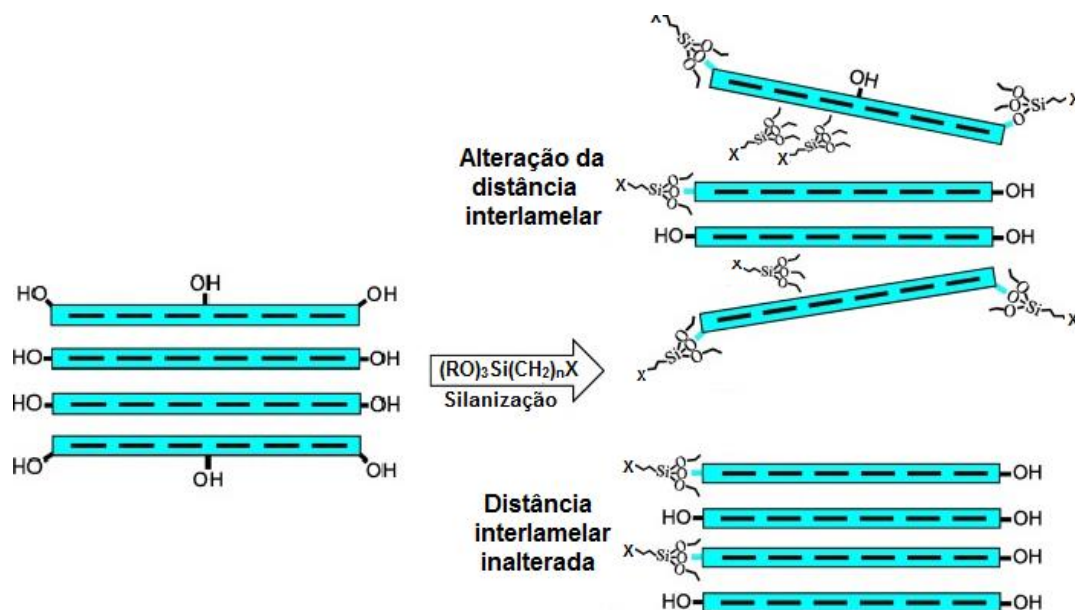
2.4.3.2. Reação de silanização

A reação de silanização consiste na fixação por meio de ligações covalentes de derivados de triorganosilil, principalmente espécies como trimetilalcóxissilil, com os grupos silanóis (radical alcóxi e hidroxilas superficiais) do argilomineral (ARAKAKI e AIROLDI, 1999). A interação covalente entre componentes orgânicos e minerais argilosos permite uma imobilização mais efetiva das espécies orgânicas nos produtos silanizados, ou organofuncionalizados, evitando lixiviação dos mesmos para as soluções circundantes (AVILA *et al.*, 2010; HE *et al.*, 2013).

A silanização provou ser uma maneira eficiente de organofuncionalizar as superfícies de argilominerais (AVILA *et al.*, 2010; LAGALY *et al.*, 2013). Geralmente, o principal propósito desta reação é a obtenção de materiais híbridos, com propriedades que combinam a estabilidade física da fase inorgânica com a reatividade dos grupos orgânicos (RUIZ-HITZKY, 2003). Essa reação apresenta vantagens em relação a outros processos de organofuncionalização, comparando com a modificação de argilas com surfactante por troca catiônica, os produtos silanizados apresentam maior área de superfície específica, maior estabilidade térmica e ligação mais estável com grupos funcionais orgânicos (ASGARI *et al.*, 2017; LIU *et al.*, 2017; PISCITELLI *et al.*, 2010).

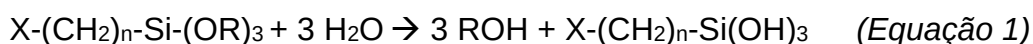
Os agente sililantes mais utilizados são os do tipo bifuncional: $Y_3Si-R-X$, onde a aplicabilidade é determinada pelas reatividades dos seus grupos X, estando esta função orgânica X no extremo da cadeia orgânica, R é normalmente formado por três grupos metilenos, ligados ao átomo de silício. Por outro lado, Y pode ser um haleto, porém mais comumente é encontrado como grupo alcóxido. (ARAKAKI e AIROLDI, 1999). Os agentes sililantes podem reagir com grupos silanóis na superfície interna das camadas dos argilominerais, alterando o espaçamento interlamelar, e com grupos silanóis da superfície externa das camadas ou das bordas. Quando as reações ocorrem apenas na superfície externa ou na extremidade das camadas o espaçamento interlamelar, geralmente, mantêm-se inalterado, Figura 8 (FERNÁNDEZ *et al.*, 2013; DI GIANNI *et al.*, 2008; PISCITELLI *et al.*, 2010; SHANMUGHARAJ *et al.*, 2006).

Figura 8. Reações de silanização nas superfícies internas e superfícies externas de argilominerais.



Fonte: Adaptada de ASGARİ e SUNDARARAJ, 2018.

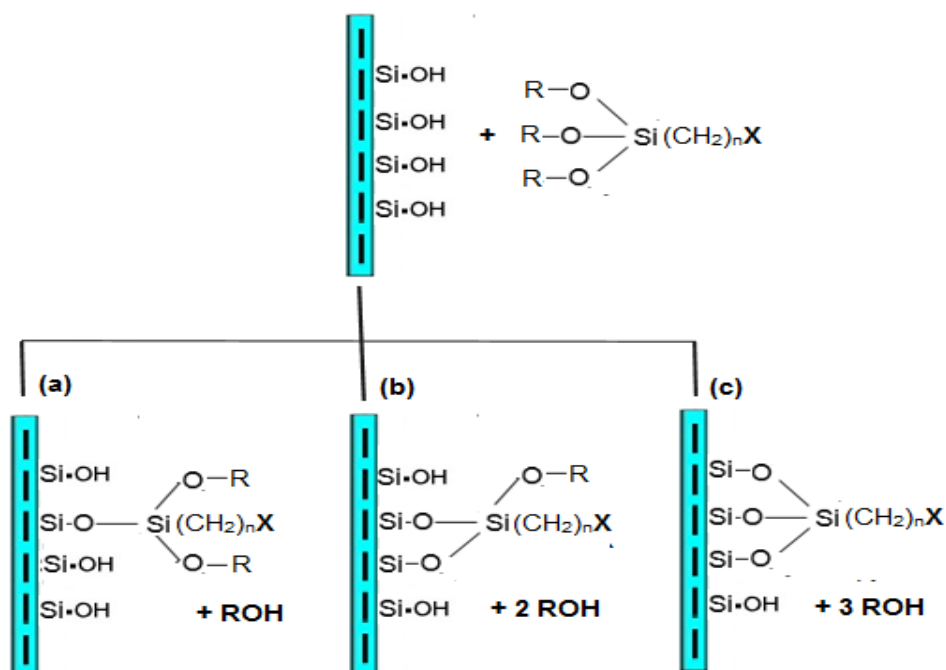
Segundo Ailroldi e Fonseca, (2003), dois métodos para o processo de silanização de superfícies inorgânicas podem ser destacados. O primeiro consiste na funcionalização por hidrólise de silanos em presença de água proveniente do substrato mineral, a seguinte equação de reação é proposta para este método (COELHO *et al.*, 2007):



Contudo, este método mostrou-se inconveniente, dentre outros problemas, por ser difícil controlar a extensão da oligopolimerização em solução, gerada pela hidrólise e condensação entre os grupos silanóis vizinhos, formando ligações siloxanos (Si-O-Si), resultando em coberturas de superfície não reproduzíveis (COELHO *et al.*, 2007).

O segundo método é caracterizado pela funcionalização envolvendo a formação de ligações covalentes via condensação dos silanóis, na ausência de água, que podem ocorrer de forma mono, bi ou tridentada, Figura 9 (ARAKAKI e AIROLDI, 1999; FONSECA e AIROLDI, 2003).

Figura 9. Diferentes formas de ancoramento dos organossilanos na superfície contendo grupos silanóis: a) ligação monodentada, b) ligação bidentada e c) ligação tridentada.



Fonte: Próprio autor

Uma maior efetividade da reação é observada para a rota em condições anidras, com uso de agentes sililantes e solventes puros, como também a eliminação por aquecimento da água superficial presente na matriz inorgânica precursora (SANTOS *et al.*, 2016). Desse modo, o tratamento térmico adequado a que a amostra será submetida poderá ser decisivo sobre a natureza do produto final (ARAKAKI e AIROLDI, 1999). Outros fatores podem ser destacados para o sucesso das reações de sinalização:

a) reatividade dos argilominerais: este fator está relacionado, principalmente, a densidade de superfície de hidroxilas (grupos silanóis) disponíveis para interagir covalentemente com o agente sililante (SANTOS *et al.*, 2016). Argilominerais do tipo 2:1, como a vermiculita, contém a princípio maior quantidade de superfícies de siloxanos, apresentando baixa reatividade (BERGAYA e LAGALY, 2013). Contudo, a existência de defeitos cristalinos (substituição isomórfica, vacâncias e quebra de ligação) pode aumentar a reatividade destas superfícies, como também, o tratamento com ácido, já discutido anteriormente. A alta concentração de grupos hidroxilas nas bordas dos argilominerais, devido a presença de ligações rompidas, configuram essa

região como importante centro para a reação de sinalização (HE *et al.*, 2013; PISCITELLI *et al.*, 2010).

b) Características do agente sililante: a sinalização depende da estrutura, concentração e reatividade dos silanos, que está relacionada ao tamanho da cadeia orgânica e ao grupo funcional X (HE *et al.*, 2013; BISCHOFF *et al.*, 2015). A funcionalidade desejada é atribuída ao grupo pendente da fração orgânica, X, deve ser projetado de acordo com o destino desejado para o material final (ARAKAKI e AIROLDI, 1999; SILVA *et al.*, 2013).

c) Condições de reações: a temperatura, tempo, atmosfera de reação a quantidade do silano e natureza do solvente estão diretamente associados com a extensão e efetivação da silanização (HE *et al.*, 2013). A exemplo, Piscitelli *et al.*, (2010), demonstraram que a elevação da temperatura e da concentração de diferentes aminossilanos leva a um aumento da quantidade de ligações químicas formadas entre os silanos e as superfícies do argilomineral. Asgaria e colaboradores (2017), também investigaram a influência da concentração do silano [γ -aminopropiltrietoxissilano (APTES)] na funcionalização de montmorilonita sódica. Verificou-se que a intercalação e a reação de silanização aumentam com o aumento da concentração inicial do agente sililante. A quantidade máxima de silano intercalada, 0,504 mmol APTES/g de argila, foi observada para um concentração inicial de 9 mmol APTES/g de argila, em concentrações maiores o grau de intercalação foi menor, porém a maior quantidade de silano quimicamente ancorado, 0,18 mmol APTES/g de argila, foi verificada para uma concentração de 15 mmol APTES/g de argila.

Uma atenção extra deve ser concedida a importância do solvente. Os passos fundamentais da sinalização, adsorção e/ou intercalação seguida da condensação do silano com os grupos silanóis, estão diretamente associadas ao poder de dispersão do solvente e sua energia superficial (ASGARI *et al.*, 2018; HE *et al.*, 2013). A polaridade do solvente também está correlacionada ao grau de silanização, a estrutura e propriedades dos produtos obtidos (BISCHOFF *et al.*, 2015; SU *et al.*, 2013).

No estudo de Su e colaboradores, (2013), verificou-se que uma maior quantidade silano (3-aminopropiltrimetoxissilano) reagiu com o argilomineral (montmorilonita) na presença de solventes apróticos não polares (em tolueno

17,4% e em ciclohexano 17,8%), em comparação com a reação conduzida em solventes próticos polares (em etanol 13,3% e em isopropanol 15,6%). Segundo os autores, o poder de solvatação de solventes próticos diminui a disponibilidade e reatividade dos grupos silanóis nas superfícies do argilomineral, estes solventes também apresentam maiores valores de constante dielétrica, isso ocasiona formação de ligações de hidrogênio entre o silano e solvente, dificultando a aproximação do mesmo para a superfície do argilomineral. Em contraste, os solventes apolares apróticos possuem pouca capacidade de solvatação e não formam ligações de hidrogênio, levando a um maior grau de condensação entre as moléculas do silano e a superfície mineral.

A introdução de grupos funcionais orgânicos promove propriedades específicas ao suporte inorgânico, viabilizando aplicação dos mesmos em processos de remediação ambiental (SILVA *et al.*, 2013; MOREIRA *et al.*, 2017). O argilomineral vermiculita organofuncionalizado com agentes sililantes, por exemplo, vem sendo utilizada em diversos trabalhos para remoção de metais pesados em meio aquoso, que são poluentes ambientais bastante nocivos e que apresentam grandes dificuldades de tratamento efetivo (DIAZ *et al.*, 2007; NASCIMENTO *et al.*, 2016; SANTOS *et al.*, 2016; TRAN *et al.*, 2015).

A vermiculita na sua forma natural ou previamente tratada, apresenta diversidade de possibilidades de reações de organofuncionalização com vários agentes sililantes, como apresentado na Tabela 2.

Tabela 2. Relação de alguns trabalhos com silanização de vermiculitas.

Condições da vermiculita	Agente sililante	Referência
Pilarizada (Anidra)	3-mercaptopropiltrimetoxissilano	DIAZ <i>et al.</i> , 2007.
Trocada com Na ⁺ (Anidra)	3-mercaptopropiltrimetoxissilano	NASCIMENTO <i>et al.</i> , 2016.
Bruta (Via hidrólise)	3-mercaptopropiltrimetoxissilano e mercaptoetilamina	TRAN <i>et al.</i> , 2015.
Tratada com HNO ₃ (Anidra)	3-cloropropiltrimetoxissilano (reação subsequente com imidazol)	SANTOS <i>et al.</i> , 2016.
Bruta	3-glicidoxipropiltrimetoxissilano	FERNÁNDEZ <i>et al.</i> , 2013
Tratada com HNO ₃	3-cloropropiltrimetoxissilano (reação subsequente com diaminas de cadeia crescente)	AVELINO, 2013.
Tratada com HNO ₃	3-glicidoxipropiltrimetoxissilano	ALVES <i>et al.</i> , 2013

Outra vantagem nas reações de silanização é a possibilidade de novas reações para o material, devido o ancoramento de novos grupos químicos na matriz inorgânica disponíveis para reagir. Assim, as matrizes organofuncionalizadas com silanos podem ser exploradas a partir de novas reações químicas subsequentes, para ampliar a possibilidade de aplicações mais específicas.

Santos e colaboradores (2016), utilizaram a vermiculita silanizada com 3-cloropropiltrimetoxissilano em uma reação subsequente com o composto imidazol. Os resultados mostraram sucesso no processo de ancoramento e o produto mostrou melhor capacidade de adsorção de íons Cu^{2+} em meio aquoso, em relação à vermiculita precursora. No estudo de Avelino, (2013), a vermiculita organofuncionalizada com 3-cloropropiltrimetoxissilano reagiu subsequentemente com diaminas alifáticas de cadeia crescente, 1,2-etilenodiamina, 1,4-butildiamina e 1,6-hexildiamina. Os produtos obtidos mostraram eficiência na remoção de fármacos em meio aquoso. No trabalho de Oliveira, (2012), a vermiculita silanizada com 3-cloropropiltrimetoxissilano também foi empregada em reações subsequentes, neste caso com o composto 1-(2-aminoetil)piperazina. Os produtos resultantes apresentaram propriedades adsorventes para cátions metálicos em solução aquosa.

Explorar metodologias com reações subsequentes das matrizes sinalizadas com moléculas orgânicas, permite uma otimização no processo de organofuncionalização de argilominerais, e obtenção de materiais híbridos com características possivelmente mais promissoras.

2.5. Atividade antimicrobiana

2.5.1. Atividade antimicrobiana de argilominerais

Atualmente grande parte dos surtos de doenças no mundo são causados por bactérias sejam elas aquáticas ou presentes em alimentos (UNUABONAH *et al.*, 2018). Entre as espécies bacterianas de maior envolvimento em processos tóxicos e infecciosos pode-se destacar a *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) e a *Escherichia coli* (*E. coli*) (LEVY *et al.*, 2004). A *E. coli* é um bacilo Gram-negativo, presente na microbiota intestinal de animais de sangue quente

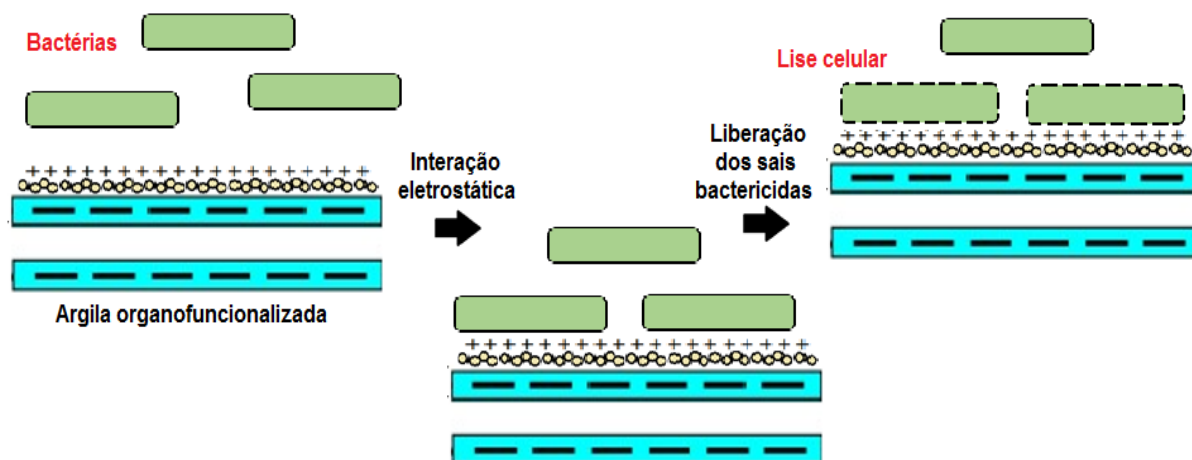
(CUNHA, 2006). Essa espécie está associada a infecções no trato urinário, sepse, meningites neonatais e é responsável por distúrbios de diarreia e disenteria, causando mais de 502 mil mortes diarreicas por ano relacionadas, somente, a água contaminada (OMS, 2017; OMS, 2015). A *S. aureus* apresenta-se como um coco Gram-positivo, está associada a infecções na pele e em pacientes imunocomprometidos. Essa espécie produz toxinas que podem permanecer nos alimentos após o cozimento, e já foi relacionada a mais de 45% dos casos de intoxicações alimentares no mundo (BRESOLIN *et al.*, 2005). Nos países em desenvolvimento, os patógenos citados levam a elevadas taxas de morbidade e mortalidade (UNUABONAH *et al.*, 2018).

Outra ameaça crescente à saúde pública é a resistência antimicrobiana das bactérias. A resistência bacteriana à antibióticos tem aumentado a uma taxa preocupante, devido ao uso e descarte incorreto de medicamentos e mutações gênicas sofridas por estes microorganismos patogênicos (ROY *et al.*, 2017), se configurando como um dos principais problemas da medicina moderna (OMS, 2017). Segundo a OMS (2015), as espécies *E. coli* apresentam resistência à cefalosporinas e fluoroquinolonas, enquanto a *S. aureus* demonstra resistência à metilicina. Sendo assim, agentes antibióticos tradicionais não estão funcionando, o que aumenta os riscos e custos para o combate à tais agentes infecciosos que podem acarretar diversos problemas relacionados saúde pública e em outros setores da sociedade.

Diante deste quadro, o interesse por materiais com atividade antimicrobiana é crescente e tem motivado diversas pesquisas, cabe destacar as investigações conduzidas com argilas, que se apresentam como uma matéria-prima de baixo custo com características promissoras para obtenção de tais materiais.

Uma questão importante refere-se ao mecanismo de ação antimicrobiano do material. No trabalho de Wu *et al.*, (2011), a ação antibacteriana dos argilominerais organofílicos foi descrita pelas seguintes etapas: adsorção das células bacterianas por interações eletrostáticas; liberação dos sais bactericidas que coagulam e irrompem a membrana plasmática, acabando por interferir na fisiologia normal da célula causando a morte da mesma. O processo é ilustrado na Figura 10.

Figura 10. Esquema da atividade antimicrobiana de argilas modificadas organicamente com sais bactericidas.



Fonte: próprio autor.

No estudo de Kang e colaboradores (2013), por exemplo, a argila pirofilita foi utilizada para investigar a adesão de bactérias *E. coli* sobre a superfície mineral. Os resultados demonstraram que o material foi eficaz na remoção da bactéria (94%, mesmo em concentrações de $0,1 \text{ mmol.dm}^{-3}$, velocidade de fluxo de $0,3 \text{ mL.min}^{-1}$, e $\text{pH} = 7,1$).

O emprego de argilas naturais em estudos de ação antimicrobiana ainda é pouco verificado, porém as argilas modificadas com espécies inorgânicas e/ou orgânicas, vem demonstrando propriedades interessantes como agentes bactericidas.

Materiais híbridos obtidos pela modificação da argila montmorilonita com clorhexidina, mostraram boa atividade contra *E. coli* (HE *et al.*, 2006). Compósitos da argila bentonita sódica com polímeros catiônicos a base de amida, modificados com ésteres de amônio quaternário apresentaram uma atividade antimicrobiana para bactéria *E. coli* melhorada, em comparação aos polímeros individuais, além de demonstrar regeneração completa dos filtros utilizados para retenção das bactérias, usando HCl ou NaClO (UNDABEYTIA *et al.*, 2014). Nanocompósitos de micelas de cátions orgânicos, benzildimetil-exadecilamônio e octadeciltrimetilamônio, com montmorilonita apresentam testes positivos para remoção de bactérias gram negativas (*E. coli*), gram positivas (*Bacillus megaterium*) e um parasita protozoário, *Cryptosporidium*

parvum, em meio aquoso (SHTARKER-SASI *et al.*, 2013). Wu e colaboradores, (2011), investigaram as propriedades antimicrobianas de quatro argilas, montmorilonita, vermiculita, paligossquita e caulim, intercalados com sal de fósforo quaternário, brometo de tetradeciltributílfosfônio, sobre *E. coli* e *S. aureus*, por testes de concentração inibitória mínima (CIM). No estudo, a montmorilonita apresentou maior atividade antimicrobiana, esta foi atribuída a um efeito combinado de três fatores: capacidade de liberação do sal de fósforo, carga superficial e tamanho de partícula.

Muitos dos mecanismos que procuram explicar a ação antibacteriana de argilas encontram-se em discussão, generalizações e uma correlação entre os mesmos apresentam certa dificuldade, visto que a ação contra microorganismos está condicionada ao tipo da argila e suas propriedades superficiais, ao tratamento específico que a mesma sofreu, às condições e tipo de análise, e ao tipo de microorganismo.

Em seu estudo, Underbeytia e colaboradores, (2014), propõem que o potencial positivo observado na superfície do composto da argila organicamente modificada em estudo, promove a aderência das bactérias, seguida de interações eletrostáticas fortes diretas que causariam uma segregação de componentes da membrana celular. Uma alta concentração de monômeros catiônicos na proximidade de bicamadas de fosfolípidos irá introduzir grande número de pontos de contato interrompendo a continuidade da bicamada pela intercalação dos grupos bactericidas hidratados entre os grupos principais de fosfolípidos negativamente carregados, impedindo sua função de isolamento e restauração posterior, e produzindo lise celular.

Argilominerais modificados com espécies inorgânicas também se apresentam como bons agentes antimicrobianos, destacando os materiais modificados com íons metálicos, principalmente com íons prata (Ag^+), cobre (Cu^{2+}) e zinco (Zn^{2+}), geralmente obtidos por reações de troca iônica, e com posterior redução do metal para formação das nanopartículas; e nanomateriais com propriedades fotocátlicas (LI *et al.*, 2008; HOLESOVÁ *et al.*, 2013; ROY *et al.*, 2017; UNUABONAH *et al.*, 2018, XU *et al.*, 2011). As propriedades bactericidas dependem da espécie metálica e tamanho, estrutura e superfície das partículas nanométricas (TAMAYO *et al.*, 2016). Os metais podem atuar

como agentes bactericidas ou bacteriostáticos, ou seja, formam interações com as bactérias que podem comprometer sua estrutura e suas funções vitais (UNUABONAH *et al.*, 2018; NOURI *et al.*, 2018). Porém, a toxicidade de íons metálicos pode gerar problemas aos seres humanos e ao meio ambiente. Assim, nanopartículas metálicas atuam como um reservatório para a liberação controlada dos íons metálicos, amenizando o problema de toxicidade (TAMAYO *et al.*, 2016). Geralmente estes materiais nanométricos apresentam maior desempenho antimicrobiano quando mantém boa distribuição de tamanho de partícula, no entanto as nanopartículas, de prata por exemplo, têm forte tendência a formar agregados devido a instabilidade decorrente da relação superfície/volume, assim os argilominerais servem como suportes que podem solucionar tal problema (RAI *et al.*, 2009; ROY *et al.*, 2017; NOURI *et al.*, 2018).

Dentre os metais com propriedades antimicrobianas a prata, certamente, merece maior destaque. Este metal, aparece desde a década de 1960 como um importante agente antibactericida contra *S. aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* (*P. aeruginosa*) e *E. coli*, além de apresentar diversos outros empregos antimicrobianos (RAI *et al.*, 2009). Apesar da ampla dominância no emprego de prata como agente antibactericida, os nanocompósitos de zinco e cobre são cada vez mais utilizados para finalidades antimicrobianas. Nanopartículas de zinco e cobre apresentam vantagem de baixa toxicidade, quando comparados a prata e outros metais pesados, biocompatibilidade, são mais econômicos e geram materiais com propriedades eficientes em atividade antimicrobiana (TAMAYO *et al.*, 2016).

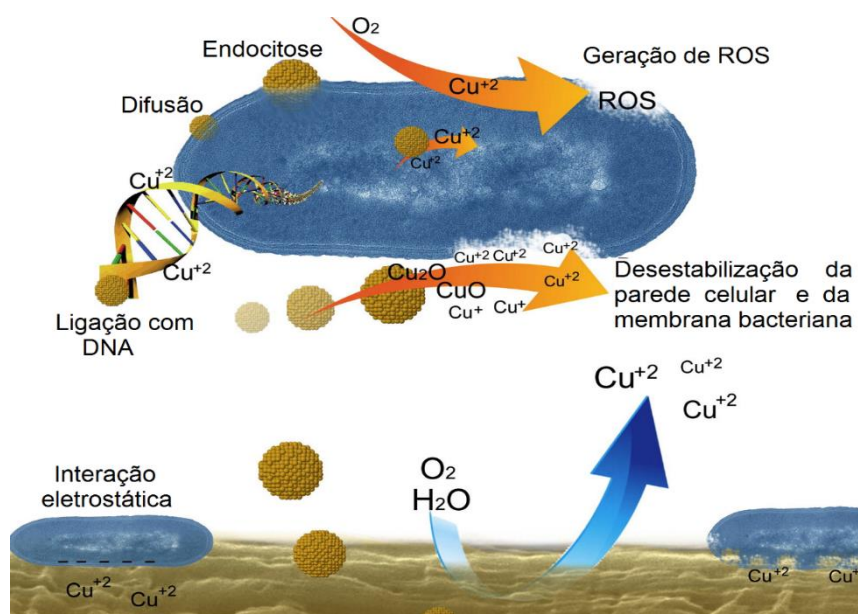
Os mecanismos de ação antimicrobiana dos metais ainda não são totalmente bem elucidados, são comumente propostos de acordo com as mudanças estruturais e morfológicas observadas na bactéria específica.

Estudos apontam que os íons prata interagem eletrostaticamente através de interações dipolo-dipolo com constituintes da membrana bacteriana, tais como grupos carboxílo, fosfato e hidroxílo, de caráter negativo presentes em lipoproteínas, causando deformação na parede celular, também penetram nas células desnaturando proteínas citoplasmáticas, inibindo processos vitais, e assim, levam a distorção e morte do microorganismo. Além disso, a prata

prejudica a replicação da bactéria ao reagir com o DNA bacteriano (RAI *et al.*, 2009; ROY *et al.*, 2017).

Os mecanismos de ação antibacteriana de nanopartículas de cobre também foram bastante estudados, mantendo grande semelhança com ação da prata. Segundo Tamayo e colaboradores, (2016), a ação biocida dos nanomateriais de cobre são norteados em três fenômenos, esquematizados na Figura 11:

Figura 11. Esquema da atividade antimicrobiana das argilas modificadas organicamente.



Fonte: adaptado de TAMAYO *et al.*, 2016

- a) Liberação de íons cobre: os íons Cu^{2+} são liberados, atingindo a membrana externa ou a parede celular das bactérias, onde interagem com grupos tióis, aminas e carboxílos, causando desnaturação de proteínas locais. As interações desestabilizam e causam sérios danos a membrana bacteriana, esse efeito é conhecido como bacteriolítico. Adentrando nas células, os íons cupricos se ligam ao DNA, resultando na desorganização dentro e fora das estruturas helicoidais, impedindo que célula se replique. Os íons Cu^{2+} também geram espécies reativas de oxigênio (ROS) que agredem de forma descontrolada os componentes celulares por meio, principalmente, de peroxidação lípida e oxidação protéica.

- b) Liberação de nanopartículas de cobre: as nanopartículas de cobre ligam-se a superfície bacteriana por meio de interações eletrostáticas, podem traspasar a membrana externa ou parede celular através dos processos de endocitose, onde a membrana bacteriana envolve as nanopartículas (entre 10 e 100 nm) pela formação de complexos lipídicos, ou difusão direta, quando a nanopartícula (< 10 nm) penetra a membrana por meio de uma forte interação de natureza hidrofílica ou hidrofóbica. Paralelamente, as nanopartículas liberam íons, que desencadeiam os efeitos citados anteriormente.
- c) Inibição de biofilmes: as nanopartículas de cobre na superfície de nanocompósitos reduzem significativamente a hidrofobicidade da superfície celular e inibem substâncias poliméricas extracelulares, que desempenham um papel importante na ligação das células bacterianas à superfície, na formação e maturação de biofilmes.

Ambas as rotas de obtenção de materiais antimicrobianos a partir de argilominerías apresentam vantagens e desvantagens. Os materiais antibacterianos inorgânicos apresentam maior estabilidade relativa, porém geralmente suas rotas de síntese exigem condições mais rigorosas; a atividade do material está comumente condicionada ao estado de oxidação do metal utilizado na modificação o que pode acarretar determinados problemas de aplicação e a utilização de metais pesados exige maiores cuidados com relação a problemas de contaminação ambiental e toxicidade. Assim, a escolha de metais com menor toxicidade e biocompatíveis, como cobre e zinco, é uma alternativa bastante promissora para obtenção de materiais com propriedades antimicrobianas, mais efetivos e mais aplicáveis. Os materiais antibacterianos orgânicos, apresentam algumas vantagens em termos de síntese e aplicação, porém geralmente perdem no requisito de estabilidade (HE *et al.*, 2006).

2.5.1.1. Atividade antimicrobiana de vermiculita

No caso particular da vermiculita, apesar de, ainda, não se constatar atividade antibactericida no material bruto (PLACHÁ *et al.*, 2014), seus

respectivos produtos de modificações químicas vêm demonstrando resultados interessantes como materiais antimicrobianos.

Estudos de vermiculitas organicamente modificada em diferentes proporções com diacetato de clorohexidina preparadas por reações de troca iônica apresentaram ampla atividade antimicrobiana frente *Enterococcus faecalis* (*E. faecalis*), *E. coli*, *Pseudomonas aeruginosa* (*P. aeruginosa*), *P. aeruginosa*, e *S. aureus* (HOLESOVÁ *et al.*, 2010; HOLESOVÁ *et al.*, 2014; SAMLÍKOVÁ *et al.*, 2017). No trabalho de Holesová e colaboradores, (2014), além da avaliação da atividade antibacteriana de vermiculitas organicamente modificadas com o clorohexidina, onde todos os materiais apresentaram boa atividade contra *E. coli*, *E. faecalis*, *S. aureus*, e menos pronunciadamente contra *P. aeruginosa* (apenas a amostra com maior concentração de clorohexidina inibiu com sucesso o crescimento bacteriano), durante exposições de 24 h; no mesmo estudo, testes *in vivo* foram conduzidos, excluindo a toxicidade da vermiculita em um organismo modelo de mamíferos, caracterizando esta argila como um suporte promissor para novos tipos de biomateriais e nanocompósitos com ação antibacteriana prolongada (HOLESOVÁ *et al.*, 2014).

No estudo de Plachá *et al.*, (2014), a vermiculita sódica, bem como montmorilonita sódica, foram organofuncionalizadas pela modificação com os cátions brometo de hexadeciltrimetilamônio (HDTMA) e monohidrato de cloreto de hexadecilpiridínio (HDP) com concentrações correspondentes a 20% e 50% da CTC para vermiculita, e todos os sólidos resultantes mostraram, a partir do teste de CIM, boa atividade de inibição contra bactérias Gram positivas *S. aureus* e Gram negativas *Y. Pestis*. Em comparação com os resultados com vermiculita-clorohexidina, os presentes materiais não apresentaram atividade contra *E. coli*.

As vermiculitas modificadas com íons metálicos também apresentaram atividade antimicrobiana (DRELICH *et al.*, 2011; HUNDÁKOVA *et al.*, 2013; VALÁSKOVÁ *et al.*, 2010). No estudo de Valášková e colaboradores, (2010), as reações de troca com íons prata na vermiculita e montmorilonita, levaram a obtenção de materiais com menor tamanho de partícula, maior área superficial específica e maior porosidade. Neste trabalho, os produtos de prata/vermiculita apresentaram ação inibidora de crescimento bacteriano

(*Klebsiella pneumoniae* e *Pseudomonas aeruginosa*) durante seis dias de teste, com ação mais efetiva do que os produtos prata/montmorilonita.

Um material com atividade funcional antimicrobiana foi obtido a partir da vermiculita saturada com íons cobre, que posteriormente foram reduzidos (usando hidrogênio a temperaturas variando entre 673 e 873 K) a cobre metálico para obtenção do nanomaterial (DRELICH *et al.*, 2011). O material apresentou diversas vantagens, como estabilidade devido a forte adesão das nanopartículas de cobre à superfície (ângulo de contato de 145-155° e trabalho de adesão de 140-270 mJ.m⁻²) e à estabilidade da matriz inorgânica do argilomineral, boa dispersão visto a boa CTC da vermiculita, e à atividade biocida duradoura do cobre metálico, frente a *Staphylococcus aureus* (DRELICH *et al.*, 2011).

De maneira geral, os principais estudos conduzidos com vermiculita estão resumidos na Tabela 3.

Tabela 3. Relação de alguns trabalhos de vermiculitas quimicamente modificadas utilizadas em atividade antimicrobiana.

Material	Obtenção do material	Atividade antimicrobiana (Método)	Referência
Vermiculita modificada com clorhexidina (CA)	Reação de intercalação da vermiculita sódica com CA (0,2; 1,0; 2,0; 3,0 e 4,0 x CTC)	<i>E. faecalis</i> , <i>E. coli</i> e <i>P. aeruginosa</i> (Método CIM)	HOLESOVÁ <i>et al.</i> , 2010
Vermiculita modificada com prata	Reação de troca com Ag ⁺ (0,01 mol.dm ⁻³ , 24 h).	<i>K. pneumoniane</i> , <i>P. aeruginosa</i> (Método CIM)	VALÁSKOVA <i>et al.</i> , 2010
Vermiculita modificada com nanopartículas de cobre	Reação de troca iônica, 20 a 50g de argilomineral para 500 mL de solução 4,1 mol.dm ⁻³ CuSO ₄ , a 343K e 353K, seguido de redução com hidrogênio a temperaturas 673 a 873K.	<i>S. aureus</i> (Método do disco de difusão)	DRELICH <i>et al.</i> , 2011.
Vermiculita modificada com Brometo de tetradecil-tributílfosfônio (TDTB)	Reação de troca com TDTB (até 2 x CTC), sob agitação a 338 K por 6 h.	<i>E. coli</i> , <i>S. aureus</i> (Método CIM)	WU <i>et al.</i> , 2011
Vermiculita modificada com Cobre e Prata	Reação de troca com Ag ⁺ e Cu ²⁺ (0,1 mol.dm ⁻³ AgNO ₃ ; Cu(NO ₃) ₂ ; proporção de 1:10 [grama de argila: cm ³ de solução], agitação por 24h)	<i>S. aureus</i> , <i>E. faecalis</i> , <i>P. aeruginosa</i> , <i>K. pneumoniae</i> (Método CIM)	HUNDÁKOVÁ <i>et al.</i> , 2013
Nanocompósitos vermiculita/polietileno	As misturas vermiculita/polietileno (3,5% e 7% de argila) foram submetidas a processos de compressão na câmara de Brabender para formar placas de 1 mm de espessura de tamanho 100 × 100 mm.	<i>E. faecalis</i> (Método de Contagem de unidades formadores de colônias – CFU)	VALÁSKOVA <i>et al.</i> , 2013

Vermiculita modificada com clorohexidina (CA) e íons metálicos	Reação de vermiculitas (cálcicas e magnésicas) com os íons Zn^{2+} , Cu^{2+} e Ag^+ , ($1,0 \text{ mol.dm}^{-3}$ de $ZnCl_2$, $CuCl_2$ e $AgNO_3$), com posterior organofuncionalização com CA (0,2; 1,0; 2,0; 3,0 e 4,0 x CTC, 6h a 348 K)	<i>E. faecalis</i> , <i>E. coli</i> , <i>P. aeruginosa</i> (Método CIM)	HOLESOVÁ <i>et al.</i> , 2013
Vermiculita modificada com clorohexidina (CA)	Reação de troca de vermiculita sódica com CA (0,2; 1,0; 2,0; 3,0 e 4,0 x CTC)	<i>S. aureus</i> , <i>E. faecalis</i> , <i>E. coli</i> , <i>P. aeruginosa</i> (Método CIM)	HOLESOVÁ <i>et al.</i> , 2014
Vermiculita modificada com Brometo de hexadeciltrimetilamônio (HDTMA) e com Monohidrato de cloreto de hexadecilpiridínio (HDP)	Reação de intercalação com HDTMA e HDP (0,2 e 0,5 x CTC vermiculita sódica)	<i>Y. pestis</i> e <i>S. aureus</i> (Método CIM)	PLACHÁ <i>et al.</i> , 2014.
Vermiculita modificada com clorohexidina (CA)	Reação ativação ácida com HNO_3 por 24h. Seguida de reação de intercalação com CA (1 x CTC, $2g:30 \text{ cm}^3$ [argila:solução], 6 h a 348 K).	<i>E. faecalis</i> , <i>E. coli</i> , <i>S. aureus</i> (Método CIM)	SAMLÍKOVÁ <i>et al.</i> , 2017

As vermiculitas modificadas quimicamente com espécies orgânicas ou inorgânicas apresentaram-se como uma matéria-prima alternativa e promissora na produção de plásticos, embalagens, têxteis, tintas e outros produtos industriais onde as propriedades antimicrobianas trariam vantagens ou se fazem necessárias.

Capítulo 3

MATERIAIS E MÉTODOS

3. METODOLOGIA EXPERIMENTAL

3.1. Reagentes químicos

Todos os reagentes químicos utilizados neste trabalho foram obtidos em condições analíticas (P.A.) fornecidas comercialmente, sem nenhuma purificação prévia, Tabela 4.

Tabela 4. Dados de pureza e fórmulas moleculares dos reagentes química utilizados.

Reagente	Fórmula molecular	Pureza	Fornecedor
1,4-Bis-(3-aminopropil)piperazina	$C_{10}H_{24}N_4$	99%	Sigma-Aldrich
3-Cloropropiltrimetoxissilano	$C_6H_{15}ClO_3Si$	97%	Sigma-Aldrich
Ácido nítrico	HNO_3	65%	Vetec
Álcool etílico	C_2H_6O	95%	Sigma-Aldrich
Nitrogênio gasoso	N_2	-	White Martins
Nitrato de cobre II	$Cu(NO_3)_2$	99%	Sigma-Aldrich
Nitrato de zinco II	$Zn(NO_3)_2$	99%	Sigma-Aldrich
Piperazina	$C_4H_{10}N_2$	99%	Sigma-Aldrich
Xileno	C_8H_{10}	99,5%	Sigma-Aldrich

A argila utilizada neste trabalho foi a vermiculita, com capacidade de troca catiônica (CTC) de 110,7 cmol/Kg de material, proveniente da região de Santa Luzia – PB. Água destilada foi utilizada nos diversos ensaios.

3.2. Síntese do material híbrido

3.2.1 Vermiculita bruta

Em seu estado natural, a vermiculita bruta pode conter matéria orgânica, como restos de madeira e outros contaminantes macroscópicos. Em grandes quantidades estes poderiam interferir em reações e análises químicas futuras. Assim, 500 g de vermiculita, foram lavadas com água destilada para retirada dos rejeitos menos densos. Depois o material foi seco a 353 K por 72 h. O sólido obtido foi denominado V0.

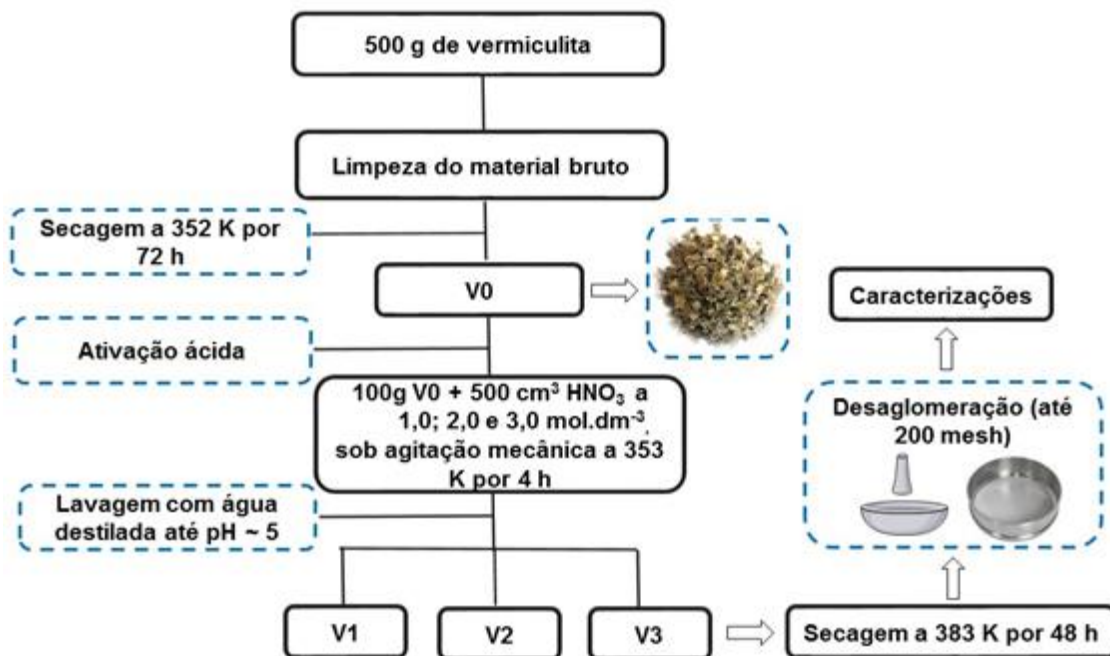
3.2.2 Ativação ácida da vermiculita

A ativação ácida foi realizada pela reação de 100g de vermiculita bruta (V0) com 500 cm³ de solução aquosa de HNO₃ a 1,0; 2,0 e 3,0 mol.dm⁻³. O processo foi realizado em um balão de três bocas (1000 cm³), onde a reação foi mantida sob agitação mecânica a 353 K durante 4,0 h, em conformidade com o estudo anterior realizado por Santos e colaboradores (2015).

Após a ativação, a mistura resultante foi decantada e o sólido obtido foi lavado com água destilada até o pH do sobrenadante ficar aproximadamente igual ao da água utilizada para lavagem. O produto foi seco a 353 K durante 24 h, em seguida, desaglomerado com auxílio de almofariz e pistilo, e peneirado até 200 mesh. Um resumo esquemático da ativação ácida da vermiculita se encontra ilustrado no fluxograma da Figura 12.

Os sólidos obtidos foram denominados Vn, onde *n* indica a concentração do ácido utilizado no tratamento (1,0; 2,0 e 3,0 mol.dm⁻³).

Figura 12. Fluxograma esquemático da ativação ácida da vermiculita.



3.2.3 Reação com agente sililante 3-cloropropiltrimetoxissilano

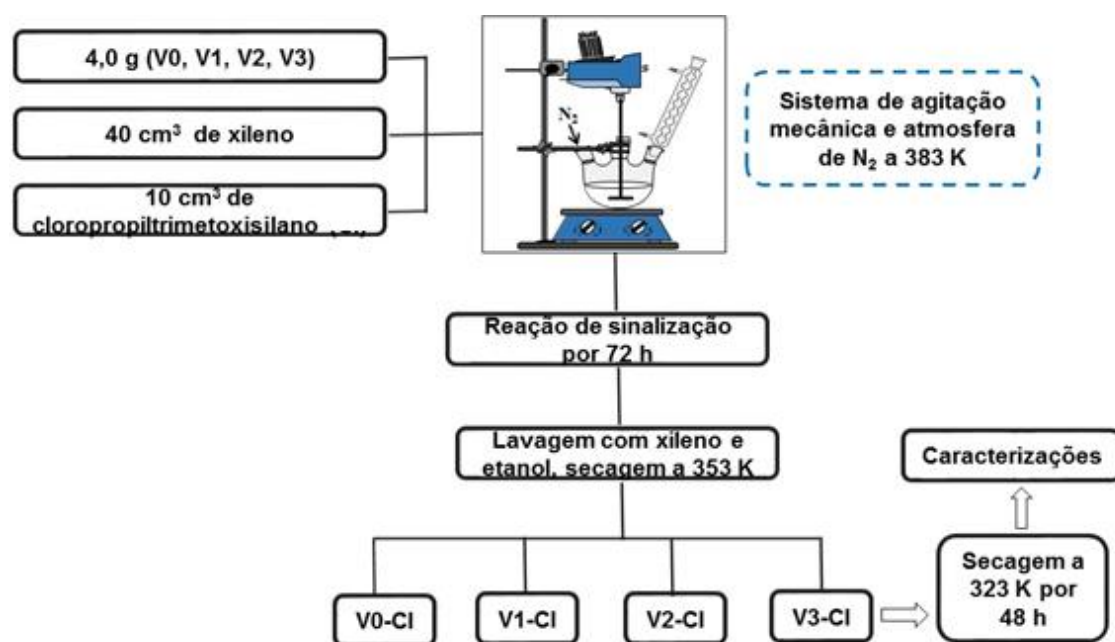
Na reação de silanização utilizou-se como agente sililante o 3-cloropropiltrimetoxissilano (CPTS), tendo como suporte os materiais ativados:

V1, V2 e V3. Neste processo foram utilizadas 4,0 g dos suportes, previamente secos à 383 K, afim de remover a água fisicamente adsorvida, 40 cm³ de xileno como solvente da reação e 10,0 cm³ de CPTS (52,77 mmol). O sistema reacional foi mantido sob refluxo, em atmosfera de nitrogênio e agitação mecânica à 383 K, por 48 h.

Os produtos obtidos, denominados V1-Cl; V2-Cl e V3-Cl, foram lavados com xileno e etanol, e secos à 323 K por 24 h.

Um resumo do processo de sinalização pode ser observado no fluxograma esquemático da Figura 13. Para efeito de comparação foi realizada uma reação controle com a vermiculita (V0) nas mesmas condições, obtendo-se o produto V0-Cl.

Figura 13. Fluxograma esquemático da reação do 3-cloropropiltrimetoxissilano com os precursores ativados V1, V2, V3, e a vermiculita bruta, V0.



3.2.4. Reações subsequentes com aminas cíclicas

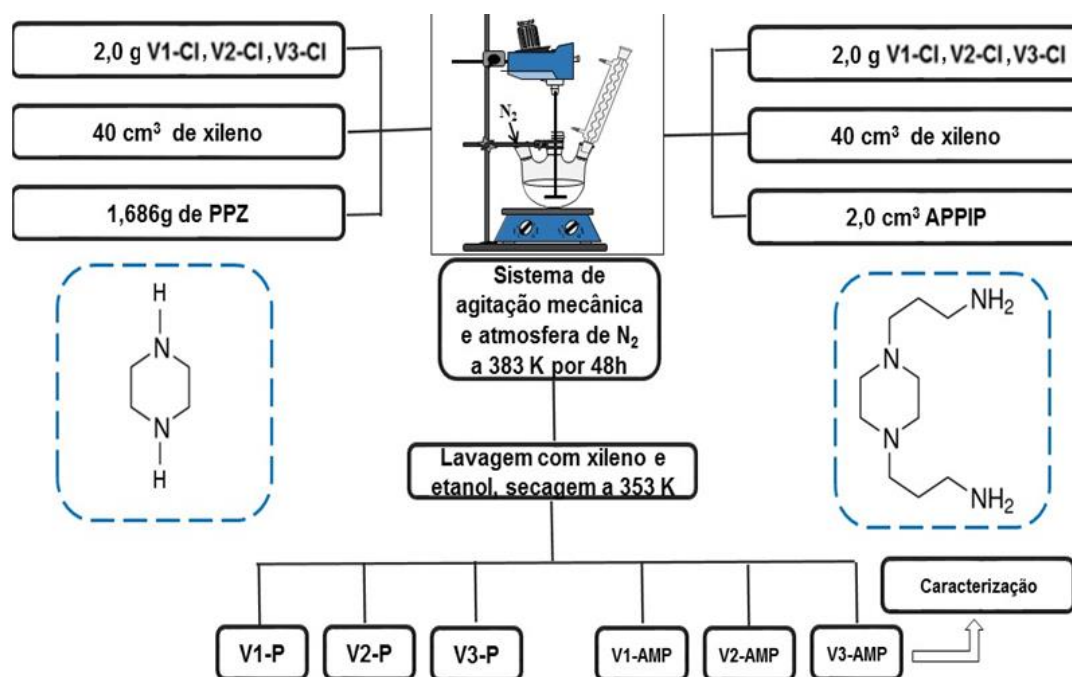
3.2.4.1. Reação subsequente com piperazina ou 1,4-Bis-(3-aminopropil)piperazina

Os sólidos resultantes da reação de sinalização, V1-Cl, V2-Cl e V3-Cl, reagiram com a piperazina (PPZ) ou 1,4-Bis-(3-aminopropil)piperazina (APPIP).

Nestas reações subsequentes, 2,0 g de cada sólido foram adicionados a suspensão de xileno e amina em um balão de três bocas com capacidade de 250 cm³. Previamente, 1,686 g (19,26 mmol) de PPZ ou 2 cm³ (19,26 mmol) de APPIP foram dissolvidos em 40 cm³ de xileno (solvente), com auxílio de agitação e aquecimento até 383 K. A suspensão resultante foi mecanicamente agitada, e mantida em atmosfera de nitrogênio a 383 K por 48 h.

Os produtos obtidos foram denominados no caso da piperazina como V1-P; V2-P e V3-P e no caso da 1,4-Bis-(3-aminopropil)piperazina, V1-AMP; V2-AMP e V3-AMP. Os sólidos obtidos foram lavados com xileno e etanol e secos a 323 K. Um resumo deste processo pode ser contemplado no fluxograma esquemático da Figura 14.

Figura 14. Fluxograma esquemático da reação dos sólidos contendo sinalo com piperazina e com 1,4-bis-(3-aminopropil)piperazina.

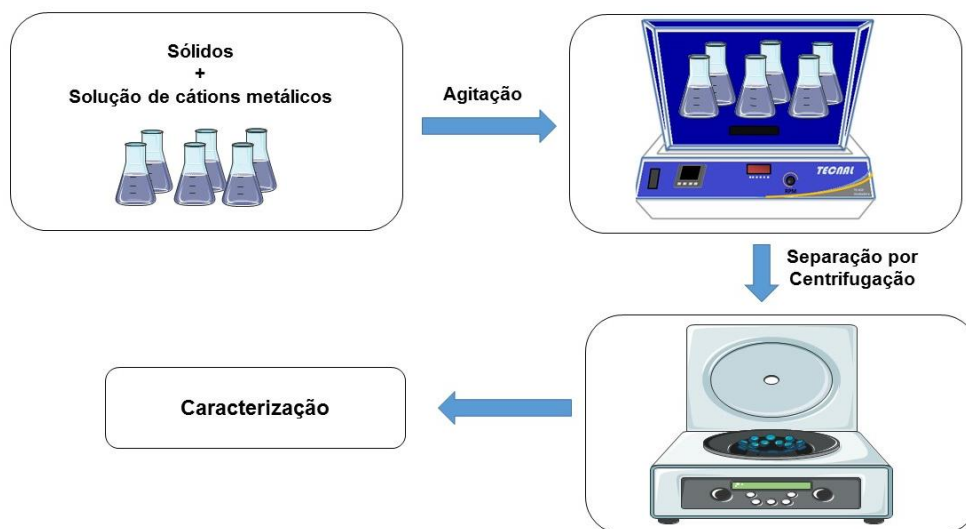


3.2.4.2. Adsorção de íons metálicos

A vermiculita bruta e os sólidos finais (V2-P, V2-AMP) reagiram com os cátions metálicos Cu²⁺ e Zn²⁺. Nos testes de adsorção, 100 mg de cada sólido foram colocadas em contato com 25 cm³ da solução, a 0,01 mol.dm⁻³ e 0,05 mol.dm⁻³, dos metais citados, durante 24 h. O procedimento foi realizado em uma incubadora TE-420 TECNAL®, sob agitação constante em torno de 180 rpm a 299 K. O pH dos

sistemas foi monitorado antes e após os testes, com auxílio de um pHmetro DM-22 Digimed. Um resumo esquemático deste processo se encontra ilustrado no fluxograma da Figura 15.

Figura 15. Esquema experimental de adsorção das matrizes iniciais e finais com cátions metálicos.



Os sólidos resultantes dos respectivos processos adsortivos foram denominados VxM001 ou VxM005, em que M é Cu ou Zn e x é a denominação da matriz de vermiculita.

3.3. Técnicas de caracterização

3.3.1. Difratometria de raios X (DRX)

Os difratogramas de raios X dos materiais em estudo foram obtidos em um difratômetro de raios X Shimadzu, modelo XDR-6000, com fonte de radiação utilizada $\text{CuK}\alpha$ ($\lambda = 0,15406 \text{ nm}$) trabalhando com uma voltagem de 40 kV e uma corrente elétrica de 30 mA. As varreduras foram feitas no intervalo de 2θ de 3 a 80° , a um passo $0,02^\circ \text{ s}^{-1}$ e velocidade de $0,5^\circ \text{ min}^{-1}$. As análises de DRX permitem avaliar a cristalinidade e as fases dos materiais, assim como calcular as distâncias interplanares através da Lei de Bragg, Equação 2:

$$n\lambda = 2d\sin\theta \text{ (Equação 2)}$$

Onde d é a distância interlamelar, θ é o ângulo de difração, λ é o comprimento de onda dos raios X e n é um número inteiro.

3.3.2 Espectroscopia de absorção na região do infravermelho (IV)

A técnica de espectroscopia na região do infravermelho fornece informações qualitativas da presença de grupos funcionais do argilomineral e das moléculas orgânicas ancoradas na matriz inorgânica.

Os espectros de absorção na região do infravermelho foram obtidos em um espectrômetro modelo PRESTIGE-21, da marca SHIMADZU, pela técnica de pastilha de KBr, contendo 1% de amostra. A varredura compreendeu o intervalo de 4000 a 400 cm^{-1} , com resolução de 4 cm^{-1} e 30 scans de acumulações.

3.3.3. Análise termogravimétrica (TG/DSC)

As medidas termogravimétricas dos sólidos foram realizadas em um equipamento SDT Q600, módulo padrão DSC-TGA. A análise foi realizada em cadinhos de alumina, sob atmosfera de argônio com fluxo de 100 $\text{cm}^3.\text{min}^{-1}$ no intervalo de temperatura de 293K a 1273 K, com taxa de aquecimento de 20 $\text{K}.\text{min}^{-1}$.

Esta análise foi realizada no Laboratório Interdisciplinar de Materiais Avançados (LIMAv) – UFPI, coordenado pelo professor Dr. Edson Cavalcanti da Silva Filho.

3.3.4. Análise elementar carbono, hidrogênio, nitrogênio (CHN)

Os teores de carbono, hidrogênio e nitrogênio das amostras foram determinados usando um analisador microelementar da Perkin-Elmer, modelo PE 2400, no laboratório da Central Analítica do Instituto de Química da USP – São Paulo.

3.3.5. Análise elementar de cloro

Os teores de cloro das amostras foram determinados pelo Método de Schöniger. O procedimento consistiu na pesagem de 10 mg de amostra em papel

de filtro de poucas cinzas, que foi transferido para um erlenmeyer e adicionado 5 cm³ de água grau milli-Q, 25 gotas de H₂O₂ PA e 25 gotas de NaOH 0,1 mol dm⁻³. O erlenmeyer foi saturado com oxigênio ultrapuro por três minutos, e então a amostra foi queimada em ambiente fechado. Após 24 h, lavou-se o frasco com 25 cm³ de etanol (PA) e acrescentou-se uma gota de azul de bromofenol 0,1 %, e com gotas de HNO₃ 0,1 mol dm⁻³ que deixou o pH ácido (indicador passa de azul para amarelo). Acrescentou-se então 1 cm³ de solução 0,1 % de Difenilcarbazona e a solução foi titulada com solução fatorada de Hg(NO₃)₂ 0,1 mol dm⁻³ até o indicador ficar rosa.

Esta determinação foi realizada no laboratório da Central Analítica do Instituto de Química da USP – São Paulo.

3.3.6. Análise textural

As amostras foram aquecidas a 403 K por 3 h em um Belprep II, da BEL, com fluxo de N₂ (g), para eliminação de impurezas adsorvidas na superfície. Em seguida as amostras foram analisadas em um instrumento de adsorção volumétrica BELSORP II, da BEL JAPAN, utilizando N₂ (g) e padrão de He, em um Dewar contendo N₂ (l). Os dados de volume de nitrogênio adsorvido e dessorvido em várias pressões relativas foram utilizados para gerar informações sobre a área superficial, distribuição e tamanho médio de poros. As medidas foram calculadas baseadas nas teorias de Brunaer-EmmettTeller (BET) (BRUNAUER et al., 1938). O volume de microporos foi obtido utilizando o método t-plot (GEEG e SING, 1982).

3.3.7. Espectrometria de emissão óptica com plasma – ICP OES.

As amostras modificadas com as espécies metálicas foram caracterizadas pela espectrometria de emissão óptica com plasma (ICP OES), utilizando o espectrômetro óptico de emissão atômica com plasma indutivamente acoplado – Spectro modelo Arcos com visão radial (SOP), que possui sistema óptico selado e purgado com argônio, que permite a detecção e medição de comprimentos de ondas na faixa entre 130 e 770 nm. A técnica baseia-se na detecção da radiação eletromagnética emitida por átomos neutros ou íons

excitados nas regiões do espectro eletromagnético visível e ultravioleta. O princípio fundamental da espectrometria de emissão atômica consiste na propriedade dos átomos emitirem radiação eletromagnética quando submetidos a determinadas condições. Neste caso, a ionização dos elementos a serem analisados será feita pelo plasma indutivo de argônio. Diferentemente da técnica de absorção atômica, o plasma, que pode ter a temperatura variando entre 7000 K e 10000 K, possui energia suficiente para promover a excitação da maioria dos elementos químicos existentes, possibilitando a quantificação de uma ampla faixa de analitos.

Esta determinação foi realizada no laboratório da Central Analítica do Instituto de Química da USP – São Paulo.

3.3.8. Avaliação de atividade antimicrobiana

3.3.8.1. Cepas bacterianas e preparo do inóculo bacteriano padronizado

As cepas bacterianas utilizadas foram das espécies *Escherichia coli* (ATCC 25922) e *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923). A partir das culturas bacterianas repicadas e mantidas em meio ágar nutriente a 37 °C por 24 h, transferiu-se uma alçada do crescimento bacteriano para um tubo de ensaio contendo em solução salina fisiológica, onde a suspensão bacteriana foi padronizada para uma densidade equivalente a 0,5 na escala Mac Farland, aproximadamente $1,5 \cdot 10^8$ UFC/mL (Unidades Formadoras de Colônias - UFC). Em seguida o inóculo bacteriano foi preparado, partir da suspensão bacteriana diluída em 1:9 partes com meio Brain Heart Infusion Broth (BHI) a 10%.

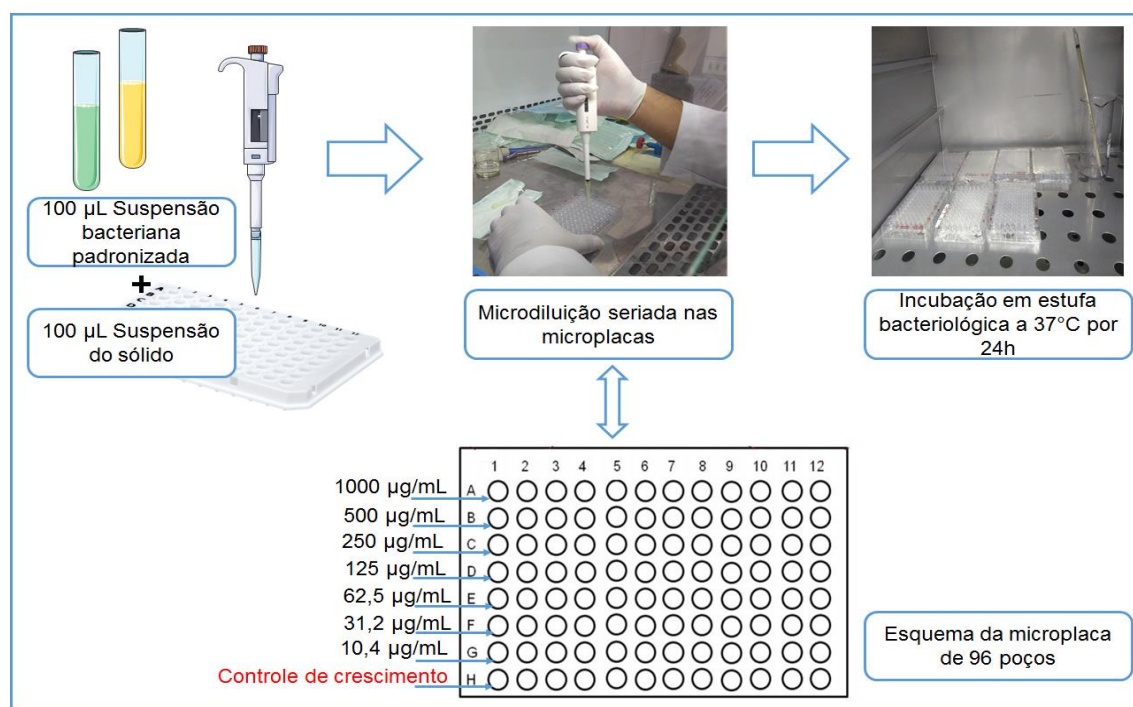
3.3.8.2. Microdiluição e determinação pelo Teste de Concentração Inibitória Mínima (CIM)

A CIM é definida como a concentração inibitória mínima de material antibacteriano suficiente para impedir o crescimento bacteriano *in vitro* (KNEIFLOVÁ, 1988). A técnica da microdiluição foi realizada para se estimar a Concentração Inibitória Mínima (CIM) dos sólidos iniciais (V0, V1, V2 e V3), dos organofuncionalizados com aminas cíclicas (V1-P, V2-P, V3-P, V1-AMP, V2-

AMP, V3-AMP), e dos sólidos resultantes da adsorção de cobre e de zinco (VCu001, V2-AMPCu001, V2-PCu001, VCu005, V2-AMPCu005, V2-PZn005, VZn001, V2-AMPZn001, V2-PZn001, VZn005, V2-AMPZn005, V2-PZn005) para as suspensões do inóculo bacteriano, das espécies *E. coli* e *S. aureus*, em triplicata e com controle de crescimento bacteriano, conforme recomendações da Manual Clinical and Laboratory Standards Institute – CLSI/ANVISA.

O teste foi realizado em microplacas com 96 poços de fundo chato (Cod. 655111) esterelizada por raios gama. A preparação dos poços foi realizada pela adição de 100 μ L do inóculo bacteriano padronizado e 100 μ L da suspensão de argila, preparada pela dissolução de 2000 μ g dos respectivos sólidos em 1 mL de água destilada. A mistura das suspensões inicial foi então submetida ao processo de microdiluição seriada até o sétimo poço das colunas verticais da placa. O oitavo micropoço se apresenta como controle de crescimento bacteriano, contendo apenas a suspensão padronizada da bactéria com meio BHI. A placa foi incubada em uma estufa bacteriológica a 37 °C por 24 h. O procedimento está esquematizado na Figura 16.

Figura 16. Esquema experimental do teste de concentração inibitória mínima (CMI)

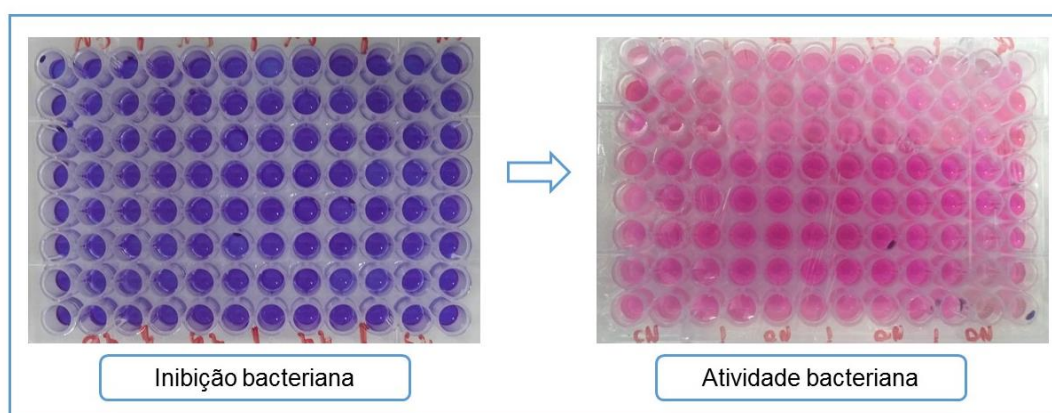


Fonte: próprio autor.

O procedimento foi realizado em uma cabine biológica, previamente esterielizada com álcool etílico (70%) e radiação ultravioleta, com todos os devidos cuidados de biossegurança.

Após o período de incubação, o método colorimétrico com resazurina sódica 0,01% foi utilizado, aplicando-se 20 µL da solução em cada poço e esperando-se uma hora para realizar a leitura visual dos resultados, em que o azul caracteriza a inatividade bacteriana e o vermelho a atividade bacteriana, Figura 17.

Figura 17. Método colorimétrico com resazurina para leitura visual do teste CIM.



Fonte: próprio autor.

Os testes de atividade antimicrobiana foram realizados no Laboratório de Microbiologia, Parasitologia e Patologia do Centro de Formação de Professores – UFCG, sob supervisão e orientação do Prof. Dr. Antônio Fernandes Filho, do Prof. Dr. Luís Jardelino de Lacerda Neto e da Técnica Biomédica Marília Andreza da Silva Ferreira.

Capítulo 4

RESULTADOS E DISCUSSÕES

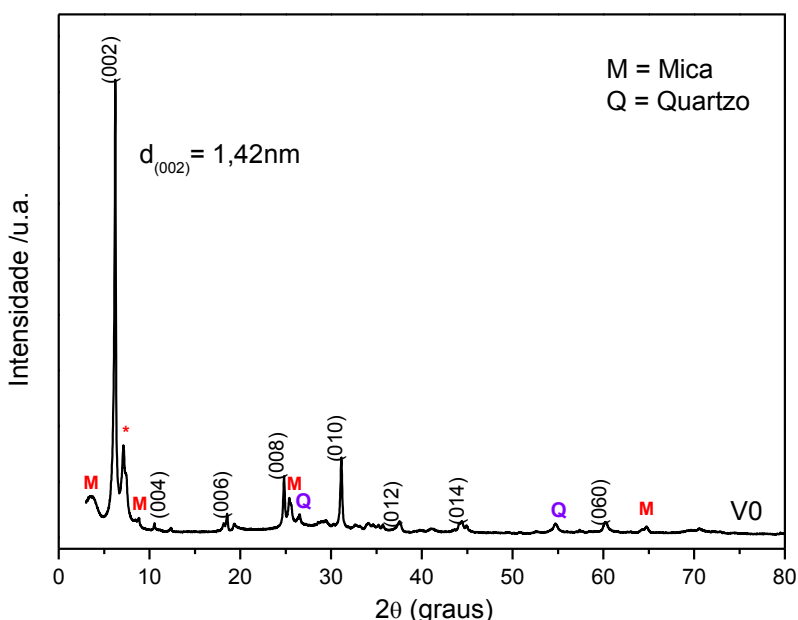
4. RESULTADOS E DISCUSSÕES

4.1. Matrizes ativadas com ácido

4.1.1 Difração de raios X

A técnica de difratometria de raios X é de fundamental importância para investigação de possíveis alterações na cristalinidade e no espaçamento basal dos materiais derivados da vermiculita, visto que dependendo das condições de reação, o tratamento ácido pode levar a diminuição da cristalinidade do argilomineral (KOMADEL, 2016). A Figura 18 mostra o difratograma da vermiculita bruta.

Figura 18. Difratograma de raios X da vermiculita bruta.

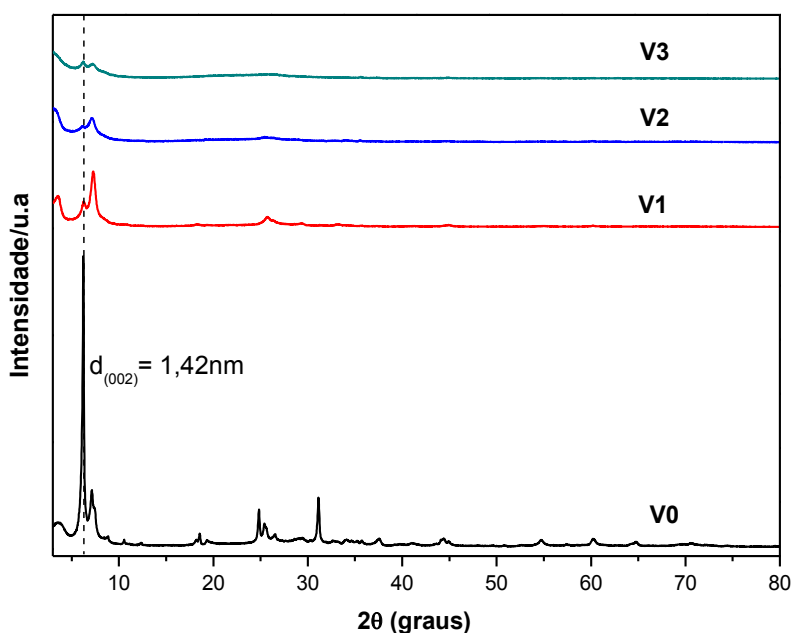


O pico mais intenso, Figura 18, é característico da vermiculita, representa a reflexão no plano (0 0 2), correspondendo a $2\theta = 6,22^\circ$, que equivale a uma distância interlamelar (d) de 1,42 nm, corroborando com a literatura (RITZ *et al.*, 2014; KUPKOVÁ *et al.*, 2015). Em argilominerais hidratados do tipo 2:1, o d está diretamente relacionado com a quantidade de pseudo-camadas de moléculas de água no espaço interlamelar, o intervalo aproximado de 1,4 a 1,5 nm, no qual a vermiculita em estudo se apresenta, caracteriza a presença de duas camadas de água (LAGALY e DÉKÁNY, 2013).

Os picos em 2θ igual a $12,37^\circ$; $18,58^\circ$; $24,83^\circ$; $31,15^\circ$; $37,65^\circ$; $44,38^\circ$ e $60,53^\circ$ foram indexados, respectivamente, aos planos (0 0 4) com $d = 0,719$ nm, (0 0 6) com $d = 0,483$ nm; (0 0 8) com $d = 0,367$ nm; (0 0 10) com $d = 0,297$ nm; (0 0 12) com $d = 0,252$ nm; (0 0 14) com $d = 0,220$ nm; (0 6 0) com $d = 0,176$ nm em acordo com a carta ICDD 00-016-0613. Como se trata de um material natural, verifica-se a presença de outras fases, como quartzo (MAQUEDA *et al.*, 2009; MARCOS *et al.*, 2009) e mica (HARRAZ e HAMDY, 2010; PERALTA *et al.*, 2018; TEMUJJI *et al.*, 2003). O pico em 2θ igual a $7,13^\circ$ com d igual a $1,24$ nm foi atribuído a fase interestratificada correspondente ao mineral do tipo mica-vermiculita (TEMUJIN *et al.*, 2003; PERALTA *et al.*, 2018), e também é atribuído, por alguns autores, a um ou dois planos de moléculas de água (KUPKOVÁ, 2015; RITZI *et al.*, 2014; SANTOS *et al.*, 2016).

Nos difratogramas de raios X dos sólidos ativados, mostrados na Figura 19, é possível observar uma diminuição na intensidade do pico com reflexão no plano (0 0 2) com o aumento da concentração do ácido, indicando perda de cristalinidade dos materiais ativados, obtendo-se assim materiais com características amorfas (SANTOS *et al.*, 2015). Este comportamento é atribuído a alterações nas folhas octaédricas e tetraédricas, devido dissolução dos metais constituintes da estrutura do argilomineral, durante o tratamento ácido, gerando desorganização da estrutura cristalina (KOMADEL, 2016). Esse comportamento é consistente com as modificações de vermiculitas por ativação ácida reportada por outros autores (ALVES *et al.*, 2013; SANTOS *et al.*, 2015; STAWINSKI *et al.*, 2016; PERALTA *et al.*, 2018; WEGRZYN *et al.*, 2018). É possível observar nos difratogramas, Figura 19, uma progressiva amorfização do material à medida que a concentração do ácido foi aumentada, dependendo da extensão do tratamento ácido, o produto sólido resultante pode se apresentar como uma rede tridimensional de sílica amorfa (KOMADEL e MADEJOVÁ, 2013).

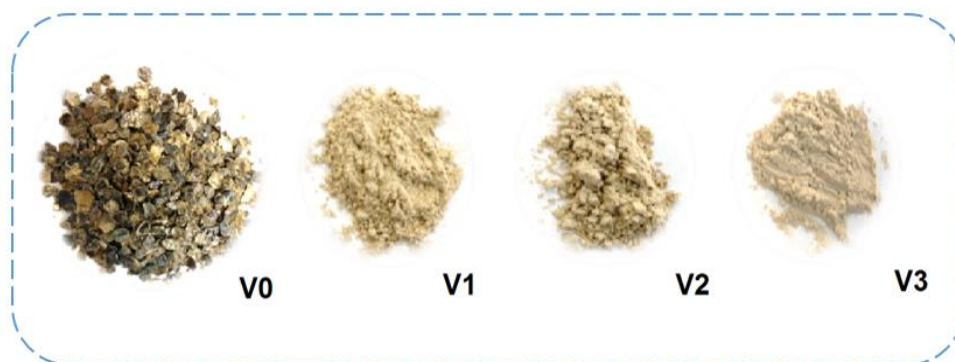
Figura 19. Difratomogramas de raios X para vermiculita bruta e matrizes ativadas.



O pico em 2θ igual a $7,13^\circ$, referente a fase interestratificada é, praticamente, mantido para o sólido V1, e apresenta diminuição de intensidade muito menos pronunciada em relação aos demais planos de reflexão do argilomineral nos sólidos V2 e V3. Essa observação indica que a fase interestratificada mica-vermiculita é mais resistente ao tratamento ácido. Segundo Peralta e colaboradores, (2018), a fase interestratificada mica-vermiculita é mais resistente ao ataque ácido pela presença de íons K^+ , que não são facilmente removidos e substituídos por íons H_3O^+ durante a ativação ácida, devido principalmente ao tamanho deste íon.

Em conformidade com as indicações sugeridas pela análise dos difratogramas de raios X das matrizes ativadas, foi possível observar visualmente alterações no aspecto e coloração dos produtos do tratamento ácido. As matrizes ativadas apresentaram perda do brilho metálico e da coloração característica da vermiculita, Figura 20, corroborando com o apontamento do processo de dissolução de constituintes da camada da argila durante o ataque ácido, no presente caso, essas observações podem ser atribuídas a saída de ferro da estrutura.

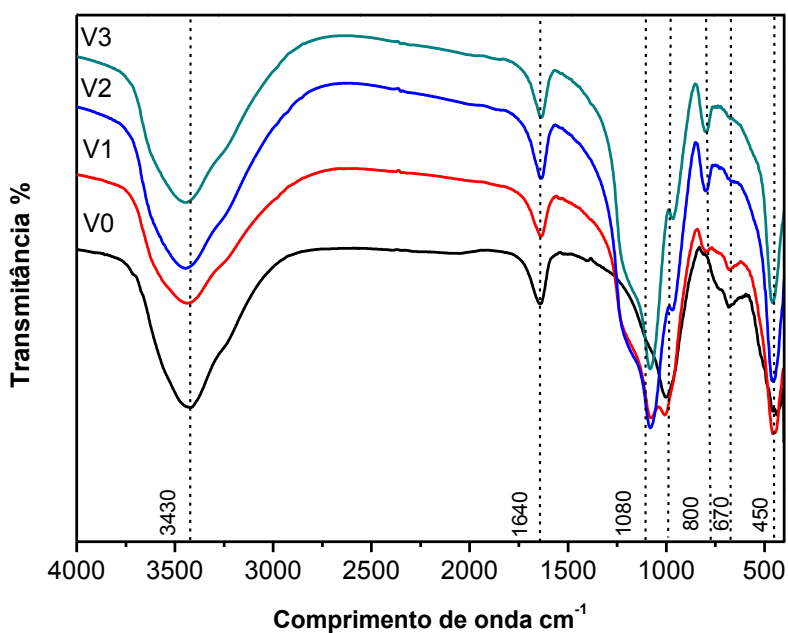
Figura 20. Vermiculita antes (V0) e após o tratamento de ativação ácida (V1, V2 e V3).



4.1.2. Espectroscopia de absorção na região do infravermelho

A vermiculita bruta e os produtos obtidos após o tratamento ácido foram caracterizados por espectroscopia na região do infravermelho, esta técnica é utilizada para investigação a curto alcance da estrutura do material, fornecendo informações dos grupos químicos presentes. Assim, esse método é interessante na avaliação dos grupos que compõe a rede inorgânica do argilomineral, como também, na caracterização de sítios ácidos normalmente gerados com o processo de ativação ácida (ALVES *et al.*, 2013; KOMADEL e MADEJOVÁ, 2013). Os espectros para a vermiculita pura e matrizes ativadas são apresentados na Figura 21.

Figura 21. Espectros na região do infravermelho para a vermiculita e amostras ativadas por ácido.



Nos espectros da Figura 21, referente à vermiculita bruta e o sólidos modificados, observa-se que a faixa de 3750-2900 cm^{-1} são características das vibrações de alongamento O-H, enquanto a faixa de 1300-500 cm^{-1} fornece informações sobre as características estruturais do argilomineral e é atribuído as vibrações de rede (CHMIELARZ *et al.*, 2014). Para o espectro da vermiculita bruta, V0, uma banda larga em 3430 cm^{-1} atribuída às vibrações de estiramento da ligação O-H, referentes a ligações de hidrogênio da água e Si-OH, e em 1640 cm^{-1} associada à deformação da ligação O-H da água (PEIXOTO *et al.*, 2016; RITZ *et al.*, 2014). A banda intensa em 1000 cm^{-1} é referente ao modo vibracional de estiramento do grupo Si-O, característico do material (CHMIELARZ *et al.*, 2012). A banda em 670 cm^{-1} e a banda intensa em 450 cm^{-1} foram relacionadas, respectivamente, às vibrações da ligação RO-Si (R = Al, Mg, Fe) e deformações angulares de grupo Si-O-Si, presentes na vermiculita, (CHMIELARZ *et al.*, 2012; RITZ *et al.*, 2014).

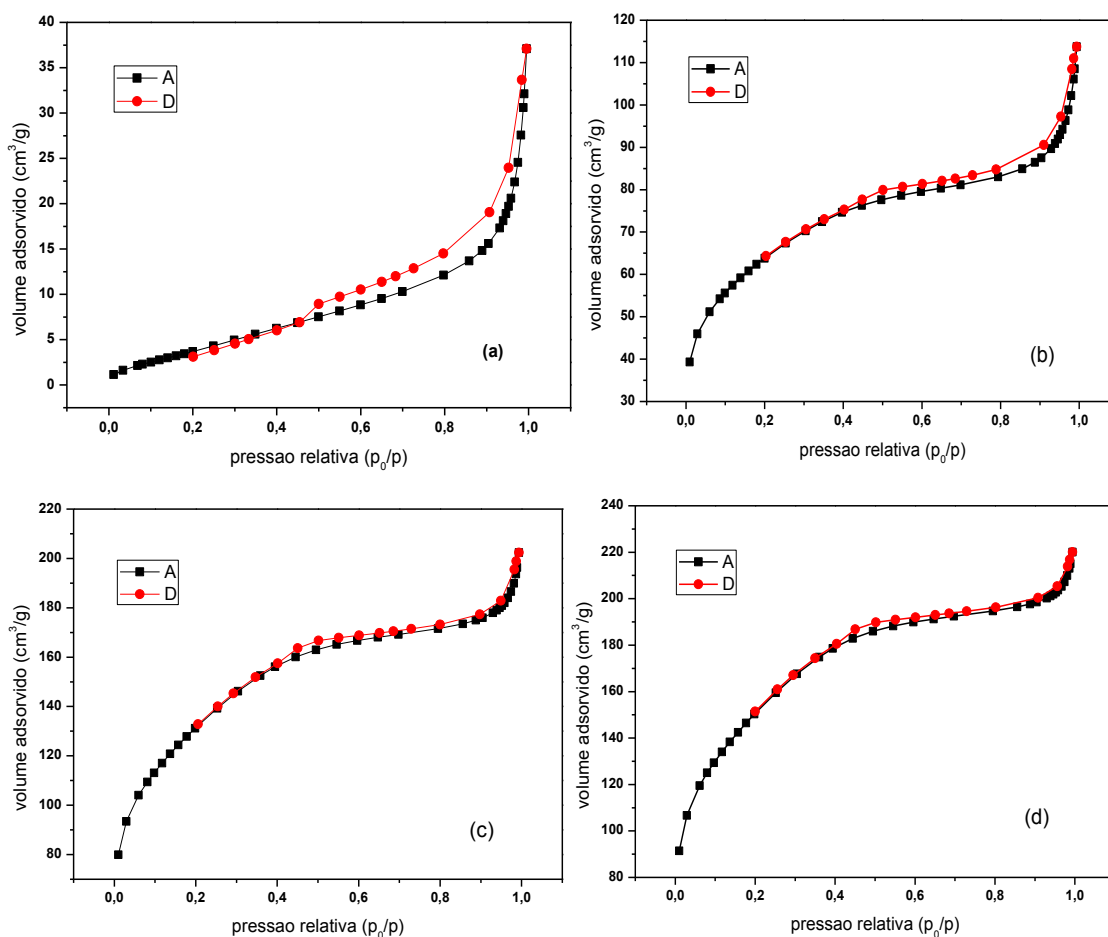
Os espectros das amostras tratadas com ácido, V1, V2, V3, apresentaram-se bastante semelhantes ao espectro do material bruto, porém foi possível observar algumas mudanças nos espectros na região de 1080-670 cm^{-1} , nos produtos ativados. Observa-se que após o tratamento ácido, houve um aumento na intensidade da banda 1080 cm^{-1} , referente a estiramentos de ligação Si-O, atribuídos a sílica amorfa (CHMIELARZ *et al.*, 2012; RITZ *et al.*, 2014; SANTOS *et al.*, 2015). Uma nova banda é sutilmente observada em 956 cm^{-1} , como também o aumento da banda em torno de 800 cm^{-1} , nas matrizes ácidas, atribuídas a vibrações estiramento Si-OH em grupos silanóis, indicando a formação destes grupos de grande interesse para aumento da reatividade do argilomineral, e a presença de sílica amorfa hidratada, com o tratamento ácido (KOMADEL e MADEJOVÁ, 2013; YU *et al.*, 2012). A banda na região de 670 cm^{-1} , referente as vibrações dos óxidos metálicos, sofre redução de intensidade, devido a dissolução dos metais pelo ácido (YU *et al.*, 2012). Estes resultados apontam uma perda cristalinidade do material, fato que corrobora com os resultados da difração de raios X, e para a efetividade da reação, visto que dependendo da extensão do ataque ácido o argilomineral é convertido em uma estrutura tridimensional amorfa de sílica (KOMADEL e MADEJOVÁ, 2013).

4.1.3. Análise textural

As isotermas de adsorção e dessorção de gás nitrogênio (N_2) foram utilizadas para determinar as propriedades texturais da vermiculita bruta e das respectivas matrizes ativadas com ácido. Essa caracterização é de grande importância para avaliar alterações físicas nos produtos da ativação ácida, que incluem um possível aumento da área superficial e no volume médio de poros (CHMIELARZ *et al*, 2012; KOMADEL e MANDEJOVÀ, 2013; KOMADEL, 2016).

As isotermas para a vermiculita bruta e para as matrizes ativadas estão apresentadas na Figura 22.

Figura 22. Isotermas de adsorção e dessorção de nitrogênio para (a) vermiculita bruta e suas matrizes ativadas b) V1, c) V2 e d) V3.



Na Figura 22 pode-se observar que a vermiculita bruta apresenta perfil de isotermas do tipo III, de acordo com a classificação de Brunauer, Deming,

Deming e Teller (BDDT), onde o volume adsorvido parte praticamente de zero, com histerese tipo H3, segundo a classificação da IUPAC, o que caracteriza sólidos mesoporosos, com mesoporos formando fendas, e sólidos não porosos. Com o tratamento ácido os sólidos ativados apresentam progressiva transição para curvas características de isothermas do tipo IV, da referida classificação, que é típica de sólidos microporosos (BRUNAUER e EMMETT, 1938; BRUNAUER *et al.*, 1940, GEEG e SING, 1982; BRANTLEY e MELLOTT, 2000). O aumento progressivo do volume de nitrogênio adsorvido a baixa pressão relativa, bem como o aumento do volume máximo de gás adsorvido, com a elevação da concentração do ácido no processo de ativação, sugere formação de microporos e, possivelmente, a formação de grandes poros não-uniformes (CHMIELARZ *et al.*, 2012).

Os dados das análises de área superficial para a vermiculita e os sólidos ativados obtidos pelas isothermas de adsorção/dessorção de N₂ estão na Tabela 5. A vermiculita apresentou área superficial baixa, 16 m²g⁻¹, que indica baixa microporosidade (MAQUEDA *et al.*, 2009; SANTOS 2015; CHMIELARZ *et al.*, 2012). Os resultados confirmam a eficiência da ativação ácida na obtenção de materiais com elevadas áreas superficiais. No presente tratamento, a concentração crescente de ácido acarretou um aumento gradual da área superficial total (S_{BET}), chegando a um máximo de 540 m²g⁻¹ para o sólido V3, e do volume de microporos das matrizes obtidas a partir da ativação da vermiculita. Também se observou uma diminuição no diâmetro de poro, que pode ser atribuído à destruição de mesoporos e formação do microporos, isso corrobora com a diminuição da histerese observada nas isothermas dos sólidos ativados, que apontam para uma menor quantidade de mesoporos presentes nos materiais ativados. Tais observações estão associadas ao ataque às folhas octaédricas e tetraédricas da camada argila, com dissolução dos metais estruturais, gerando defeitos cristalinos, quebra de ligações e interrupção de lamela pelo ácido durante o processo de ativação, corroborando com as caracterizações anteriores e reforçando a efetividade desta reação (SANTOS *et al.*, 2015; KOMADEL e MANDEJOVÀ, 2013; KOMADEL, 2016).

Tabela 5. Propriedades texturais obtidas por medidas de adsorção/dessorção de N₂ para a vermiculita bruta e ativados. S_{BET} - área superficial específica, V_μ - volume de microporos e Dp - diâmetro médio de poro.

Sólidos	S _{BET} (m ² g ⁻¹)	V _μ (cm ³ g ⁻¹)	Dp (nm)
V0	16	-	9,6
V1	228	0,0209	4,1
V2	471	0,0317	3,3
V3	540	0,0352	3,0

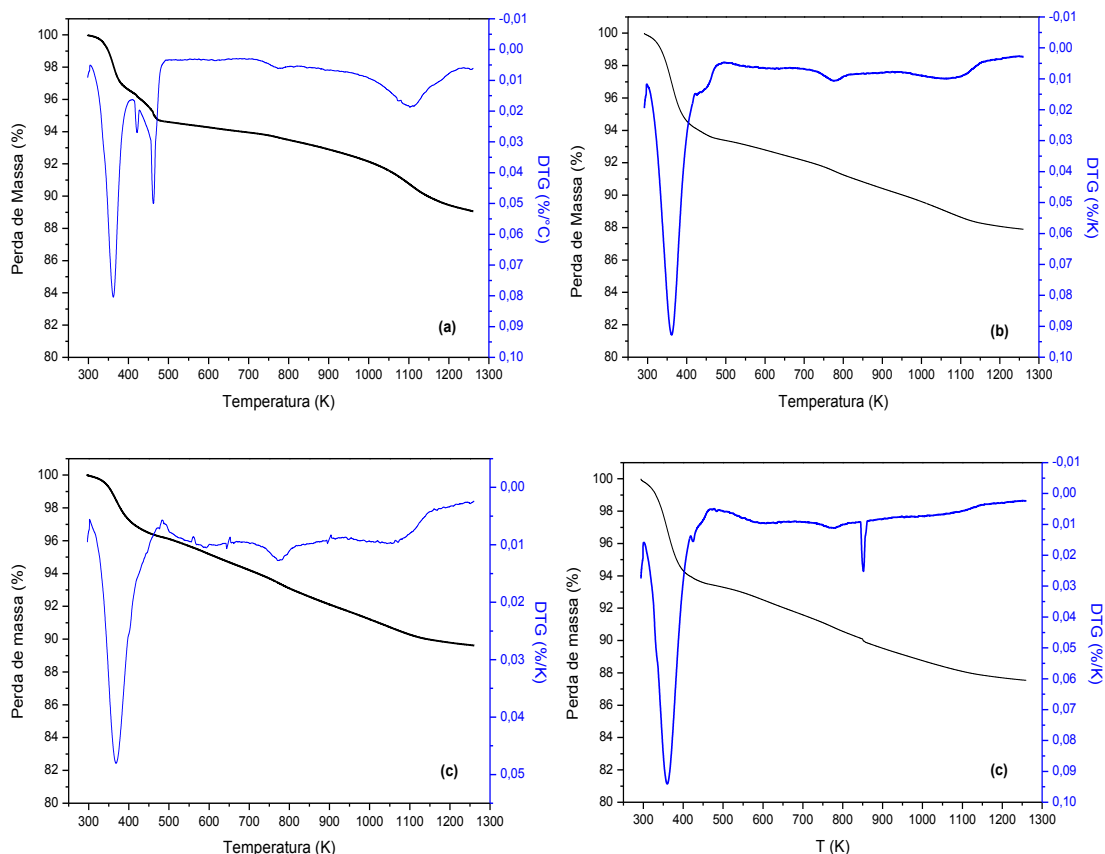
4.1.4. Análise termogravimétrica

As argilas estão entre os primeiros materiais estudados por análise térmica, sendo objeto de estudo em trabalhos pioneiros na área, desenvolvidos por Henri Le Chatelier no final do século XIX (ROUQUEROL *et al.*, 2013). O estudo termogravimétrico em argilas tem como princípio básico e mais importante, relacionar o comportamento térmico dos minerais à sua estrutura cristalina (ROUQUEROL *et al.*, 2013). Segundo Caillère e Henri (1948, *apud* ROUQUEROL *et al.*, 2013) eventos térmicos para um grande conjunto de minerais de argila, como processos endotérmicos de desidratação, perda de água presente no material como água interlamelar, e desidroxilação, perda de água presente na forma de grupos hidroxilas que condensaram durante a análise, podem ser entendidos e correlacionados com a estrutura e composição dos materiais. Neste sentido, as curvas termogravimétricas para a vermiculita bruta e para as matrizes ativadas com ácido estão apresentadas na Figura 23. Os dados de porcentagem perda de massa e suas respectivas faixas de temperatura estão resumidos na Tabela 6.

A curva termogravimétrica para o sólido V0 apresentou três eventos endotérmicos principais de perda de massa, o primeiro que ocorre no intervalo de 298 a 402 K, está relacionado a retirada da água, adsorvida fisicamente na superfície da vermiculita através de ligações de hidrogênio. O segundo evento ocorre até 484 K, pode ser atribuído a saída de água de coordenação dos cátions do espaço interlamelar (CHMIELARZ *et al.*, 2014; FERNANDEZ *et al.*, 2013; KUPKOVÁ *et al.*, 2015). O terceiro evento de decomposição térmica, que se estendeu de 738 K até 1237 K, refere-se a desidroxilação de grupos silanol e

formação de grupos siloxanos (Si-O-Si) (ALVES *et al.*, 2014; KUPKOVÁ *et al.*, 2015).

Figura 23. Curvas termogravimétricas e suas derivadas da vermiculita bruta e das matrizes ativadas: a) V0; b) V1; c) V2 e d) V3.



Para as matrizes ativadas com ácido (V1, V2 e V3) as curvas mostraram comportamento bastante semelhantes, apresentando, no entanto, apenas dois eventos de perda de massa. O primeiro evento foi novamente associado a perda de água adsorvida fisicamente, variando em intervalos de 300 a 489 K para os três sólidos (CHMIELARZ *et al.*, 2014; PEREZ-RODRIGUEZ *et al.*, 2011; WU *et al.*, 2015; WEGRZYN *et al.*, 2018). Uma diminuição no teor perda de água adsorvida podia ser esperado em relação ao material bruto, visto que no processo de ativação ácida ocorre saída de água do espaço interlamelar, como já discutido anteriormente, devido substituição dos cátions interlamelares hidratados por íons H_3O^+ , isso pode ser evidenciado pelo desaparecimento dos picos de desidratação destes cátions nas curvas de DTG dos sólidos ativados (CHMIELARZ *et al.*, 2014). No entanto, as matrizes ativadas apresentaram maiores valores de perda de massa para os eventos endotérmicos de

decomposição de água fisicamente ancorada. A explicação está associada à formação de grupos silanol nas superfícies da vermiculita, bem o aumento da área superficial específica, com o tratamento ácido, verificado anteriormente na análise textural, que melhora o caráter hidrofílico do material, que geralmente cresce com a elevação da concentração do ácido (ALVES *et al.*, 2014). O segundo evento de decomposição térmica para os sólidos ativados, variou em intervalos de temperatura de 501 até 1159 K, foi relacionado, novamente, a desidroxilação e condensação de grupos silanóis (CHMIELARZ *et al.*, 2014). Pequenos efeitos exotérmicos ocorreram em temperaturas superiores a 1173 K correspondentes à formação de novas fases (PEREZ-MAQUEDA *et al.*, 2012).

Tabela 6. Dados de perdas de massa obtidas por análise termogravimétrica (TG/DTG) para os sólidos: V0, V1, V2 e V3.

Amostra	Evento	Temperatura [K]	Perda de Massa [%]	Perda de total [%]
V0	I	298 – 402	3,5	9,6
	II	402 – 484	1,8	
	III	738 – 1237	4,3	
V1	I	297 – 503	6,6	10,5
	II	693 – 1159	3,9	
V2	I	303 – 489	4,0	10,3
	II	501 – 1153	6,3	
V3	I	297 – 470	6,5	11,9
	II	522 – 1143	5,0	

4.2. Matrizes organofuncionalizadas

4.2.1. Análise elementar

As matrizes organofuncionalizadas pela modificação com agente sililante e pelas reações subsequentes com aminas cíclicas foram caracterizados por análise elementar de cloro e análise elementar de carbono, hidrogênio e nitrogênio (CHN), respectivamente, afim de quantificar os grupos orgânicos ancorados nas superfícies e/ou região interlamelar dos sólidos modificados. O conjunto de dados está apresentado nas Tabela 7 e Tabela 8.

Para os sólidos modificados pela reação de silanização, a análise elementar de cloro confirmou a presença do agente sililante na matriz inorgânica da vermiculita, indicando a efetividade da reação, Tabela 6, Figura 23. As amostras ativadas apresentaram quantidades de cloro ancoradas superiores às

do sólido V0-Cl, respaldando a importância do processo de ativação ácida para otimização da reação silanização, visto que as matrizes ativadas possuem maior quantidade grupos silanóis, formados durante o ataque ácido, e a maior disponibilidade destes sítios está diretamente relacionada ao aumento da reatividade destes materiais. Devido a baixa quantidade de grupos ancorados, na vermiculita silanizada sem ativação prévia, a mesma não foi utilizada nas reações subsequentes com as aminas.

Tabela 7. Análise elementar de cloro em porcentagem e em quantidade de matéria por massa de massa dos materiais modificados.

Sólido	% (Cl)	N _{cl} (mmol/g)
V0Cl	0,50	0,14
V1Cl	5,42	1,53
V2Cl	5,33	1,50
V3Cl	5,36	1,51

As quantidades de grupos imobilizados nos sólidos modificados com a piperazina e a 1,4-Bis-(3-aminopropil)piperazina foram determinadas a partir dos percentuais de carbono, hidrogênio e nitrogênio. Os resultados apontam que ocorreu imobilização dos grupos orgânicos nitrogenados nas espécies silanizadas, indicando que as reações foram efetivas, Tabela 7, Figura 24.

Tabela 8. Análise elementar de carbono, hidrogênio e nitrogênio em porcentagem e em quantidade de matéria por massa de massa dos materiais modificados.

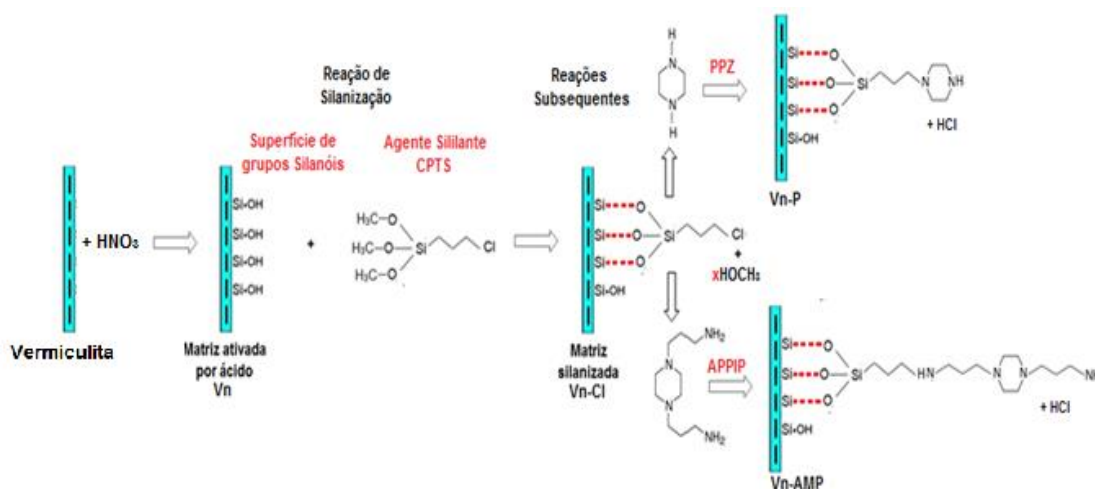
Sólido	% (C)	mmol/g (C)	% (H)	% (N)	mmol/g (N)	q (mmol/g)	C/N (*Teórico)
V1P	12,35	10,29	2,46	4,27	3,05	1,52	3,37 (*3,50)
V2P	12,89	10,74	2,45	4,50	3,21	1,60	3,35 (*3,50)
V3P	12,48	10,40	2,48	3,48	2,48	1,24	4,19 (*3,50)
V1AMP	11,15	9,29	2,30	3,07	2,19	0,55	4,38 (*3,25)
V2AMP	11,70	9,75	2,58	2,77	1,98	0,50	4,94 (*3,25)
V3AMP	11,40	9,50	2,51	2,36	1,68	0,42	5,65 (*3,25)

As reações subsequentes à silanização mostraram relativa eficiência, onde a imobilização de PPZ variou de 1,24 a 1,60 mmol.g⁻¹, quando comparados com os resultados obtidos por sílica organofuncionalizada com o mesmo agente sililante, o ancoramento de PPZ máximo foi de 0,54 mmol.g⁻¹ (ESPÍNOLA *et al*,

2013). Com base na quantidade de matéria de silano ancorado nas matrizes silanizadas apresentados na Tabela 7, os sólidos modificados com PPZ possuem baixa superfície de grupos cloropil remanescentes que não sofreram reação, isso pode evidenciado pela aproximação da relação carbono/nitrogênio teórica (C/N), no entanto, nos sólidos modificados com APPIP foi possível verificar uma proporção de carbono maior que o esperado. De forma geral, observou-se maiores quantidades de nitrogênio nas matrizes modificadas com a PPZ, esta ocorrência está relacionada, possivelmente, com uma distribuição não homogênea dos grupos cloropil nas matrizes silanizadas, bem como maiores tensões torcionais para a molécula de APPIP, dificultando a reação da mesma.

A Figura 24 apresenta uma esquematização generalizada e ilustrativa das substituições nucleofílicas nos processos de organofuncionalização por meio da silanização seguidas das reações com piperazinas, das matrizes previamente ativadas da vermiculita.

Figura 24. Esquema sequencial das reações de organofuncionalização por substituição nucleofílica das matrizes ácidas da vermiculita.



Fonte: próprio autor.

4.2.2. Difração de raios X

A análise de difração de raios-X é um método de grande relevância para caracterizar argilas modificadas com espécies orgânicas, visto que a técnica permite avaliar a cristalinidade e a expansão do espaçamento basal dos

materiais. Os difratogramas dos sólidos organofuncionalizados pela reação de sinalização e pelas reações subsequentes com as piperazinas estão apresentadas na Figura 25 a 27.

Figura 25. Difratogramas de raios X dos sólidos organofuncionalizados: V1-Cl, V1-P e V1-AMP.

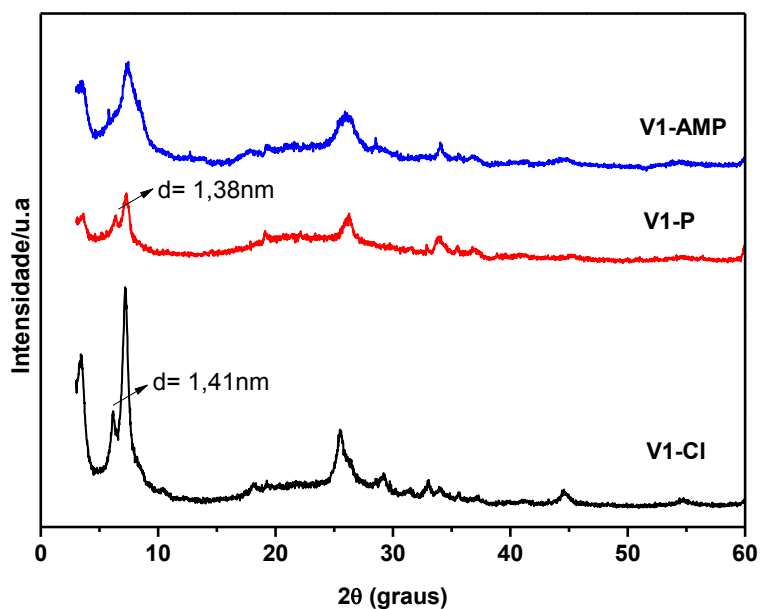


Figura 26. Difratogramas de raios X dos sólidos organofuncionalizados: V2-Cl, V2-P e V2-AMP.

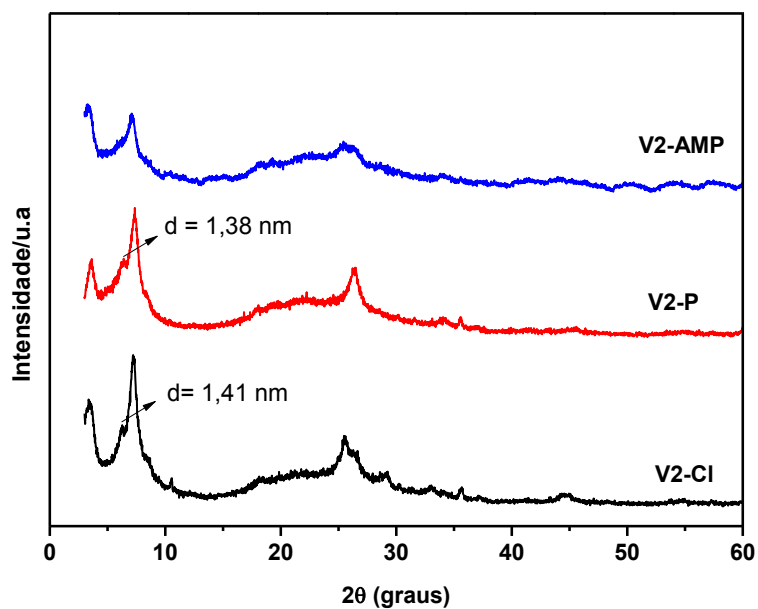
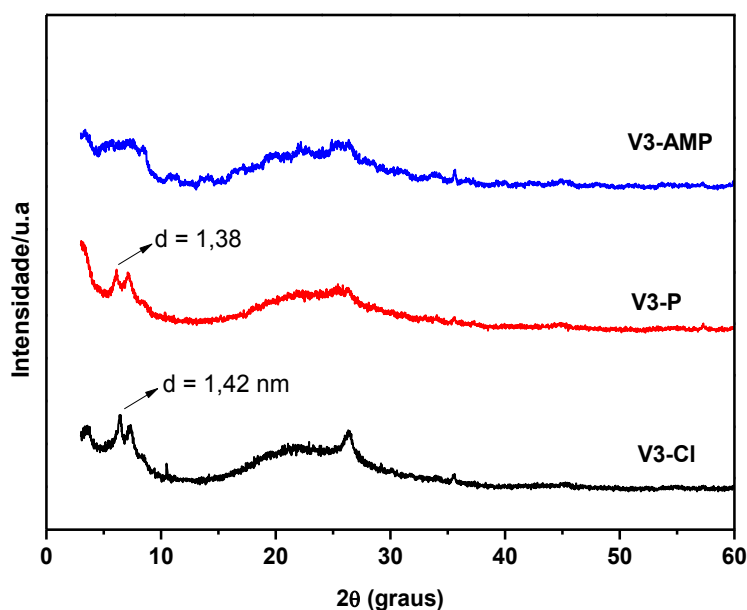
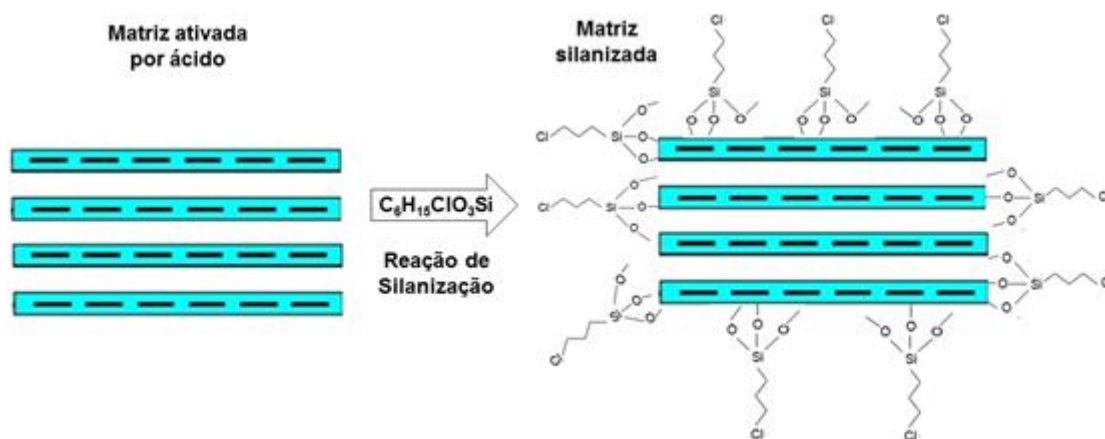


Figura 27. Difratrogramas de raios X dos sólidos organofuncionalizados: V3-Cl, V3-P e V3-AMP



Os difratogramas dos sólidos silanizados não apresentaram mudanças no espaço interlamelar para o plano de reflexão principal (0 0 2), o que pode ser um indicativo de que possivelmente não houve intercalação do agente sililante no espaço interlamelar, e que a reação ocorreu na superfície externa e de bordas, Figura 28.

Figura 28. Esquema generalizado de reação do 3-cloropropiltrimetoxissilano com a vermiculita



Fonte: Próprio autor.

Os difratogramas para os sólidos modificados com PPZ e APPIP apresentaram progressiva perda de cristalinidade. Para os sólidos modificados com PPZ é possível observar uma pequena contração das lamelas, indicado por valores de 2θ um pouco maiores para o plano principal d (0 0 2), devido,

possivelmente a perda de água interlamelar nos sólidos modificados, durante a reação. Não mais se observa o pico referente ao plano (0 0 2) da vermiculita para os sólidos modificados com APPIP, indicando que a introdução dos grupos orgânicos acarreta desorganização na estrutura cristalina do material.

4.2.3. Espectroscopia de absorção na região do infravermelho.

Os espectros de absorção na região do infravermelho dos sólidos organofuncionalizados pela reação de sinalização e pelas reações subsequentes com as piperazinas estão apresentadas na Figura 29 a 31.

Figura 29. Espectros de absorção na região do infravermelho dos sólidos: V1, V1-Cl, V1-P e V1-AMP

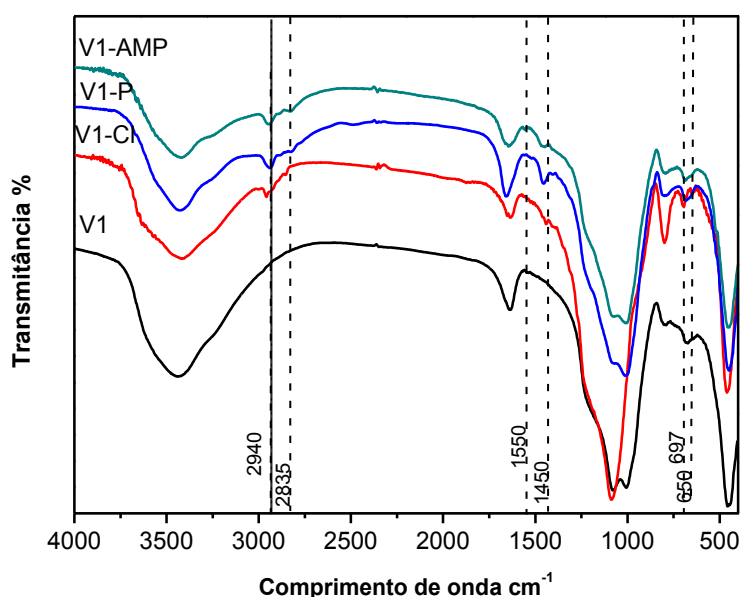


Figura 30. Espectros de absorção na região do infravermelho dos sólidos: V2, V2-Cl, V2-P e V2-AMP.

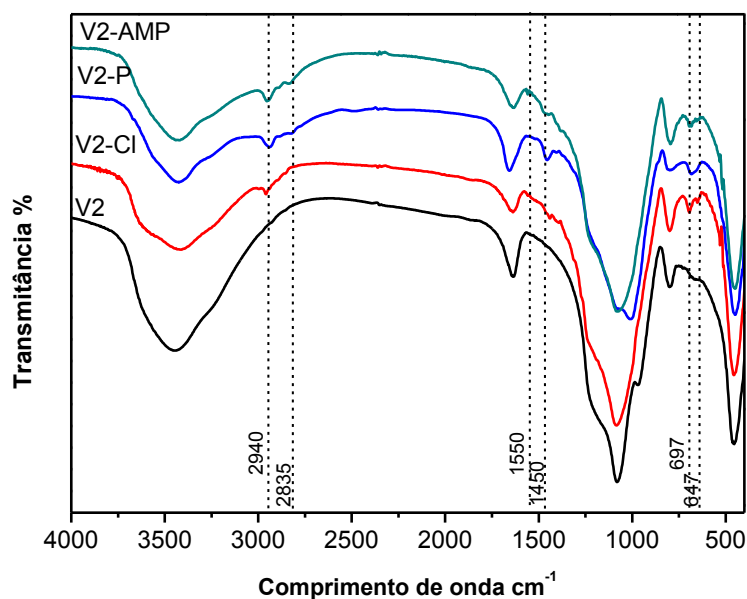
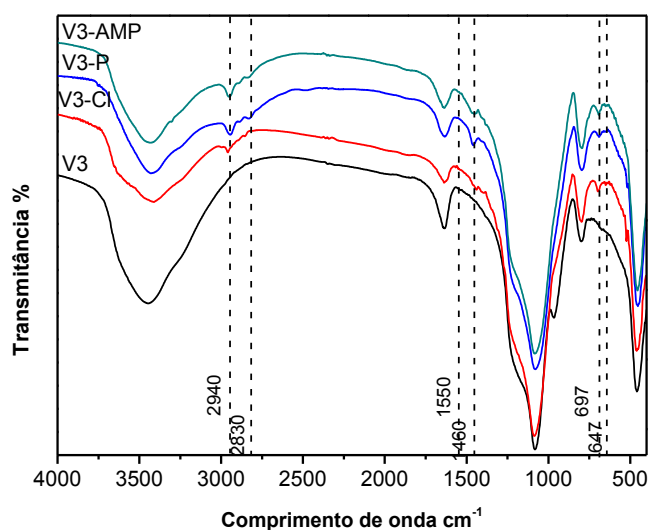


Figura 31. Espectros de absorção na região do infravermelho dos sólidos: V3, V3-Cl, V3-P e V3-AMP.



Os espectros de infravermelho das amostras silanizadas sugerem efetivação da reação pelo surgimento de novas bandas não verificadas nas matrizes ativadas. É possível observar novas bandas na região 2940 e 2835 cm^{-1} referente a estiramentos da ligação C-H, e na região de 1440 cm^{-1} que está relacionada a deformação da ligação C-H no grupo CH_2 . Essas absorções são características do esqueleto orgânico de diferentes agentes silantes (FERNÁNDEZ *et al.*, 2013; ALVES *et al.*, 2013; TRAN *et al.*, 2016; SANTOS *et*

al., 2016). A banda de estiramento da ligação C-Cl na região de 657 cm^{-1} não foi observada, aventa-se essa ocorrência a sobreposição por parte das bandas relacionadas aos grupos metálicos da estrutura inorgânica, que ocorrem na mesma região.

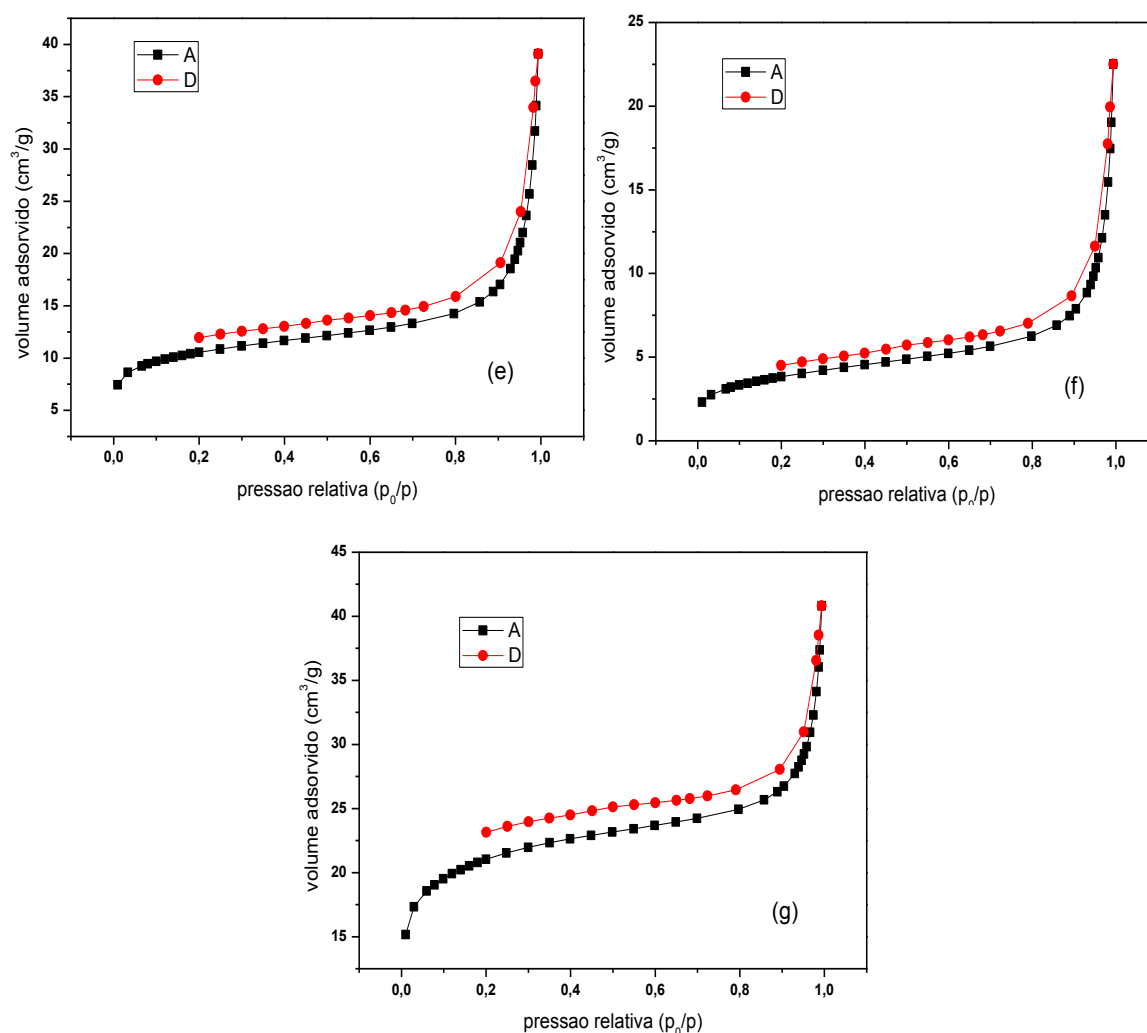
Os espectros de infravermelho das amostras modificadas com PPZ e com APPIP mostraram bandas em 2940 cm^{-1} e em 2835 cm^{-1} referente ao estiramento simétricos e assimétricos da ligação C-H, respectivamente. A banda referente a ligação N-H na região de 3570 cm^{-1} não foi observada, esta banda se encontra na região de absorção dos grupos silanóis, e provavelmente foi sobreposta (FONSECA *et al.*, 2006). No entanto, é possível verificar uma banda região de 1450 cm^{-1} , e para os sólidos modificados com APPIP uma banda em 1560 cm^{-1} , atribuídas às vibrações de deformação simétrica do grupo NH_2^+ , sugerindo que os grupos amino estão protonados, resultado da interação entre os grupos O-H da vermiculita e os centros básicos das piperazinas (FONSECA *et al.*, 2006).

4.2.4. Análise textural

4.2.4.1. Matrizes sinalizadas

As isotermas de adsorção e dessorção de N_2 foram utilizadas para determinar as propriedades texturais das matrizes silanizadas, as quais estão apresentadas na Figura 32.

Figura 32. Isotermas de adsorção e dessorção de nitrogênio para matrizes sinalizadas: e) V1-Cl, f) V2-Cl e g) V3-Cl.



As isotermas para os sólidos resultantes do processo de silanização apresentam perfil do tipo IV, ou seja, não houve variação na forma em relação as matrizes ácidas, porém diferenças quantitativas na porosidade foram observadas (GEEG e SING, 1982). Em relação às matrizes percussoras ativadas, estes materiais apresentaram um volume de nitrogênio adsorvido a baixas pressões relativas e um volume total de adsorção gasosa inferiores. Essa observação sugere que os grupos orgânicos ancorados na matriz bloquearam o acesso do adsorbato as superfícies de microporos. Esse aspecto apresenta-se como um indicativo da efetividade da reação de silanização (MOREIRA *et al.*, 2017).

A partir das isotermas adsorção/dessorção de N₂, a área superficial específica (S_{BET}) dos sólidos silanizados foram determinadas, cujos resultados

estão na Tabela 9. Observa-se uma redução acentuada da área superficial e do volume de microporos destes sólidos, possivelmente devido o impedimento do acesso das moléculas gasosas devido a presença do agente siliante na matriz inorgânica.

Tabela 9. Propriedades texturais obtidas por medidas de adsorção/dessorção de N₂ para os sólidos silanizados. S_{BET} - área superficial, V_μ - volume de microporos e D_p - diâmetro médio de poro.

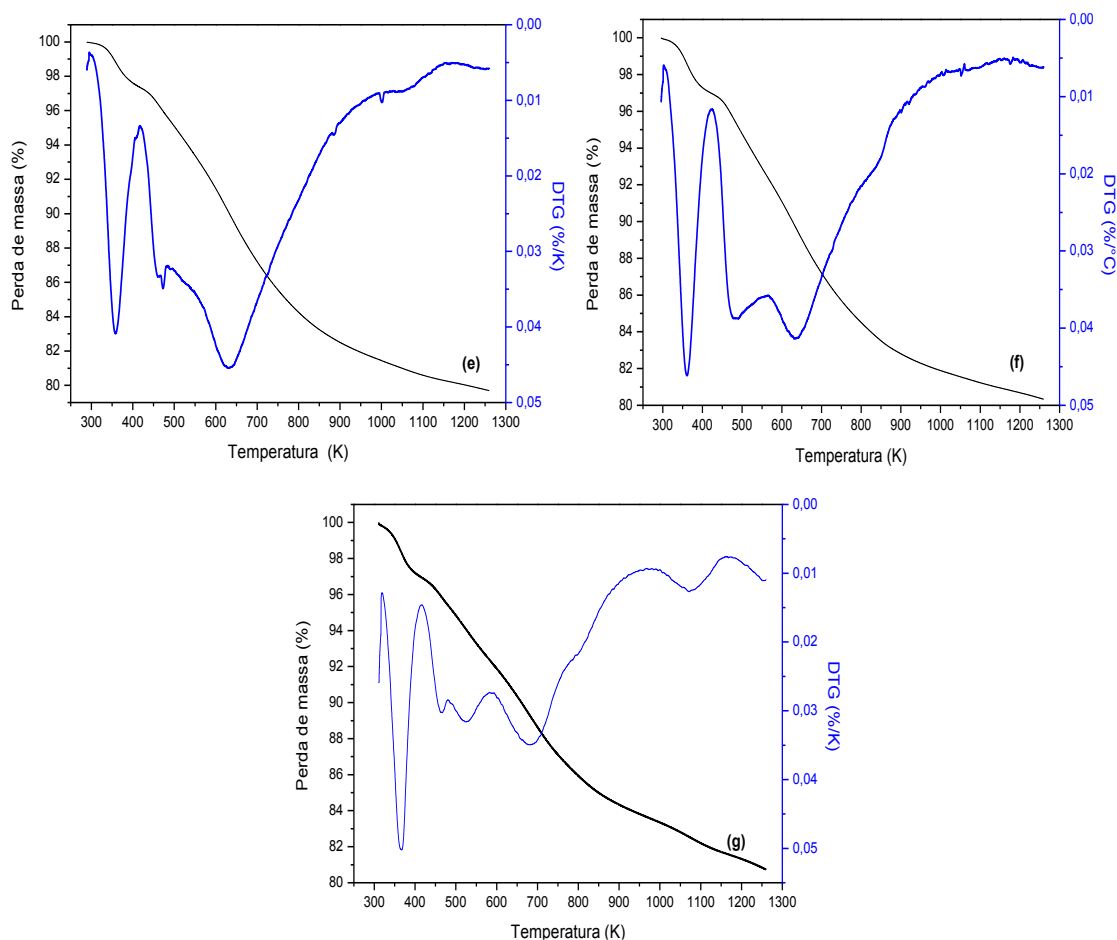
Sólidos	S _{BET} (m ² g ⁻¹)	V _μ (cm ³ g ⁻¹)	D _p (nm)
V1-Cl	37	0,00811	13,1
V2-Cl	14	0,00114	13,5
V3-Cl	73	0,01823	7,2

4.2.5. Análise termogravimétrica

4.2.5.1. Matrizes sinalizadas

Objetivando avaliar a estabilidade térmica e um possível aumento na perda de massa após a reação com o agente sililante, foi realizado a análise termogravimétrica para os sólidos silanizados, cujos resultados estão resumidos na Figura 33 e Tabela 10.

Figura 33. Curvas termogravimétricas e suas derivadas das matrizes organofuncionalizadas com o agente sililante Cl: e) V1-Cl; f) V2-Cl e g) V3-Cl.



As matrizes silanizadas apresentam três eventos principais de decomposição térmica. A primeira perda de massa ocorreu em intervalos que variaram entre temperaturas de 291 a 423 K para os três sólidos, correspondendo a saída de água molecular fisicamente adsorvida pelo material (FERNANDEZ *et al*, 2013). O segundo evento termogravimétrico ocorreu entre 418 e 957 K, para os três produtos, e foi atribuído a decomposição da matéria orgânica incorporada nos materiais e da água remanescente (FERNANDEZ *et al*, 2013; SILVA *et al*, 2014). Ressalva-se que nas matrizes ativadas as contribuições da decomposição de água de hidratação dos cátions interlamelares são mínimas, pois estes foram trocados por íons H_3O^+ no tratamento ácido, assim podemos inferir que as perdas de massa no intervalo do presente evento térmico, são provenientes, em grande parte, da matéria orgânica ancorada durante a sinalização. O terceiro evento, que ocorreu entre

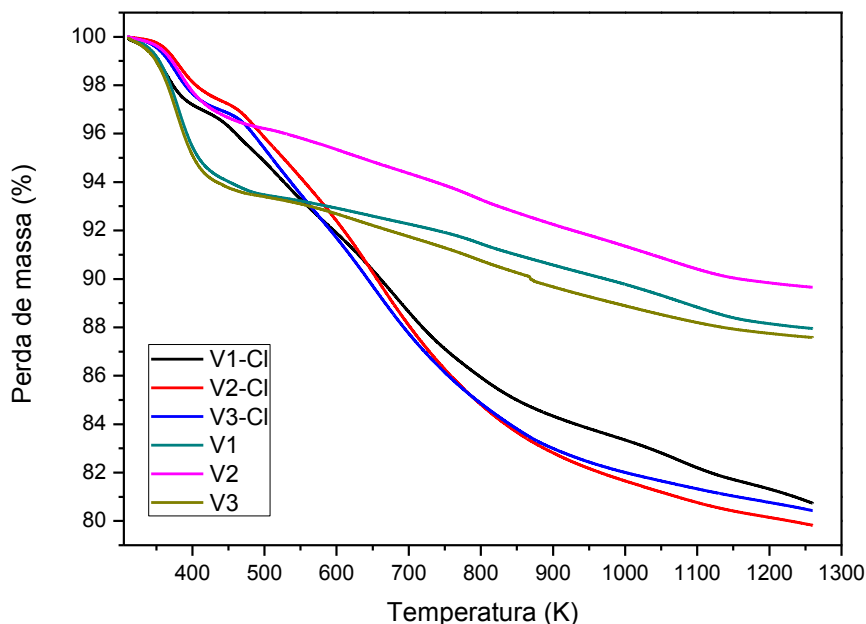
intervalos 978 e 1159 K, foi atribuído a desidroxilação das hidroxilas e correspondentes grupos silanóis estruturais do mineral (SILVA *et al*, 2014).

Tabela 10. Dados de perdas de massa obtidas por análise termogravimétrica (TG/DTG) para as matrizes organofuncionalizadas por silanização: V1-Cl, V2-Cl e V3-Cl.

Amostra	Evento	Temperatura [K]	Perda de Massa [%]	Perda de total [%]
V1-Cl	I	309 – 412	3,00	17,9
	II	418 – 957	13,1	
	III	958 – 1168	1,80	
V2-Cl	I	291 – 419	2,70	19,4
	II	423 – 927	15,3	
	III	978 – 1159	1,40	
V3-Cl	I	300 – 423	3,00	18,1
	II	423 – 927	15,0	
	III	975 – 1155	1,10	

A análise termogravimétrica para os sólidos silanizados corrobora para a confirmação da efetividade das reações de silanização, devido aos valores inferiores de perda de massa de água adsorvida, e perdas de massa totais superiores às matrizes precursoras ácidas. Essas observações podem ser melhor visualizadas na Figura 34.

Figura 34. Curvas termogravimétricas das matrizes organofuncionalizadas com o agente sililante 3-cloropropiltrimetoxissilano e das matrizes ativadas precursoras.



4.2.5.2. Matrizes modificadas com piperazina e 1,4-Bis-(3-aminopropil)piperazina

Objetivando avaliar a estabilidade térmica e um possível aumento na perda de massa após as reações subsequentes à silanização, foi realizada a análise termogravimétrica para os sólidos modificadas com piperazina e 1,4-Bis-(3-aminopropil)piperazina, apresentados na Figura 35 e 36, respectivamente, resumidas na Tabela 11.

Figura 35. Curvas termogravimétricas e suas derivadas das vermiculitas com piperazina: h) V1-P; i) V2-P e j) V3-P.

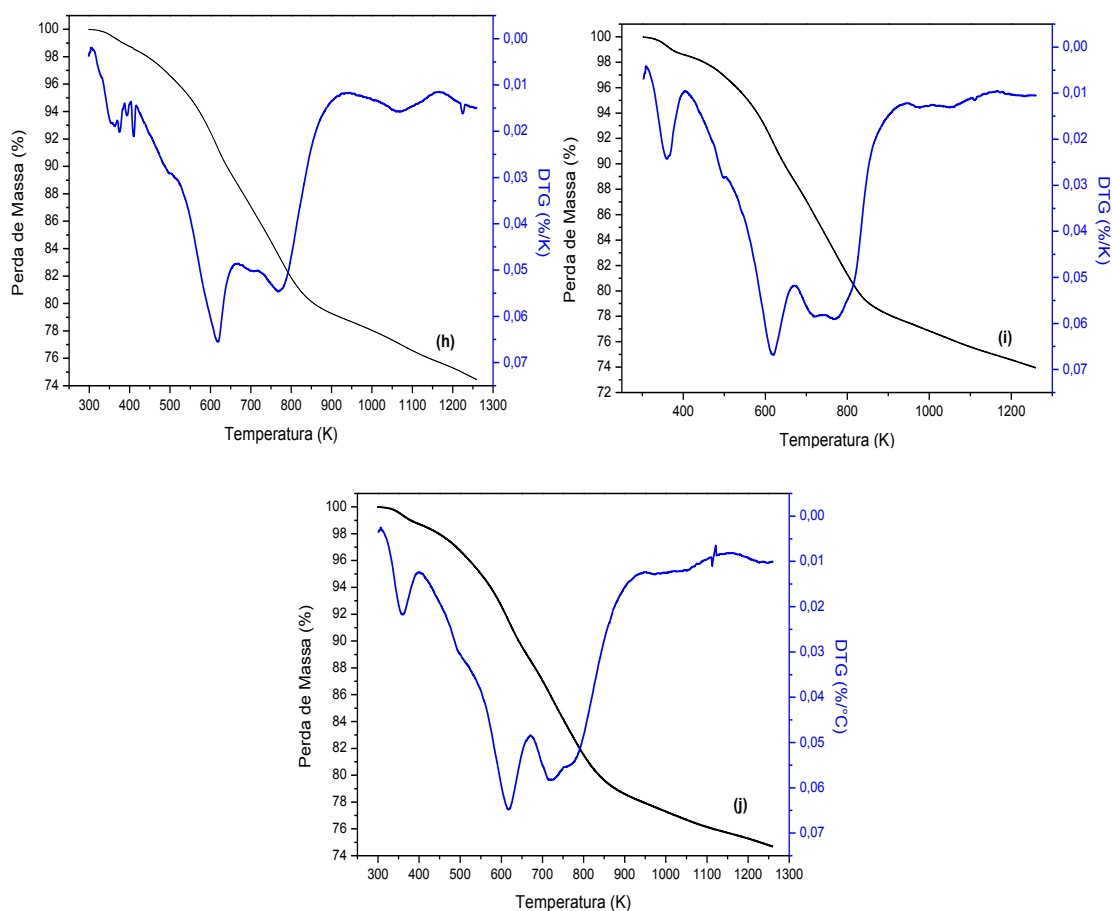
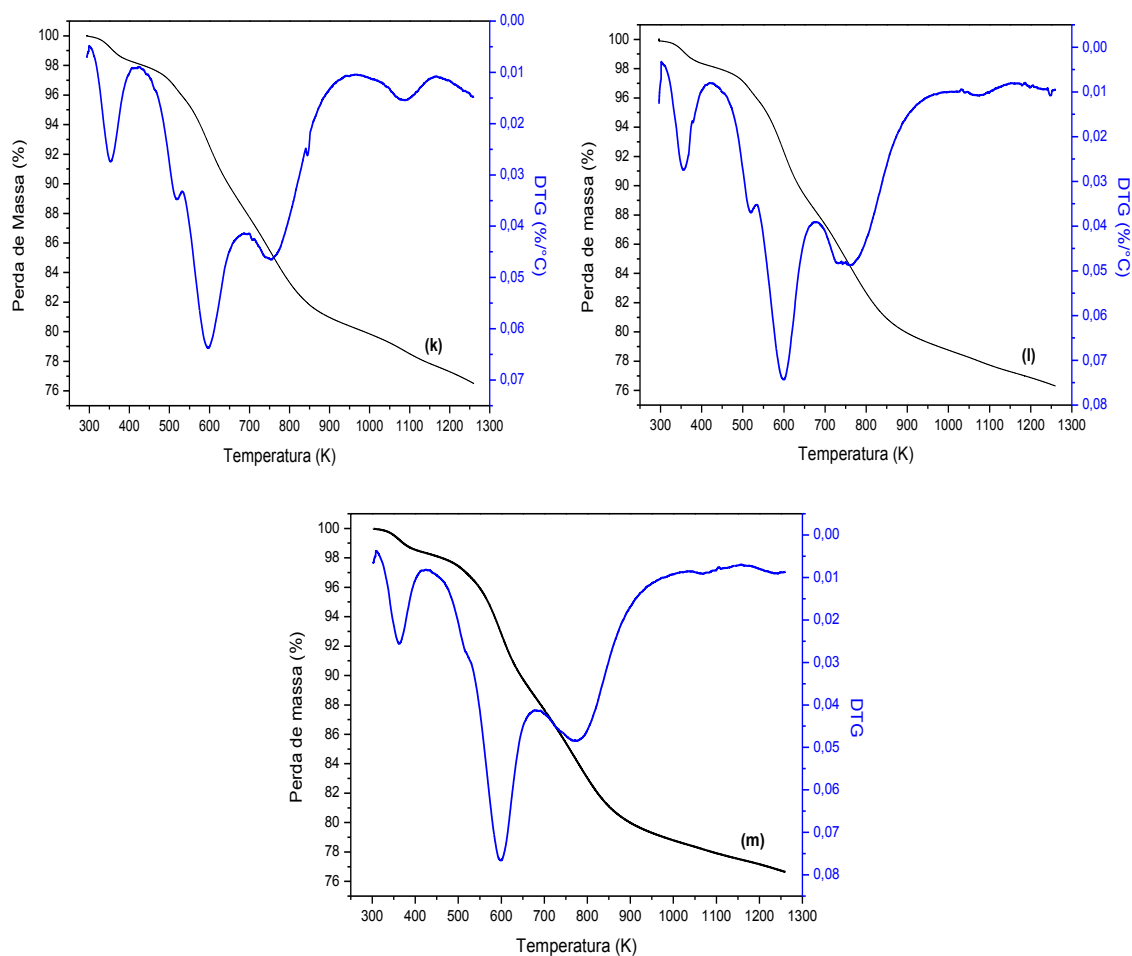


Figura 36. Curvas termogravimétricas e suas derivadas das vermiculitas com 1,4-Bis-(3-aminopropil)piperazina: k) V1-AMP; l) V2-AMP e m) V3-AMP.



Nas curvas termogravimétricas da vermiculita modificada com piperazina e 1,4-Bis-(3-aminopropil)piperazina foi possível observar para todos os sólidos três eventos endotérmicos de perdas de massa em intervalos variantes, porém sem muitas disparidades, sendo a primeira referente a saída de água fisicamente retida, a segunda perda refere-se principalmente a decomposição de grupos orgânicos ancorados e da água remanescente, e o terceiro evento térmico é referente à condensação dos grupos silanóis residuais e de resquícios de material orgânico (ESPÍNOLA et al, 2003).

Tabela 11. Dados de perdas de massa obtidas por análise termogravimétrica (TG/DTG) para as matrizes organofuncionalizadas com P e AMP: V1-P, V2-P, V3-P, V1-AMP, V2-AMP e V3-AMP.

Amostra	Evento	Temperatura [K]	Perda de Massa [%]	Perda de total [%]
V1-P	I	303 – 419	1,6	24,0
	II	419 – 933	21,0	
	III	933 – 1171	2,4	
V2-P	I	309 – 406	1,6	25,0
	II	406 – 945	21,0	
	III	945 – 1156	2,4	
V3-P	I	307 – 402	1,3	24,1
	II	402 -944	20,6	
	III	944 – 1139	2,2	
V1-AMP	I	294 – 417	1,9	21,0
	II	417 – 933	17,4	
	III	933 – 1163	2,1	
V2-AMP	I	296 – 421	1,8	22,1
	II	421 – 980	19,1	
	III	1025 – 1159	1,2	
V2-AMP	I	305 – 425	1,7	21,7
	II	444 – 1009	19,4	
	III	1010 -1073	1,2	

A análise termogravimétrica evidencia, mais uma vez, a efetividade das reações subsequentes, visto que os valores de perda de massa total para estes últimos sólidos foram superiores em relação as matrizes precursoras. Essas observações podem ser melhor visualizadas nas Figura 37 e 38. Os resultados também foram coerentes com a análise elementar de CHN, os sólidos modificados com PPZ apresentaram uma perda de massa total maior, variando de 24 a 25%, em relação aos sólidos com APPIP, de 21,4 a 22,7%, confirmando que a reação com piperazina obteve maior êxito, com uma maior quantidade de moléculas ancoradas na matriz inorgânica.

Figura 37. Curvas termogravimétricas das matrizes modificadas com piperazina e das matrizes sinalizadas precursoras.

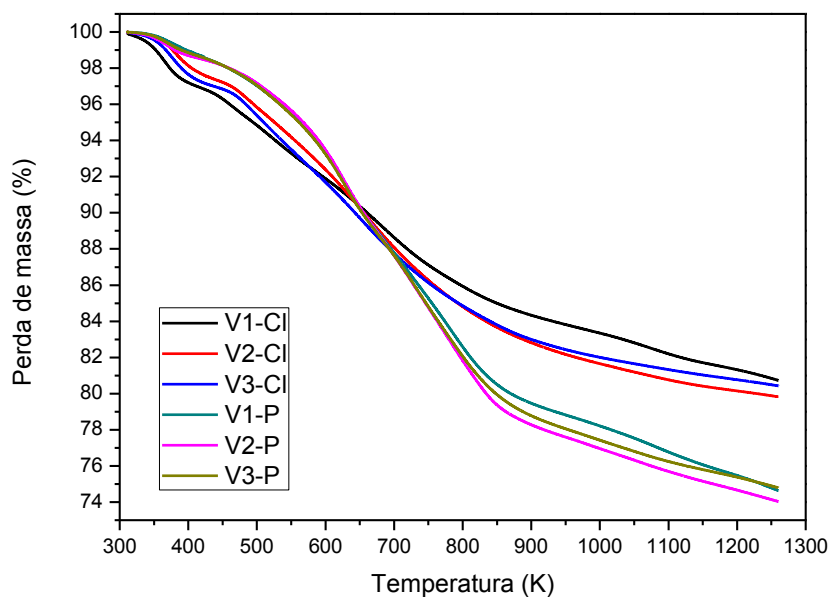
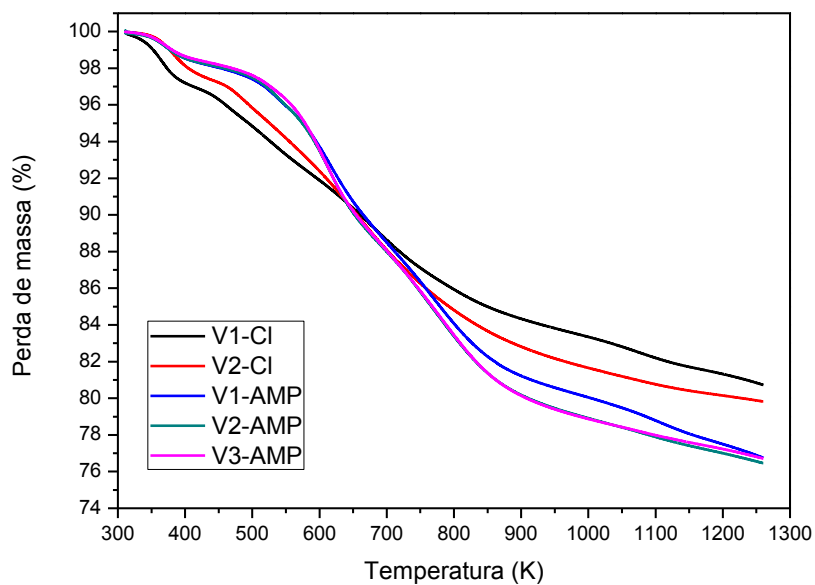


Figura 38. Curvas termogravimétricas das matrizes modificadas com 1,4-Bis-(3-aminopropil)piperazina e das matrizes sinalizadas precursoras.



4.2.6. Espectrometria de emissão óptica com plasma – ICP OES.

A vermiculita bruta e matrizes provenientes de reações com as aminas cíclicas foram modificadas com as espécies metálicas Cu^{2+} e Zn^{2+} . A

quantificação dos metais foi realizada por meio da espectrometria de emissão óptica com plasma (ICP OES), e podem ser observadas nas Tabelas 12 e Tabela 13.

Tabela 12. Quantidades de Cu^{2+} adsorvido nos ensaios de modificação da vermiculita bruta e matrizes nitogrenados com cations metálicos.

Amostra	q (mmol/g)	Amostra	q (mmol/g)
V0Cu001	0,744	V0Cu005	0,302
V2-PCu001	0,466	V2-PCu005	0,748
V2-AMPCu001	0,067	V2-AMPCu005	0,252

Tabela 13. Quantidades de Zn^{2+} adsorvido nos ensaios de modificação da vermiculita bruta e matrizes nitogrenados com cations metálicos.

Amostra	q (mmol/g)	Amostra	q (mmol/g)
V0Zn001	0,560	V0Zn005	0,967
V2-PZn001	0,180	V2-PZn005	0,050
V2-AMPZn001	0,297	V2-AMPZn005	0,117

A partir da detetminação foi possível verificar ancoramento das espécies metálicas nos materiais avaliados. Aventa-se que as interações com as espécies metálicas ocorreram por meio de troca iônica, para vermiculita bruta, assim como por complexação com os centros básicos nitrogenados, no caso das matrizes organofuncionalizadas.

4.2.7. Avaliação de atividade antimicrobiana

4.2.7.1. Teste Concentração Inibitória Mínima (CMI)

A atividade antibacteriana dos sólidos iniciais (V0, V1, V2 e V3), dos sólidos organofuncionalizados com aminas cíclicas (V1-P, V2-P, V3-P, V1-AMP, V2-AMP, V3-AMP), e dos sólidos resultantes da adsorção de cobre e de zinco (VCu001, V2-AMPCu001, V2-PCu001, VCu005, V2-AMPCu005, V2-PZn005, VZn001, V2-AMPZn001, V2-PZn001, VZn005, V2-AMPZn005, V2-PZn005), foi avaliada frente as espécies bacterianas *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus* pelo teste de Concentração Mínima Inibitória (CIM) realizado em placas de microdiluição com 96 poços. Atualmente, a determinação da CIM, independente da técnica específica utilizada para sua obtenção, é um dos

métodos mais utilizados para confirmar a atividade antibacteriana de argilominerias modificados (HOLESOVÁ *et al.*, 2010; VALASKOVÁ *et al.*, 2010; WU *et al.*, 2011; HUNDÁKOVÁ *et al.*, HOLESOVÁ *et al.*, 2013; HOLESOVÁ *et al.*, 2014; PLACHÁ *et al.*, 2014; SAMLÍKOVÁ *et al.*, 2017).

Nos testes realizados, as concentrações mínimas para demonstrar o efeito bactericida dos sólidos testados foram determinadas pela ausência de crescimento nos poços da placa de microdiluição, indicados pelo corante resazurina. Menores valores de CIM, indicam possivelmente atividade antimicrobianas mais promissoras. Todos os testes foram realizados em triplicada e com controle de crescimento bacteriano (CN). Os resultados verificados nas placas de microdiluição estão expostos na Figura 39 e Figura 40. A CIM de todos os materiais estão apresentados na Tabela 12.

Figura 39. Teste de Concentração Inibitória Mínima (CMI), em mg.cm⁻³ apresentados em microplacas de diluição, com diluição seriada no decorrer das colunas verticais e último micropoço utilizado como controle de crescimento bacteriano (CN), para espécie *S. aureus*, pelos seguintes sólidos: A) V0Cu001; B) V2-AMPCu001; C) V2-PCu001; D) V0Cu005; E) V2-AMPCu005; F) V2-PCu005; G) V0; H) V1; I) V2; J) V3; K) V1-AMP; L) V2-AMP; M) V3-AMP; N) V1-P; O) V2-P; P) V3-P; Q) V0Zn001; R) V2-AMPZn001; S) V2-PZn001; T) V0Zn005; U) V2-AMPZn005; V) V2-PZn005.

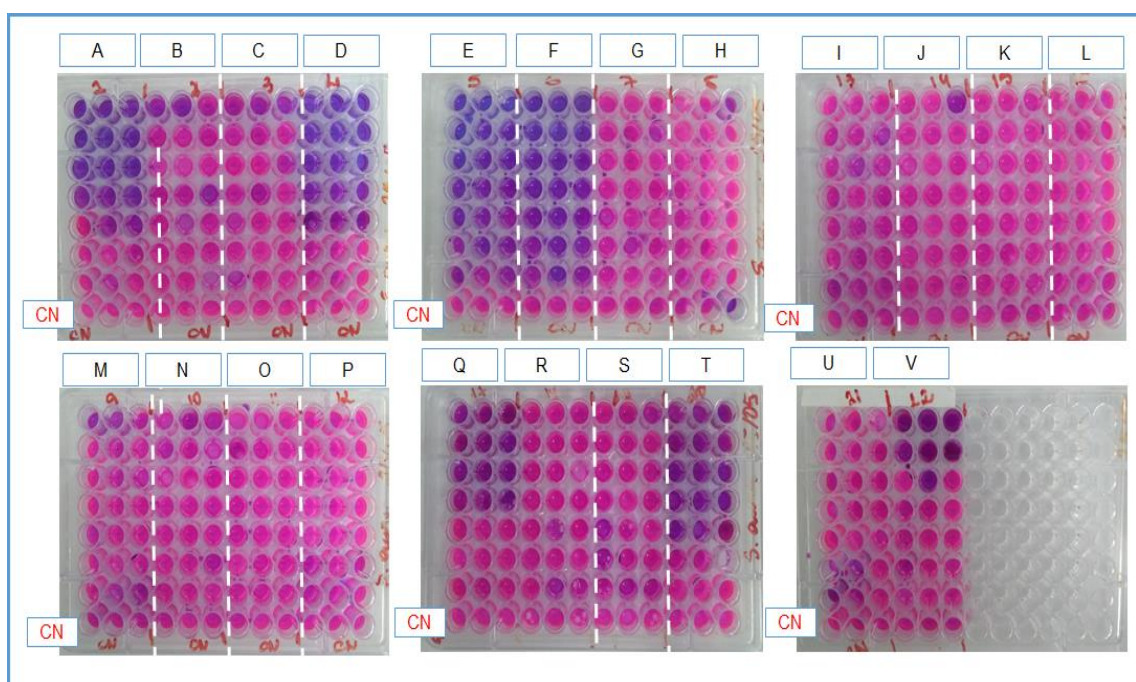


Figura 40. Teste de Concentração Inibitória Mínima (CMI), em mg.cm⁻³ apresentados em microplacas de diluição, com diluição seriada no decorrer das colunas verticais e último micropoço utilizado como controle de crescimento bacteriano (CN), para espécie *E. coli*, pelos seguintes sólidos: A) V0Cu001; B) V2-AMPCu001; C) V2-PCu001; D) V0Cu005; E) V2-AMPCu005; F) V2-PCu005; G) V0; H) V1; I) V2; J) V3; K) V1-AMP; L) V2-AMP; M) V3-AMP; N) V1-P; O) V2-P; P) V3-P; Q) V0Zn001; R) V2-AMPZn001; S) V2-PZn001; T) V0Zn005; U) V2-AMPZn005; V) V2-PZn005.

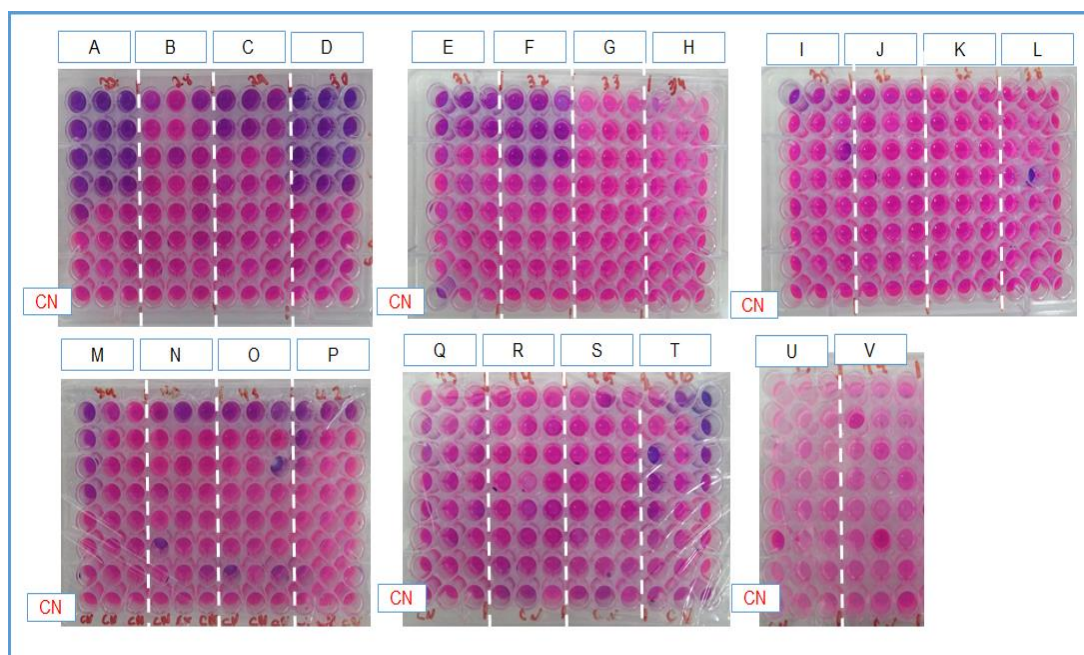


Tabela 14. Concentrações inibitórias mínimas (CIM) em $\mu\text{g.cm}^{-3}$ da vermiculita bruta, matrizes ativadas, matrizes organofuncionalizadas com aminas cíclicas e matrizes modificadas com espécies metálicas.

Sólido	CIM ($\mu\text{g/mL}$) <i>S. aureus</i>	CIM ($\mu\text{g/mL}$) <i>E. coli</i>
V0	*NI	*NI
V1	*NI	*NI
V2	*NI	*NI
V3	*NI	*NI
V1-P	*NI	*NI
V2-P	*NI	1000
V3-P	*NI	1000
V1-AMP	*NI	*NI
V2-AMP	*NI	*NI
V3-AMP	*NI	*NI
V0Cu001	125	125
V2-PCu001	1000	500
V2-AMPCu001	1000	*NI
V0Cu005	62,5	125
V2-PCu005	10,4	250
V2-AMPCu005	20,8	500
V0Zn001	125	*NI
V2-PZn001	*NI	*NI
V2-AMPZn001	*NI	*NI
V0Zn005	62,5	*NI
V2-PZn005	*NI	*NI
V2-AMPZn005	*NI	*NI

*Não apresentaram atividade inibitória de crescimento bacteriano.

Observa-se a partir dos resultados da CIM que a vermiculita bruta, as matrizes ativadas com ácido e a maior parte matrizes modificadas com grupos orgânicos nitrogenados não apresentaram inibição frente a nenhuma das bactérias testadas. Os sólidos V2-P e V3-P apresentaram atividade bacteriostática para a espécie *E. coli*. Aventa-se que maior quantidade de centros básicos (Lewis) nitrogenados presentes nestes sólidos, como verificou-se pela análise elementar de CHN, promovem interações com a superfície bacteriana, que podem comprometer o funcionamento celular adequado. Segundo Underbeytia e colaboradores (2014), a aderência bacteriana sobre argilas organicamente modificadas impede sua função de isolamento, afetam sua morfologia e podem promover a lise celular. Apesar da presença de grupos

orgânicos nitrogenados nos demais sólidos organofuncionalizados com APPIP, confirmados pela análise elementar de CHN, observou-se uma menor quantidade de grupos de nitrogênio para os mesmos, somados a isso, uma possível distribuição heterogênea dos grupos orgânicos na superfície destes sólidos, pode ter prejudicado uma interação efetiva com os microrganismos e assim, estes não apresentaram capacidade inibitória nas concentrações das suspensões em análise. Essa elucidação também pode ser utilizada para explicar o fato do sólido V1-P não apresentar atividade antimicrobiana, mesmo apresentando quantidade de grupos orgânicos ancorados praticamente iguais aos sólidos V2-P e V3-P.

As matrizes resultantes da adsorção com cobre apresentaram um relativo potencial de atividade antimicrobiana, para as duas espécies de microrganismos avaliadas. Uma maior sensibilidade da espécie *S. aureus* foi observada em relação a espécie *E. coli* frente a ação inibitória pelos sólidos. Verificou-se que o aumento da concentração de cobre durante o processo de adsorção, aumentou a atividade antimicrobiana tanto da vermiculita pura como das matrizes modificadas com as piperazinas, devido a maior quantidade de metal ancorada, como observado na análise de ICP OES. Cabe destacar o desempenho destas espécies, provenientes dos sólidos que sofreram modificações de organofuncionalização, V2-AMPCu005 e V2-PCu005, que apresentaram o melhor potencial de ação antimicrobiana.

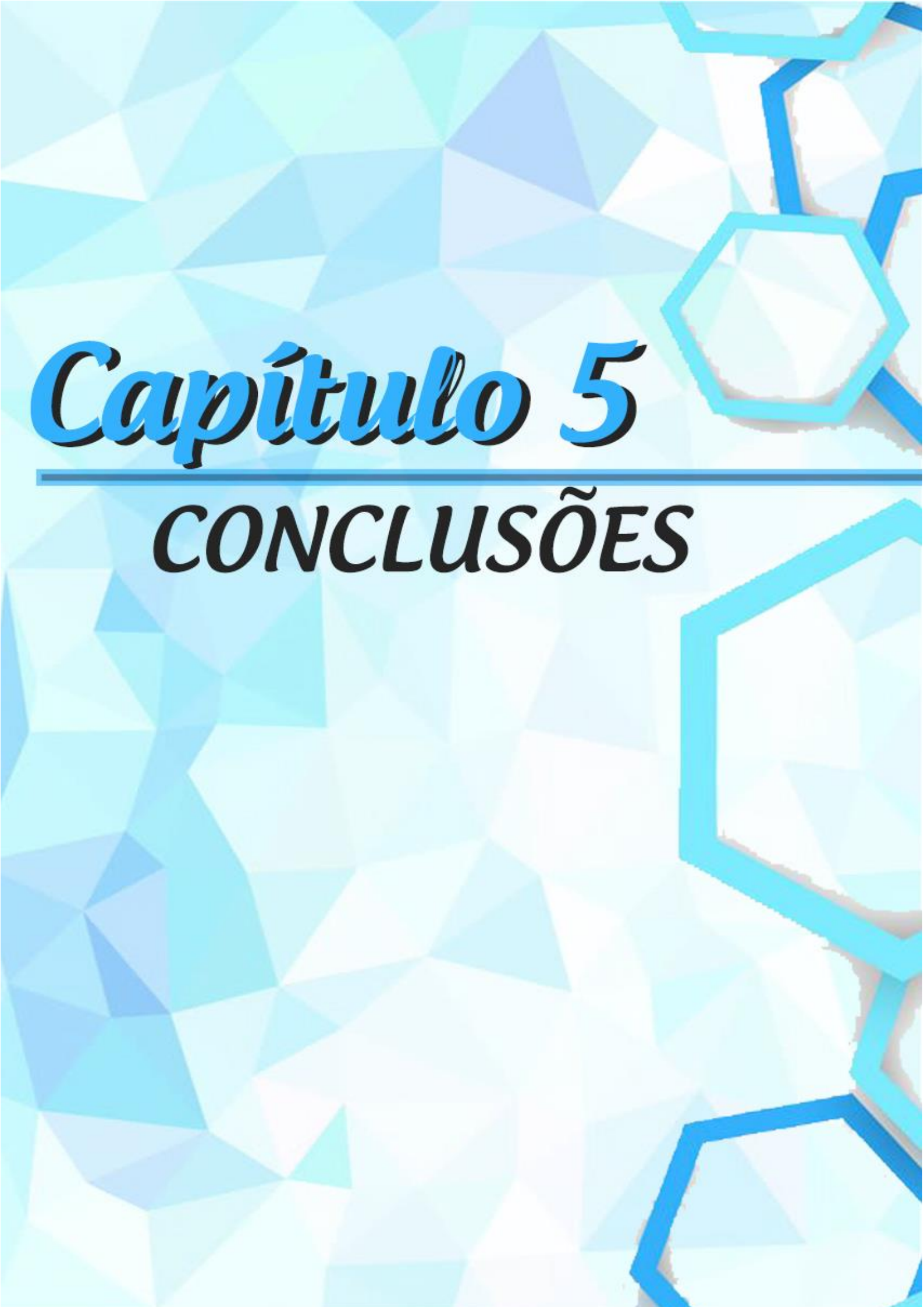
De acordo com o estudo de Espínola e colaboradores (2003), a organofuncionalização de superfície inorgânica com aminas cíclicas do grupo das piperazinas, fornece centros básicos nitrogenados com potencial para complexação de espécies metálicas. Neste sentido, os referidos sólidos modificados com piperazinas, possivelmente complexaram com os íons cobre, aumentando o conteúdo do metal disponível na matriz e sua ação antimicrobiana.

As matrizes resultantes da adsorção de zinco não apresentaram atividade antimicrobiana, para a espécie *E. coli*. No entanto, a vermiculita pura modificada com zinco, apresentou propriedade inibitória para a espécie *S. aureus*. Foi possível verificar que o aumento da concentração de zinco no

processo de adsorção aumentou a atividade antimicrobiana destes sólidos. O sólido V2-AMPZn005 também apresentou ação antimicrobiana.

Como a vermiculita bruta e matrizes organicamente modificadas não apresentaram atividade inibitória, podemos atribuir a ação antimicrobiana às espécies metálicas em estudo, o que corrobora com trabalhos anteriores, onde a ação antimicrobiana do metal, principalmente do cobre, em conjunto com argilominerais foi evidenciada (DRELICH *et al*, 2011; HUNDÁKOVÁ *et al.*, 2013; HOLESOVÁ *et al*, 2013; TAMAYO *et al.*, 2016).

Vários são mecanismos propostos para a ação do cobre e de outras espécies metálicas frente à bactérias, como foi exposto anteriormente, em resumo os mesmos baseiam-se principalmente em interações eletrostáticas e reações do metal com a membrana bacteriana, a partir de grupos presentes em lipoproteínas e fosfolipídios, penetração celular causando desnaturação de proteínas citoplasmáticas e interação com DNA e RNA bacteriano, esses processos causam deformação do microrganismo, inibição de processos vitais e impedem a replicação da bactéria (RAI *et al*, 2009; ROY *et al.*, 2017; TAMAYO *et al*, 2016).



Capítulo 5

CONCLUSÕES

5. CONCLUSÕES

Os dados da difratometria de raios X, espectroscopia de absorção na região do infravermelho, análise textural e a análise térmica confirmam da reação de ativação ácida, indicando a obtenção de materiais com menor cristalinidade, maior área superficial total e com maior número de grupos silânicos, em relação a vermiculita bruta.

A análise elementar de cloro confirma a presença do agente silante na matriz inorgânica, apoiada pelo surgimento de novas bandas presentes nos espectros de infravermelho para as matrizes silanizadas, referentes ao esqueleto orgânico do agente silante. A análise elementar também demonstra a importância do processo de ativação ácida, para otimização da reação de silanização de vermiculita, visto que os produtos ativados apresentaram uma quantidade de grupos orgânicos ancorados relativamente maior que a vermiculita bruta, isto pode ser atribuído a formação de grupos silânicos durante a ativação ácida, como sugerido nas caracterizações anteriores.

A organofuncionalização com aminas cíclicas para obtenção de materiais híbridos inorgânico-orgânicos com centros básicos nitrogenados é confirmada pela análise elementar de CHN e apoiada pelo surgimento de bandas referentes aos grupos nitrogenados das piperazinas na análise de espectroscopia de absorção na região do infravermelho. Observou-se maior sucesso nas reações com a PPZ em relação a APPI, possivelmente devido a um maior impedimento estérico que está última possa ter sofrido, e assim dificultado a reação, bem como uma não homogeneidade dos sítios reacionais na superfície da matriz inorgânica.

A partir das diversas modificações realizadas nas matrizes, pôde-se obter diferentes materiais com propriedades antimicrobianas. Os sólidos organofuncionalizados com piperazina, V2-P e V3-P, apresentaram ação inibitória frente a bactéria *E. coli*, apontando que uma maior extensão do processo de organofuncionalização pode conferir propriedades antimicrobiana a argila em estudo. A atividade antimicrobiana do cobre e do zinco em conjunto com as matrizes inorgânicas foram evidenciadas. Todos os sólidos resultantes

da adsorção com cobre apresentaram um relativo potencial de atividade antimicrobiana para as duas espécies de microrganismos avaliadas, *S. aureus* e *E. coli*. A vermiculita pura modificada com zinco, apresentou propriedade inibitória para a espécie *S. aureus*.

Os agentes antimicrobianos obtidos neste estudo apresentam-se como um recurso alternativo que possivelmente pode baratear os custos em medidas de combate e controle à agentes infecciosos e patagônicos de grande importância, que levam a elevadas taxas de morbidade e mortalidade principalmente nos países em desenvolvimento. Estes materiais também podem se configurar como uma matéria-prima promissora, onde a inibição de bactérias traria diversas vantagens, como na produção de plásticos e embalagens, na indústria têxtil, na produção de tintas, e na produção de materiais hospitalares e farmacêuticos.



Capítulo 6

REFERÊNCIAS

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ASGARI, M.; ABOUELMAGD, A.; SUNDARARAJ, U. Silane functionalization of sodium montmorillonite nanoclay and its effects of rheological and mechanical properties of HDPE/clay nanocomposites. **Applied Clay Science**. 146, 439-448, 2017.

ASGARI, M.; SUNDARARAJ, U. Silane functionalization of sodium montmorillonite nanoclay: the effect of dispersing media on intercalation and chemical grafting. **Applied Clay Science**, 153, 228-238, 2018.

ALEXANDRE-FRANCO, M.; LISO-ALBARRÁN, A.; GÓMES-SERRANO, V. An identification study of vermiculites and micas adsorption of metal ions aqueous solution. **Fuel Processing Technology**. 92, 200-2005, 2011.

ALVES, A. P. M.; ARAÚJO, A. S.; BEZERRA, F. A.; SOUSA, K. S.; LIMA, S. J. G.; FONSECA, M. G. Kinetics of dehydration and textural characterizations of selectively leached vermiculites. **J. Therm. Anal. Calorim.** 117, 19-26, 2014.

ALVES, A. P. M.; FONSECA, M. G.; WANDERLEY, A. F. Inorganic-organic hybrids originating from organosilane anchored onto leached vermiculite. **Materials Research**. 16(4), p. 891-897, 2013.

AVELINO, M. C. Vermiculitas organofuncionalizadas como adsorventes e sistemas de liberação de fármacos. 2013, 160f. **Tese (Doutorado em Química)** - Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2013.

AVILA, L.R., DE FARIA, E.H., CIUFFI, K.J., NASSAR, E.J., CALEFI, P.S., VICENTE, M.A., TRUJILLANO, R. New synthesis strategies for effective functionalization of kaolinite and saponite with silylating agents. **Journal of Colloid and Interface Science**. 341, 186–193, 2010.

ARAKAKI, L.N.H.; AIROLDI, C. O relevante papel do agente sililante na modificação de superfícies de polímeros. **Química Nova**. 22, 246-253, 1999.

BERGAYA, F.; JABER, M.; LAMBERT, J.F. Clays and Clay Mineral em: Galimberti, M. (Eds.), Rubber-Clay Nanocomposites; Willey. 3- 37, 2011.

BERGAYA, F.; LAGALY, G. General introduction: clays, clays minerals, and Clay Science. **Handbook of Clay Science**. Vol.5, 2013, cap1.

BISCHOFF, E.; DAITX, T.; SIMON, D. A.; SCHREKKER, H. S.; LIBERMAN, S. A.; MAULER, R. S. Organosilane-functionalized halloysite for high performance halloysite/heterophasic ethylene-propylene copolymer nanocomposites. **Applied Clay Science**. 112-113, 68-74, 2015.

BRANTLEY, S. L.; MELLOTTI, N. P. Surface area and porosity of primary silicate minerals. **American Mineralogist**. 85, 1767–1783, 2000.

BRIGATTI, M. F.; GALÁN, E.; THENG, B. K. G. Structure and mineralogy of clays minerals. **Handbook of Clays Science**. Vol.5, 2013, cap.2.

BRESOLIN, B.M.Z.; DALL’STELLA, J.K.; DA SILVA, S.E.F. Pesquisa sobre a bactéria *Staphylococcus aureus* na mucosa nasal e mãos de manipuladores de alimentos em Curitiba/ Paraná/Brasil. **Estudos de Biologia**. 27, 59, 27-32, 2005.

BRUNAUER, P. H.; EMMETT, E. TELLER Adsorption of gases in multimolecular layers. **Journal of the American Chemical Society**. 60, 309-319, 1938.

BRUNAUER, S.; DEMING, L. S.; DEMING, W. S.; TELLER, E. On a theory of the Van der Waals adsorption of gases. **Journal of the American Chemical Society**. 62, 1723- 1732, 1940.

CAVALCANTE, P. M. T.; BALTAR, C. A. M.; SAMPAIO, J. A. Micas. **Rochas e Minerais Industriais**. CETEM/MCT, 2005, cap. 25.

CARRADO, K. A. Introduction: clay structure, surface acidity, and catalysis. **Handbook layered materials**. New York : Marcel dekker, 2004, cap. 1.

CARRETERO, M. I. Clay minerals and their beneficial effects upon human health. A review. **Applied Clay Science**. 2, p. 155-163, 2002.

CHMIERLARZ, L.; KOWALCZYK, A.; MICHALIK, M.; DUDEK, B.; PIWOWARSKA, Z.; MATUSIEWICZ, A. Acid-activated vermiculites and phlogophites as catalysts for the DeNO_x process. **Applied Clay Science**. 49, p. 156-162, 2010.

CHMIELARZ, L.; RUTKOWSKA, M.; JABLONSKA, M.; WEGRZYN, A.; KOWALCZYK, A.; BORON, P.; PIOWARSKA, Z.; MATUSIEWCZ, A. Acid-treated vermiculites as effective catalysts of high-temperature N₂O decomposition. **Applied Clay Science**. 101, 237-245, 2014.

CHMIELARZ, L.; WOJCIECHOWSKAA, M.; RUTKOWSKAA, M.; ANDRZEJ ADAMSKIA, A.; WEGRZYNA, A.; KOWALCZYKA, A.; DUDEKA, B.; BORON, P.; MICHALIKB, M.; MATUSIEWICZC, A. Acid-activated vermiculites as catalysts of the DeNO_x process. **Catalysis Today**. 191, 25-31, 2012.

CIMINELLI, R. R. Desempenho funcional dos minerais industriais: desafio tecnológicos, fermenta de marketing e estratégia de valorização. **Rochas e Minerais Industriais**. CETEM/MCT, 2005, cap. 2.

COELHO, A. C. V.; SANTOS, P. S.; SANTOS, H. S., Argilas especiais: O que são, caracterização e propriedades, **Química Nova**, 30, 146, 2007.

CUNHA, M.A. Métodos de detecção de microrganismos indicadores. **Saúde e Ambiente em Revista Duque de Caxias**. 1, 09-13, 2006.

DEURENBERG, R. H.; STOBBERINGH, E. E. The evolution of *Staphylococcus auerus*. **Infection, Genetics and Evolution**. 8, 747-763, 2008.

DEPARTAMENTO NACIONAL DE PRODUÇÃO MINERAL – DNPM. Bentonitas. **Súmaro Mineral - 2015**. ISSN 01901-2053, Brasília, 2015.

DIAZ, M.; CAMBIER, P.; BRENDLÉ, J.; PROST, R. Functionalized clay heterostructures for reducing cádmium and lead uptake by plants in contaminated soils. **Applied Clay Science**. 37, 12-22, 2007.

DI GIANNI, A; AMERIO, E; MONTICELLI, O.; BONGIOVANNI, R. Preparation of polymer/clay mineral nanocomposites via dispersion of silylated montmorillonite in a UV curable epoxy. **Applied Clays Science**. 42, 116-124, 2008.

DLUGOSZ, O.; BANACH, M. Kinetic, isotherm and thermodynamic investigations of the adsorption of Ag⁺ and Cu⁺ on vermiculite. **Journal of Molecular Liquids**. 258, 295-309, 2018.

DRELICH, J.; BOWEN, L.; BOWEN, P.; HWANG, JIANN-YANG; MILLS, O.; HOFFMAN, D. Vermiculite decorated with copper nanoparticles: novel antibacterial hybrid material. **Applied Surface Science**. 257, 9435-9443, 2011.

DUMAN, O.; TUNÇ, S., POLAT, T.G. Determination of adsorptive properties of expanded vermiculite for the removal of C. I. Basic red 9 from aqueous solution: kinetic, isotherm and thermodynamic studies. **Applied Clay Science**. 109-110, 22–32, 2015.

ESPÍNOLA, J. G. P.; ARAKAKI, L. N. H.; OLIVEIRA, S. F.; FONSECA, M. G.; FILHO, J. A. A. C.; AIROLDI, C. Some thermodynamic data of the interaction cation-piperazine immobilized on silica gel. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical Aspects**. 221, 101-108, 2003.

FERNÁNDEZ, M. J.; FERNÁNDEZ, M. D.; ARANBURU, I. Effect of clay surface modification and organoclay purity on microstructure and thermal properties of poly(L-lactic acid)/vermiculite nanocomposite. **Applied Clay Science**. 81-81, 372-381, 2013.

FILHO, R. G. S. A.; FREITAS, J. C. O.; MELO, M. A. F.; BRAGA, R. M. Lightweight oil well cement slurry modified with vermiculite and colloidal silicone. **Construction and Building Materials**. 166, 908-915, 2018.

FONSECA, M. G.; ALMEIDA, R. K. S.; ARAKAKI, L. N. H.; ESPINOLA, J. G. P.; AIROLDI, C. Vermiculite as a useful host for guest cyclic aliphatic amine intercalation, followed by cation adsorption. **Colloids and Surfaces**. 280, 39-44, 2006.

FONSECA, M. G.; AIROLDI, C. Híbridos inorgânicos-orgânicos derivados da reação de filossilicatos com organossilanos. **Química Nova**. 26, n5, 699-707, 2003.

FONSECA, M. G.; OLIVEIRA, M. M.; ARAKAKI, L. N. H. Removal of cadmium, zinc, manganese and chromium cations from aqueous solution by a clay mineral. **Journal Hazardous Materials**. 137, 288-292, 2006.

FREITAS, E. D.; ALMEIDA, H. J.; VIEIRA, M. G. A. Binary adsorption of zinc and copper on expanded vermiculite using a fixed bed column. **Applied Clay Science**. 146, 503-509, 2017.

GÁLÁN, E.; FERREL, R. Genesis of clays minerals. *Developments in Clay Science*. 5, 83-126, 2013. Doi: 0.1016/B978-0-08-098258-8.00003-1.

GEEG, S.J.; SING, K. S. W. Adsorption, surface and porosity, 2a Ed. **Academic press**. Londres, 1982.

GHARIN NASHTIFAN, S.; AZADMEHR, A.; MAGSHOUDI, A. Comparative and competitive adsorptive removal of Ni²⁺ and Cu²⁺ from aqueous solution using rion oxide-vermiculite composite. **Applied Clay Science**. 140, 38-49, 2017.

HARRAZ, H. Z.; HAMDY, M. M. Interstratified vermiculite-mica in tge gneiss-metapelite-serpentine rocks at Hafafit área, Southern Eastern Desert, Egypt: from metasomatism to weathering. **Journal of African Earth Sciences**. 58, 305-320, 2010.

HARVEY, C.C.; LAGALY, G. Industrial applications. **Handbook of Clays Science**. Vol.5, 2013, cap. 4.2.

HE, H.; AO, Q.; ZHU, J.; YUAN, P.; SHEN, W.; YANG, S. Silylation of clay mineral surfaces. **Applied Clay Science**. 71, 15–20, 2013.

HE, H.; YANG, D.; YUAN, P.; SHEN, W.; FROST, R. L. A novel organoclay with antibacterial activity prepared from montmorillonit and chlorhexidini acetate. **Colloid and Interface Science**. 297, 235 – 243, 2006.

HOLESOVÁ, S.; STEMBÍREK, J.; BARTOSOVÁ, L.; PRAZANOVÁ, G.; VALASKOVÁ, M.; SAMLIKOVÁ, M.; PAZDZIORA, E. Antibacterial efficiency of vermiculite/chlorhexidine nanocomposites and results of the in vivo test harmlessness of vermiculite. **Material Science and Engineering C**. 42, 466 – 473, 2014.

HOLESOVÁ, S.; VALASKOVÁ, M.; PLEOVÁ, E.; PAZDZIORA, E.; MOTEJOVÁ, K. Preparations of novel organovermiculites with antibacterial activity using chlorhexidine diacetate. **Journal of Colloid and Interface Science**. 342, 593 – 597, 2010.

HU, C. H.; XIA, M. S. Adsorption and antibacterial effect of copper-exchanged montmorillonite on *Escherichia coli* K88. **Applied Clay Science**. 31, p. 180-184, 2006.

HUNDÁKOVA, M.; VALASKOVÁ, M.; TOMASEK, V.; PAZDZIORA, E.; MATEJOVA, K. Silver and/or copper vermiculites and their antibacterial effect. **Acta Geodyn. Geomater.** v. 10, 169, 97 – 104, 2013.

ISÇI, S. Intercation of vermiculite in presence of surfactantes. **Applied Clay Science**. 146, 7-13, 2017.

JEONG, S. H.; YEO, S. Y.; YI S. C. The effect of filler particle size on the antibacterial properties of compounded polymer/silver fiber. **J. Mater. Sci.** 40, 5407-4311, 2005.

JUNIOR, M. C.; MOTTA, J. F. M.; ALMEIDA, A. S.; TANNO, L. C. Argilas para cerâmica vermelha. **Rochas e Minerais Industriais – CETEM**. 2005, cap. 28.

KANG, JIN-KYU; LE, CHANG-GU; PARK, JEONG-ANN; KIM, SONG-BAE; CHOI, NAG-CHOUL; PARK, SEONG-JIK. Adhesion of bacteria to pyrophyllite clay in aqueous solution. **Environmental Technology**. 34, n. 6, 703-710, 2013.

KEBABI, B.; TERCHI, S.; BOUGHERARA, H.; REINERT.; DUCLAUX, L. Removal of manganês (II) by edge site adsorption on raw and milled vermiculites. **Applied Clay Science**. 139, 92-98, 2017.

KNEIFLOVÁ, J. Evaluation of the bactericidal effectiveness of disinfectants by the suspension method. Cesko-Slovenska Epidemiologie Mikrobiologie Imunologie. **37, 97-104, 1988.**

KOMADEL, P. Acid activated clays: materials in continuous demands. **Applied Clay Science**. 131, 84-99, 2016

KOMADEL, P.; MANDEJOVÁ, J. Acid activation of clay minerals. **Handbook of Clay Science**. Vol.5; 2013, cap.10.1.

KUPKOVÁ, J.; HONÉK, D.; VALLOVÁ, S.; VALASKOVÁ, M. Characterization of two low-charge vermiculites after hydrochloric acid treatment. **Acta Geodyn. Geomater.** 12, n.3 (179), p. 299-306, 2015.

LAGALY, G.; DÉKÁNY, I., Colloid Clay Science In: BERGAYA, F.; THENG, B.K.G.; LAGALY, G. (Eds.), **Handbook of Clay Science**, Elsevier, 2013, 243–345.

LAGALY, G.; OGAWA, M.; DEKANY, I. Clay mineral-organic interactions. **Handbook of Clay Science**. 5; 2013, cap.10.3.

LEE, S. M.; TIWARI, D. Organo and inorgano-organo-modified clays in the remediation of aqueous solutions: an overview. **Applied Clay Science**. 50-60, 84-102, 2012.

LEVY, C.E.; VON NOWAKONSKI, A.; MENDES, C.M.F.; OPLUSTIL, C.; ZOCCOLI, C.M.; MAFFEI, C.M.L.; MAMIZUKA, E.M.; CAVASSIN, E.D.; ROSSI, F.; MIMICA, I.; PETRIDIS, H.; MIMICA, L.M.J.; MELHEM, M.S.C.; LOPES, M.C.G.; MARTINO, M.D.V.; LINCOPAN, N.; SILVA, R.A.M. Manual de Microbiologia Clínica para o Controle de Infecção em Serviços de Saúde. In: Modulo I – Principais Síndromes Infecciosas. 1ª ed. Brasília: **Agência Nacional de Vigilância Sanitária**. 2004.

LI, B.; YU, S.; HWANG, J. Y.; SHI, S. Antibacterial vermiculite nano-material. **J. Miner. Mater. Charact. Eng.** 1, p. 61–68, 2002.

LI, L.; ZHOU, X.; LI, Y.; GONG, C.; LU, L.; FU, X.; TAO, W. Water adsorption and water/fertilizer retention performance of vermiculite modified sulphoaluminate cementitious materials. **Construction and Building Materials**. 137, 224-233, 2017.

LI, Q.; MAHENDRA, S.; LYON, D. Y.; BRUNET, L.; LIGA, M. V.; LI, D.; ALVAREZ, P. J. J. Antimicrobial nanomaterials for water disinfection and microbial control: potential applications and implications. **Water Research**. 42, 4591 – 4602, 2008.

LINS, F. A. F. Panorama da produção e consumo de rochas e minerais industriais no Brasil. **Rochas e Minerais Industriais - CETEM/MCT**. 2005, cap. 1.

LIU, S.; WU, P.; YU, L.; LI, L.; GONG, B.; ZHU, N.; DANG, Z.; YANG, C. Preparation and characterization of organo-vermiculite based on phosphatidylcholine and adsorption of two typical antibiotics. **Applied Clay Science**. 137, 160-167, 2017.

LUZ, A. B.; ALMEIDA, S. L. M. Atapulgita e sepiolita. **Rochas e Minerais Industriais - CETEM/MCT**, 2005, cap. 9.

LUZ, A. B.; CAMPOS, A. R.; CARVALHO, E. A.; BERTOLINO, L. C. Caulim Bentonitas. **Rochas e Minerais Industriais - CETEM/MCT**, 2005, cap. 11.

LUZ, A. B.; OLIVEIRA C. H. Bentonitas. **Rochas e Minerais Industriais. CETEM/MCT**, 2005, cap. 10.

MAQUEDA, C.; PEREZ-RODRIGUEZ, J.; SUBRT, J; MURFA, N. Study of ground and unground leached vermiculite. **Applied Clay Science**. 44, 178-184, 2009.

MARCOS, C.; ARANGO, Y.C; RODRIGUEZ, I. X-ray diffraction studies of the thermal behavior of commercial vermiculite. **Applied Clay Science**. 42, 387-378, 2009.

MARCOS, C.; RODRÍGUEZ, I. Thermoexfoliated commercial vermiculites for Ni²⁺ removal. **Applied Clay Science**. 132-133, 685-293, 2016.

MOREIRA, M. A.; CIUFFI, K. J.; RIVES, V.; VICENTE, M. A.; TRUJILLANO, R.; GIL, A.; KORILI, S. A.; FARIA, E. H. Effect of chemical modification of palygorskite and sepiolite by 3-aminopropyltriethoxysilane on adsorption of cationic and anionic dyes. **Applied Clay Science**. 135, 394-404, 2017.

MOUZDAHIR, Y.E., ELMCHAOURI, A., MAHBOUB, R., GIL, A., KORILI, S.A.. Synthesis of nanolayered vermiculite of low density by thermal treatment. **Powder Technol**. 189, 2–5, 2009.

NASCIMENTO, F. H.; COSTA, D. M.; MASINI, J. C. Evaluation of thiol-modified vermiculite for removal of Hg (II) from aqueous solutions. **Applied Clay Science**. 124-125, 227-235, 2016.

NERSISYAN, H. H.; LEE, J. H.; SON, H. T.; WON, C. W.; MAENG, D. Y. A new effective chemical reduction method for preparation of nanosized silver powder and colloid dispersion. **Mater. Res. Bulletin**. 38, 949-956, 2003.

NOURI, A.; YARAKI, M. T.; GHORBANPOUR, M.; AGARWAL, GUPTA, V. K. Enhanced antibacterial effect of chitosan film using Montmorillonite/CuO nanocomposite. **International Journal of Biological Macromolecules**. 109, 1219-1231, 2018.

OHASHI, F.; OYA, A.; DUCLAUX, L.; BEGUIN, F. Structural model calculation of antimicrobial and antifungal agents derived from clay minerals. **Applied Clay Science**. 12, p. 435–445, 1998.

OLIVEIRA, M. M. Magadeíta e vermiculitas modificadas com grupos orgânicos contendo nitrogênio e enxofre como adsorventes. 2012, 126f. **Tese (Doutorado em Química)** – Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2012.

WORLD HEALTH ORGANIZATION – WHO. Global Antimicrobial Resistance Surveillance System: Manual for Early Implementation. **Geneva: WHO**, 2015. 36p.

PERALTA, M. M. C.; COELHO, A. C. V.; CARVALHO, F. M. S.; TOFFOLI, S. M. Effects of exchanged cation, acid treatment and high shear mechanical treatment on the swelling and the particle size distribution of vermiculite. **Applied Clay Science**. 155, 1-7, 2018.

PEREZ-MAQUEDA, L. A.; MAQUEDA, C.; PEREZ-RODRIGUEZ, J. L.; SUBRT, J.; CERNY, Z.; BALEK, V. Thermal behaviour of ground and unground acid leach vermiculite. **J. Therm. Anal. Calorim.** 107, 431-438, 2012.

PISCITELLI, F.; POSOCCO, P.; TOTH, R.; FERMEGLIA, M.; PRICL, S.; MENSITIERI, G.; LAVORGNA, M. Sodium montmorillonite silylation: unexpected effect of the aminosilane chain length. **Journal of Colloid and Interface Science**. 351, p.108-115, 2010.

PLACHÁ, D.; ROSENBERGOVÁ, K.; SLABOTÍNSKY, J.; KUTLÁKOVÁ, K. M.; STUDENTOVÁ, S.; MORTYNKOVÁ, G. S. Modified clay minerals efficiency against chemical and biological warfare agents for civil human protection. **Journal of Hazardous Materials**. 271, 65 – 72, 2014.

QUEIROGA, L. N. F.; SOARES, P. K.; FONSECA, M. G.; OLIVEIRA, F. J. V. E. Experimental design investigation for vermiculite modification: intercalation reaction and application for dye removal. **Applied Clay Science**. 126, p. 113-121, 2016.

RASHAD, A. M. Vermiculite as a construction material – a short guide for Civil Engineer. **Construction and Building Materials**. 125, 53-62, 2016.

RITZ, M.; ZDRÁLKOVÁ, J.; VALÁSKOVÁ, M. Vibrational spectroscopy of acid treated vermiculites. **Vibrational Spectroscopy**. 70, 63-69, 2014.

ROUQUEROL, F.; ROUQUEROL, J.; LLEWELLYN, P. Thermal analysis. **Handbook of Clay Science**. Vol.5; 2013, cap.2.12.

RUIZ-HITZKY, E. Functionalizing inorganic solids: towards organic-inorganic nanostructured materials for inteligente and bioinspired systems. **The Chemical Record**. 3, 88-100, 2003.

SAMLIKOVÁ, M.; HOLESOVÁ, S.; HUNDÁKOVÁ, M.; PAZDZIORA, E.; JONKOVIC, L.; VALSKOVÁ, M. Preparation of antimicrobial chlorhexidine/vermiculite and release study. **International Journal of Mineral Processing**. 159, 1-6, 2017.

SANTOS, S. S. G.; SILVA, H. R. M. SILVA; DE SOUZA, A. G.; ALVES, A. P. M.; DA SILVA FILHO, E. C.; FONSECA, M. G. Acid-leached mixed vermiculites obtained by treatment with nitric acid. **Applied Clay Science**. 104, 286-296, 2015.

SANTOS, S. S. G.; PEREIRA, M. B. B.; ALMEIDA, R. K. S.; SOUZA, A. G.; FONSECA, M. G.; JABER, M. Silylation of leached-vermiculites following reaction with imidazole and copper sorption behavior. **Journal of Hazardous Materials**. 306, 406-418, 2016.

SCHOONHEYDT, R. A.; JOHNSTON, C. T. Surface and interface chemistry of clays minerals. **Handbook of Clay Science**. Vol. 5, 2013, cap.5.

SHANMUGHARAJ, A. M.; RHEE, K. Y.; RYU, S. H. Influence of dispersing medium on grafting of aminopropyltriethoxysilane in swelling clays materials. **Journal of Colloid and Interface Science**. 298, 854-859, 2006.

SHTARKER-SAI, A.; CASTRO-SOWINSKI, S.; MATAN, O.; KAGAN, T.; SHLOMO, N.; OKON, Y.; NASSER, A. M. Removal of bacteria and *Cryptosporidium* from water by micelle-montmorillonite complexes. **Desalination and Water Treatment**. 51, 7672 – 7680, 2013.

SILVA, M. M. F.; GOMES, S. S. S.; FONSECA, M. G.; SOUSA, K. S.; ESPÍNOLA, J. G. P.; FILHO, E. D. S. Sythesis and characterization of a silylated Brazilian clay minerals surface. **Chemical Papers**. 2014.

SPOSITO, G. The chemistry of solis. Oxford University Press, New York, 2008.

SRIVASTAVA, P.; SINGH, B.; ANGOVE, M. Competitive adsorption behavior of heavy metals on kaolinite. **Journal of Colloid and Interface Science**. 290, 28-38, 2005.

STAWIŃSKI, W.; FREITAS, O.; CHMIELARZ, L.; WĘGRZYN, A.; KOMĘDERA, K.; BŁACHOWSKI, A.; FIGUEIREDO, S. The influence of acid treatments over vermiculite based material as adsorbent for cationic textile dyestuffs. **Chemosphere**. 153, 115-129, 2016.

STAWIŃSKI, W.; WĘGRZYN, A.; DANKO, T.; FREITAS, O.; FIGUEIREDO, S.; CHMIELARZ, L. Acid-base treated vermiculite as high performance adsorbent: Insights into the mechanism of cationic dyes adsorption, regeneration, recyclability and stability studies. **Chemosphere**. 173, 107-115, 2017.

SU, L.; TAO, Q.; HE, H.; ZHU, J.; YUAN, P.; ZHU, R. Silylation of montmorillonite surfaces: dependence on solvent nature. **Journal of Colloid and Interface Science**. 391, p. 16-20, 2013.

TAMAYO, L.; AZÓCAR, M.; KOGAN, M.; RIVEROS, A.; PÁEZ, M. Copper-polymer nanocomposites: an excellent and cost-effetive biocida for use antibacterial surface. **Materials Science and Engineering C**. 69, 1391-1409, 2016.

TRAN, L.; WU, P.; ZHU, Y.; LIU, S.; ZHU, N. Comporative study of Hg(II) adsorption by thiol-and hydroxyl-containing bifuncional montmorillonite and vermiculite. **Applied Surface Science**. 356, 91-101, 2015.

TOP, A.; UKLU, S. Silver, zinc, and copper exchange in Na-clinoptiolite and resulting effect on antibacterial activity. **Applied Clay Science**. 27, p. 13-19, 2004.

TOURNASSAT, C., BOURG, I. C., STEEFEL, C. I., BERGAYA, F. Surface Properties of Clay Mineral. In: TOURNASSAT, C., BOURG, I. C., STEEFEL, C. I., BERGAYA,

F.;eds. **Natural and Engineered Clay Barriers. Elsevier, Amsterdam Developments in Clay Science**, v.6, p.5 – 31, 2015.

UGARTE, J. F. O.; SAMPAIO, J. A.; FRANÇA, S. C. A. Vermiculita. **Rochas e Minerais Industriais - CETEM/MCT**, 2005, cap. 38.

UNDABEYTIA, T.; POSADA, R.; NIR, S.; GALINDO, I.; LAIZ, L.; SAIZ-JIMENEZ, C.; MORILLO, E. Removal of waterborne microorganisms by filtration using clay-polymer complex. **Journal of Hazardous Materials**. 279, 190 – 196, 2014.

UNUOBONAH, E. I.; UGWUJA, C. G.; OMOROGIE, M. O.; ADEWUYI, A.; OLADOJA, N. A. Clays for eficiente disinfection of bactéria in water. **Applied Clay Science**. 151, 211 – 223, 2018.

YIN, X.; GUPTA, V.; DU, H.; WANG, X.; MILLER, J. D.; Surface charge and wetting characteristics of layered silicate minerals. **Advances in Colloind and Interface Science**. 179-182, 43-50, 2012.

YIN, X.; WANG, X.; WU, H.; OHNUKI, T.; TAKESHITA, K. Enhaced desorption of cesium from collapsed interlayer regions in vermiculite by hydrothermal treatment with divalent cations. **Journal of Hazardous Materials**. 326, 47-53, 2017.

VALÁŠKOVÁ, M., KUPKOVÁ, J., KOČÍ, K., AMBROŽOVÁ, N., KLEMM, V., RAFAJA, D.. Structural properties and photocatalytic activity of ceria nanoparticles on vermiculite matrix. **J. Nanosci. Nanotechnol**. 16, 7844–7848, 2016.

RAI, M.; YADAV, A.; GADE, A. Silver nanoparticles as a new generation of antimicrobials. **Biotechnology Advances**. 27, 76-83, 2009.

ROY, A.; BUTOLA, B. S.; JOSHI, M. Synthesis, characterization and antibacterial properties of novel nano-silver loaded acid activated montmorillonite. **Applied Clay Science**. 146, 278 – 285, 2017.

VALÁŠKOVÁ, M.; KUPKOVÁ, J.; MARTYNKOVÁ, G. S.; SEIDLEROVÁ, J.; TOMÁSEK, V.; RITZ, M.; KOCÍ, K.; KLEMM, V.; ROFAJA, D. Comparables study of vermiculites forma four comercial deposits prepared with fixed ceria nanoparticles. **Applied Clay Science**. 151, 164-174, 2018.

VELDE, B., Introduction to Clay Minerals, Chapman & Hall: Londres, 1992.

VOLZONE, C.; GARRIDO, L. B. Changes in suspension properties of structural modified montmorillonites. **Cermâmica**. 47, 4-8, 2001.

WAKOU, B.F. N.; KALINICHEV, A.G.. Structural arrangements of isomorphic substitutions in Smectites: molecular simulation of the swelling properties, interlayer structure, and dynamics of hydrated Cs-Montmorillonite revisited with new clay models. **The Journal Physical Chemistry C**. 118, 2014, 12758-12773.

WANG, L.; WANG, X.; YIN, J.; WANG, C. Insights into the physicochemical characteristics from vermiculite to sílica nanosheetes. **Applied Clay Science**. 123-133, 17-23, 2016.

WEGRZYN, A.; STAWINSKI, W.; FREITAS, O.; KOMEDERA, K.; BLACHOWSKI, A.; JECZMIONEK, L.; DANKO, T.; MORDARSKI, G.; FIGUEIREDO, S. Study of adsorptive materials obtained by wet fine milling and acid activation of vermiculite. **Applied Clay Science**. 155, 37-38, 2018.

WEI, H.; LI, X. Preparation and characterization of a lauric myristic-stearic acid/Al₂O₃-loaded expanded vermiculite composite phase change material with enhanced thermal conductivity. **Solar Energy Material and Solar Cells**. 166, 1-8, 2017.

World Health Organization (Organização Mundial de Saúde, OMS). Drinking-water. 2018. <<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs391/en/>>.

World Health Organization (Organização Mundial de Saúde, OMS). Ten facts on food safety. 2016. <http://www.who.int/features/factfiles/food_safety/en/>

WU, N. WU, L. L.; LV, G. Organic intercalation of structure modified vermiculite. **Journal of Colloid and Interface Science**. 457, 264, 271, 2015.

WU, T.; XIE, A-GUI; TAN, SHAO-ZAO, CAI, X. Antimicrobial effects of quaternary phosphonium salt intercalated clay minerals on *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. **Colloids and Surfaces B. Biointerfaces**. 68, 232 – 236, 2011.

XU, G.; QIAO, X.; QIU, X.; CHEN, J. Preparation and characterization of nano-silver loaded montmorillonite with Strong antibacterial activity. *J. Mater. Sci. Technol.* 27(8), 685 – 690, 2011.

ZHAO, D.; ZHOU, K.; LIU, N. Preparation and characterization of mingguang palygosrkite supported whith silver and copper for antibacterial behavior. **Applied Clay Science**. 33, p. 161-170, 2006.

ZHANG, S.X.; ZHOU, Y.M.; TIAN, L.G.; CHEN, J.X.; TORRES, R. T.; SERRANO, E.; LI, S. Z.; CHEN, S. H.; AI, L.; CHEN, J. H.; XIA, S.; LU, Y.; SHAN, L.; TENG, X. J.; XU, W.; GU, W. P, GONG, S. T.; ZHOU, X. N.; GENG, L. L.; H, W. Antibiotic resistance and molecular characterization of diarrheagenic *Escherichia coli* and non-typhoidal *Salmonela* strains isolated from infection in Southwest China. **Infect Dis Poverty**. 7, 2018.