



UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
ESCOLA DE ENGENHARIA
ENGENHARIA DE MATERIAIS



ENG 02298 TRABALHO DE DIPLOMAÇÃO

PRODUÇÃO DE ÓXIDOS POROSOS CONTENDO NANOPARTÍCULAS DE PRATA
VIA ANODIZAÇÃO EM LIGAS METÁLICAS DE ALUMÍNIO PARA APLICAÇÕES
MÉDICAS

Caroline de Barros

Matrícula: 201218

Orientador: Prof. Dr. Luis F. P. Dick

PORTO ALEGRE

DEZEMBRO, 2016

PRODUÇÃO DE ÓXIDOS POROSOS CONTENDO NANOPARTÍCULAS DE PRATA
VIA ANODIZAÇÃO EM LIGAS METÁLICAS DE ALUMÍNIO PARA APLICAÇÕES
MÉDICAS

Trabalho de conclusão de curso apresentado
à banca do curso de Engenharia de Materiais
da UFRGS 2016/2 para obtenção do título de
Engenheiro de Materiais.

Orientador: Prof. Dr. Luis F. P. Dick

Porto Alegre, Dezembro de 2016

AGRADECIMENTOS

À minha família, pelo apoio incondicional, incentivo e confiança durante todos estes anos longe de casa.

Ao meu colega Renato Valente, pela ajuda em todas as etapas deste trabalho.

SUMÁRIO

AGRADECIMENTOS.....	III
SUMÁRIO	IV
LISTA DE FIGURAS	VI
ABSTRACT	IX
INTRODUÇÃO.....	1
1. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	4
1.1 Nanomateriais e Nanotecnologia	4
1.1.1 Definição	4
1.1.2 Classificação	4
1.2 Nanomateriais Na Área Da Saúde.....	5
1.2.2 Nanopartículas de prata	7
1.3 Anodização	9
1.3.1 Anodização do alumínio	9
1.3.2 Filmes anódicos porosos.....	11
2.1 Materiais Utilizados	15
2.2 Preparação Das Amostras Para Anodização.....	17
2.3 Anodização Das Amostras	17
2.4 Caracterização Morfológica.....	18
2.4.1 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV-EDS)	18
2.4.2 Microscopia Eletrônica de Varredura – Campo de Emissão de Elétrons (Field Emission Gun).....	18
2.4.3 Microscopia Eletrônica de Transmissão (MET)	18
2.5 Teste Biocida	19
3 RESULTADOS E DISCUSSÕES	20
3.1 Controle Da Anodização.....	20
3.2 Caracterização Morfológica.....	21
3.2.1 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV-EDS)	21
3.2.2 Microscopia Eletrônica de Varredura – Campo de Emissão de Elétrons (MEV – FEG)	24
3.2.3 Microscopia Eletrônica de Transmissão (MET)	26
3.3 Teste Biocida.....	28
4. CONCLUSÕES	30

5. REFERÊNCIAS.....	31
---------------------	----

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Estruturas de classificação de acordo com as dimensões dos nanomateriais	5
Figura 2 - Precursores dos estudos com prata como biocida, à esquerda C.A. Moyer e à direita, C.L. Fox.....	7
Figura 3 - Sistema esquemático para anodização. (A) fonte de tensão, (B) contra-eletrodo/cátodo, (C) eletrodo de trabalho/ânodo, (D) agitador magnético.	9
Figura 4 - Estrutura da camada porosa de alumina.	10
Figura 5 - Desenho esquemático de um filme anódico poroso ideal.	12
Figura 6 - MEV de filme anódico poroso ideal de TiO ₂ (Kondo et al., 2016).....	12
Figura 7 - Ilustração esquemática da cinética em modo galvanostático (A) e potencioestático (B), e em (C) os estágio de desenvolvimento do óxido. (Sulka, 2008).	13
Figura 8 - Distribuição da corrente durante início da formação dos poros na alumina. (Adaptado de Sulka, 2008).	14
Figura 9 - Em (A) materiais antes da fusão, (B) liga metálica após a fusão e (C) liga metálica laminada.....	16
Figura 10 - Diagrama binário Al-Ag indicando a composição da liga e a temperatura de fusão utilizada.....	16
Figura 11 - Gráfico apresentando o desenvolvimento do potencial da liga metálica produzida e comparação com anodização de amostra de alumínio comercial.	20
Figura 12 - Imagem obtida por MEV-SE da seção transversal da amostra anodizada.....	22
Figura 13 - Imagem obtida por MEV-SE da seção transversal da amostra anodizada com maior aumento na região do óxido. Magnificação: 2,35k	22
Figura 14 - Gráfico indicando a concentração de prata da superfície ao interior da amostra antes e após anodização.	24

Figura 15 - Imagem obtida por MEV-FEG da microestrutura do óxido poroso. Magnificação: 100k.....	25
Figura 16 - Imagem obtida por MEV-FEG da microestrutura do óxido poroso em detalhe. Magnificação: 250k.....	25
Figura 17 - Imagem obtida por MEV-FEG modo BSD, evidenciando microestrutura contendo nanopartículas de prata na superfície do óxido e nas paredes dos nanotubos de alumina.....	26
Figura 18 - Imagem obtida por MET de um nanotubo formado durante a anodização. Magnificação: 250k.....	27
Figura 19 - Imagem obtida por MET onde podem ser observadas nanopartículas embebidas no óxido. Magnificação: 500k.....	27
Figura 20 - Medidas de absorvância do biofilme na amostra anodizada e em alumínio comercial.....	28
Figura 21 - Biofilme solubilizado com cristal violeta em (A) para alumínio comercial, em (B) para a liga Al-10Ag anodizada e em (C) controle de DMSO.....	29

RESUMO

No trabalho em questão propôs-se uma nova forma de produção de liga metálica contendo nanopartículas de prata para aplicações na área da saúde. A liga metálica utilizada foi o alumínio e as nanopartículas de prata foram embidas em um óxido poroso através de anodização.

A liga Al-Ag foi produzida com composição de 10% de prata em peso. Posteriormente foi realizada uma laminação a frio e as tiras foram solubilizadas a 550°C por 5h e temperadas em água. Com este tratamento térmico espera-se a completa dissolução da prata e manutenção da solução sólida na temperatura ambiente (liga supersaturada Al-10%Ag).

A obtenção de nanopartículas embebidas em matriz porosa de alumina foi realizada por anodização em ácido oxálico com uma densidade de corrente de 50mA/cm² e durante 15 minutos, procedeu-se em temperatura ambiente.

Foi obtida uma camada de óxido porosa com cerca de 30µm. A análise elementar da superfície da amostra por EDS com tensões crescentes observou-se que a concentração de prata na superfície é maior se comparada com a concentração no interior da amostra. A superfície apresenta uma concentração de aproximadamente 27% em peso de prata

Através de análises de MEV-FEG e MET foi possível observar morfologia da formação dos poros, nanotubos formados durante anodização e nanopartículas de prata. Os poros apresentam em média 85 nm na região analisada, e a distância de parede apresenta 50 nm em média. As partículas de prata na região analisada apresentam valores de 3 a 40nm.

O teste de biotoxidez realizado com inoculação de bactérias *Escherichia coli* em biofilme comprova a eficiência das nanopartículas de prata contra esses organismos patológicos quando comparado com biofilme formado em uma amostra de alumínio comercial.

Palavras-chave: nanopartículas, prata, liga Al-Ag, anodização, biotoxidez.

ABSTRACT

In the present work, a new way production of alloy containing silver nanoparticles for health applications was proposed. The alloy used was aluminum and the silver nanoparticles were embedded in a porous oxide through anodization.

The Al-Ag alloy was produced with a composition of 10% silver weight. Afterwards a cold rolling was carried out and the strips were solubilized at 550°C for 5h and quenched in water. With this heat treatment the complete dissolution of the silver and maintenance of the solid solution at room temperature (Al-10% Ag supersaturated alloy) is expected.

The obtained surface fixed nanoparticles embedded in porous alumina matrix was made by porous anodizing in oxalic acid. Galvanostatic anodization with a current density of 50mA/cm² for 15 minutes was carried out at room temperature.

A porous oxide layer around 30µm was obtained. Elementary analysis at the surface of the sample by EDS increasing potencial has observed that the concentration of silver on the surface is higher as compared to the concentration inside the sample. The surface has a concentration of approximately 27% silver weight.

Through MEV-FEG and MET analyzes, it was possible to observe morphology of pore formation, nanotubes formed during anodization and silver nanoparticles. The pores average has 85 nm in the analyzed region, and the wall distance average has 50 nm. The silver particles in the analyzed region have values ranging from 3 to 40nm.

The biotoxicity test performed with inoculation of *Escherichia coli* bacteria in biofilm proves the efficiency of silver nanoparticles against these pathological organisms when compared to biofilm formed in a commercial aluminum sample.

Key-words: nanoparticles, silver, Al-Ag alloy, anodizing, biotoxicity

INTRODUÇÃO

Os nanomateriais têm ampliado sua abrangência nas aplicações do cotidiano e nos investimentos relacionados à pesquisa e inovação. Apresentam propriedades excepcionais em função do tamanho reduzido, o que faz com que a maioria dos seus átomos fiquem na superfície, possibilitando uma maior interação com o entorno.

A utilização de nanopartículas de prata vem ganhando potencial frente a bactérias que se mostram resistentes a certos antibióticos. Visando essa característica de biotoxidez das nanopartículas de prata, objetiva-se a produção de um novo material para aplicação médica, especialmente em instrumentos cirúrgicos.

A prata metálica é há muito tempo utilizada na área médica para tratamento de queimaduras, lesões e infecções por bactérias. A prata atua diretamente nas enzimas respiratórias das células bacterianas, impedindo esse processo e causando morte das células, também atua na replicação do DNA, impedindo a reprodução das mesmas.

Existem diversas rotas de implantação de nanopartículas em um substrato, como deposição química a vapor (CVD – Chemical Vapor Deposition), *sputtering*, técnicas de sol-gel (Stępniewski, Bojar, 2011). O trabalho realizado estudou a aplicação de uma técnica eletroquímica para precipitação de nanopartículas de prata em uma liga de alumínio com 10% de prata e peso.

A possibilidade de utilização de uma liga alumínio-prata na área de instrumentação cirúrgica seria capaz de reduzir possibilidades de contaminações através de organismos patogênicos, como bactérias *Escherichia coli*.

A nanotecnologia aliada a engenharia tem proporcionado grandes avanços para a área médica e de qualidade de vida, é possível notar a aplicação desses conhecimentos em diversos sistemas utilizados, como biosensores, sistemas drug-delivery, tratamento de água e produção de energia limpa. Ao interagir com moléculas biológicas, a nanotecnologia abre um vasto campo de pesquisa e

aplicações. Operar em nanoescala permite manipular diversas propriedades que não são possíveis em escalas maiores, trazendo características excepcionais aos materiais.

OBJETIVO

O trabalho em questão tem como objetivo principal a produção de uma nova rota de fabricação de uma liga metálica com posterior anodização para obtenção de óxido poroso de alumina contendo nanopartículas de prata. Para que seja eficiente, esta liga de alumínio, contendo 10% de prata em peso, deverá ser comparada com alumínio comercial e apresentar biotoxidez, para possível emprego na área médica (ferramental cirúrgico).

1. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

1.1 Nanomateriais e Nanotecnologia

1.1.1 Definição

Nanotecnologia é o estudo da combinação da ciência, medicina, engenharia e tecnologia em nanoescala. Esta tecnologia vem sendo amplamente utilizada em diversos setores como indústria eletroeletrônica, espacial, bens de consumo, farmacêutica. O crescimento da aplicação da nanotecnologia no dia-a-dia se deve a eficiência que as estruturas nanométricas proporcionam quando incorporadas ao sistema, impactando fortemente o cotidiano, produzindo materiais leves e resistentes, energia mais barata e limpa, água pura, tratamentos medicinais mais eficientes, etc.

A nanotecnologia compreende o uso de partículas em uma faixa de 1 a 100 nanômetros, estas partículas devem possuir esta escala de tamanho em cada dimensão. Já um nanomaterial deve possuir pelo menos uma de suas dimensões inferior a 100nm (0D, 1D ou 2D).

1.1.2 Classificação

A diferenciação de nanomateriais em função do tamanho dimensional pode ser visto através da definição citada por Haick, a seguir:

- Nanoestruturas 3D – Materiais em forma de bulk, podem conter todas as outras categorias de nanoestruturas.
- Nanoestruturas 2D – Superfícies nanotexturizadas e filmes finos, possuem espessura entre 1 e 100nm enquanto as outras duas dimensões podem ser bem maiores.

- Nanoestruturas 1D – Podem ser representadas por nanotubos e nanofios. O diâmetro se apresenta abaixo de 100nm, entretanto, o comprimento se apresenta muito maior.
- Nanoestrutura 0D – nanoclusters, estruturas que possuem 1 a 100nm em todas as suas dimensões.

Na Figura 1, mostram-se as nanoestruturas classificadas acima.

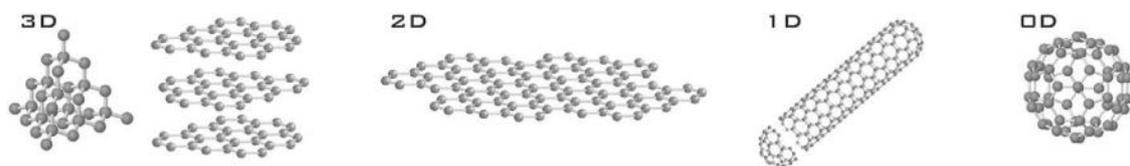


Figura 1 - Estruturas de classificação de acordo com as dimensões dos nanomateriais

Pelo tamanho extremamente reduzido, estas partículas apresentam uma área superficial muito grande, estando assim, grande parte de seus átomos na superfície, isto faz com que um número maior de átomos possa interagir com o entorno, proporcionando propriedades excepcionais.

A simples presença de uma estrutura em nanoescala não é suficiente para definir um nanomaterial, uma vez que a maioria dos materiais possuem estruturas nesta gama. A habilidade de controlar a estrutura nesta escala é essencial, sendo que este controle estrutural tem efeito dominante no comportamento desejado (Ramesh, 2009).

1.2 Nanomateriais Na Área Da Saúde

Os avanços da nanotecnologia e suas aplicações tem revolucionado os tratamentos na área da saúde e medicina nos últimos anos. A preparação de partículas uniformes em nanoescala, com requisitos específicos em termos de

tamanho, forma e propriedades físicas e químicas tem aumentado o interesse nessa área (Sondi, Salopek-Sondi, 2004).

Nanopartículas tem sido amplamente utilizadas na indústria farmacêutica, especialmente em diagnósticos, implantes artificiais e engenharia de tecidos (Morones *et al.*, 2005). As nanopartículas metálicas tem sido aplicadas no tratamento do tipo “*drug-delivery*”, especialmente para o câncer e em biosensores. Dentre vários metais, prata e ouro são de fundamental importância para o uso biomédico. (Nikalke, 2015).

1.2.1 A prata como biocida

O efeito antibactericida dos sais de prata tem sido noticiada desde a antiguidade (Silver, 1996), em 1000 a.C. essa propriedade era utilizada para obtenção de água potável (Russel *et al.*, 1994). Já no século 19, como remédio para tétano e reumatismo, e para resfriados e gonorreia antes do advento dos antibióticos, no início do século 20 (Mirsattari *et al.*, 2004).

Comparado com outros metais, a prata exibe alta toxicidade para microrganismos, e baixa toxicidade para células de mamíferos (Zhao, Stevens 1998). Os precursores dos estudos com prata foram C.A. Moyer em 1965 e C.L. Fox em 1967, vistos na Figura 2.

Moyer era chefe do Departamento de Cirurgia, na Escola de Medicina da Universidade de Washington, foi ele quem popularizou o uso da prata em queimaduras. O médico trouxe avanços significativos no tratamento tópico de queimaduras com a introdução de uma solução de Nitrato de Prata 0,5% (Klasen, 2000).

Fox introduziu a Sulfadiazina de Prata, uma formulação de Nitrato de Prata e Sulfadiazina de Sódio, combinando os efeitos de inibição da prata com o efeito antibacteriano da sulfadiazina. Esse efeito sinérgico deu tão certo que até hoje a Sulfadiazina de prata é largamente empregada no tratamento de queimaduras (Klasen, 2000).

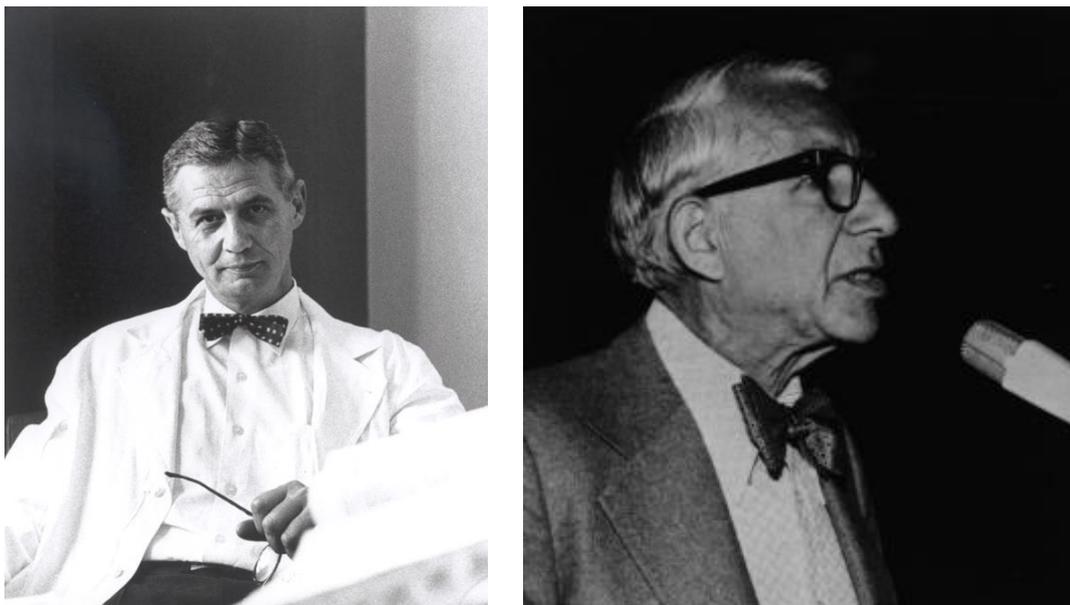


Figura 2 - Precursores dos estudos com prata como biocida, à esquerda C.A. Moyer e à direita, C.L. Fox.

É fato conhecido que os íons e compostos a base de prata são altamente tóxicos a microrganismos, e tem mostrado alto efeito biocida em pelo menos 12 espécies de bactérias, incluindo *Escherichia coli* (Zhao, Stevens 1998). Nos dias atuais, a aplicação da prata no controle do crescimento bacteriano está presente em diversos campos, incluindo área odontológica, sondas e em tratamentos de feridas provenientes de queimaduras (Centauro *et al.*, 2004; Crabtree, 2003).

1.2.2 Nanopartículas de prata

Com o surgimento e crescimento de organismos microbianos resistentes a múltiplos antibióticos, e a ênfase contínua nos custos com cuidados à saúde, muitos pesquisadores tem tentado desenvolver novos reagentes antimicrobianos livres de resistência e altos custos. (Jones *et al.*, 2004) Materiais em nanoescala surgiram como classe promissora de agentes antimicrobianos, devido as suas características físico-químicas e grande relação superfície-volume (Dal Lago *et al.*, 2011).

A forma exata de atuação da prata nos organismos patogênicos ainda é pouco conhecida, mas possíveis mecanismos são propostos de acordo com alterações morfológicas e estruturais encontradas nas células bacterianas. Infere-se que a prata exerce um complexo mecanismo de ação interferindo na replicação do DNA, na cadeia respiratória, e em outras células respiratórias das bactérias (Rai *et al.*, 2009)

As nanopartículas atacam a membrana celular e penetram no interior da bactéria. A membrana contém proteínas a base enxofre e as nanopartículas interagem com estas proteínas, bem como com compostos contendo fósforo, como o DNA. Quando as nanopartículas entram na célula, forma-se uma região de baixo peso molecular no centro da bactéria na qual ela se aglomera, na tentativa de proteger o DNA contra os íons prata. As AgNPs irão atacar preferencialmente a cadeia respiratória e a divisão celular, finalmente levando a célula à morte. As nanopartículas liberam íons prata dentro das células, que eleva a atividade bactericida (Feng *et al.*, 2000; Sondi, Salopek-Sondi, 2004; Morones *et al.*, 2005; Song *et al.*, 2006).

O tamanho reduzido das partículas implica em uma grande área superficial, aumentando o contato com as bactérias, portanto, uma porcentagem maior de interações ocorre se compararmos com partículas maiores (Kreibig and Vollmer, 1995; Mulvaney, 1996; Morones *et al.*, 2005; Pal *et al.*, 2007). Nanopartículas menores que 10nm interagem com a bactéria e produzem efeitos eletrônicos que elevam a reatividade das nanopartículas. Então, este fato corrobora para a hipótese de que o efeito bactericida das AgNPs é dependente do tamanho (Raimondi *et al.*, 2005; Morones *et al.*, 2005).

Com a nanotecnologia, a disponibilidade de AgNPs permitiu o uso de prata pura para alcançar um rápido crescimento na prática médica.

1.3 Anodização

1.3.1 Anodização do alumínio

Alumínio e suas ligas tem grande poder de formação de óxido na sua superfície quando expostos ao meio atmosférico. Apesar de fina, esta camada proporciona aumento de propriedades mecânicas e resistência à corrosão. Um dos métodos utilizados para aumentar a espessura deste óxido é a anodização.

A anodização ocorre com a presença de dois eletrodos em uma solução eletrolítica, em que a peça a ser anodizada é conectada ao polo negativo da fonte, assumindo a posição de ânodo. No cátodo ocorrerá desenvolvimento de hidrogênio pela decomposição da água. Na Figura 3 está representado um sistema esquemático utilizado durante a anodização.

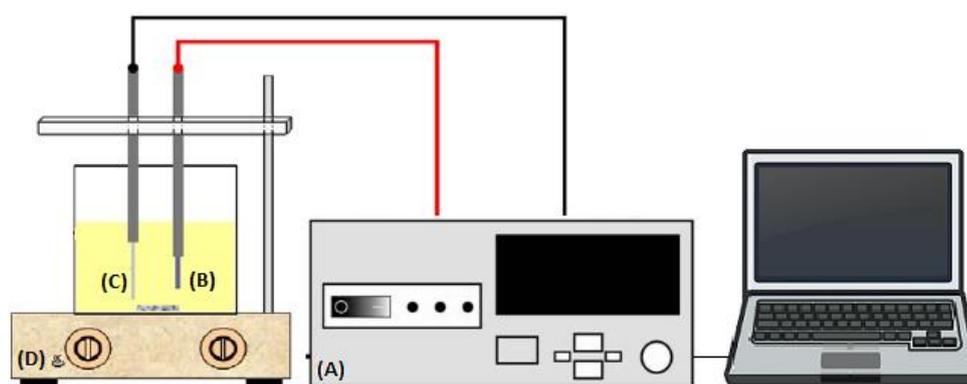
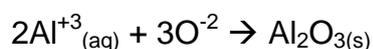
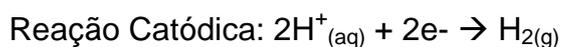


Figura 3 - Sistema esquemático para anodização. (A) fonte de tensão, (B) contra-eletrodo/cátodo, (C) eletrodo de trabalho/ânodo, (D) agitador magnético.

A anodização pode produzir dois tipos de morfologia de óxido, dependente do eletrólito usado. Na presença de ácido tartárico, pode-se observar a formação de um

filme óxido do tipo barreira (Young, 1961). Já em eletrólitos ácidos, como ácido sulfúrico, oxálico e fosfórico, observa-se a formação de filmes porosos (Keller *et al.*, 1953).

A formação da camada porosa, processo auto-organizado que ocorre durante a anodização do alumínio em eletrólitos ácidos, tem se tornado um dos métodos mais empregados para produção de nanoestruturas altamente ordenadas (Sulka, 2008).

Na alumina porosa, a geometria da camada formada é compacta, com células hexagonais colunares e nanoporos no centro, conforme Figura 4. Essa geometria ocorre de forma bidimensional, em toda superfície. Diversos fatores do processo podem controlar a formação dessa camada anódica.

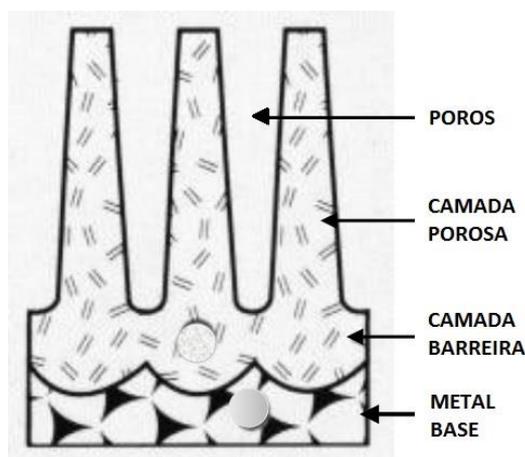


Figura 4 - Estrutura da camada porosa de alumina.

No desenvolvimento da camada anódica devem ser considerados dois processos que acontecem simultaneamente e com velocidades diferentes. Um deles é a formação da camada anódica, que é dependente da tensão aplicada, da densidade de corrente elétrica na peça e da resistência total do sistema. O outro processo consiste na dissolução da camada que está em contato com o banho, este processo depende da concentração e do poder oxidante do eletrólito e também da temperatura do meio. Além desses fatores, o tempo de operação também deve ser considerado. Enquanto a velocidade de formação da camada de alumina for superior a velocidade de dissolução, a camada cresce.

A camada de óxido de alumina vem sendo muito utilizada como molde (template) para o crescimento de materiais unidimensionais como nanofios e nanotubos para variadas aplicações tecnológicas (Lee *et al.*, 2007; Feng *et al.*, 2014). O sucesso da anodização do alumínio para estas aplicações se deve ao controle da morfologia desejada através do controle dos parâmetros do processo.

A anodização de ligas comerciais de alumínio vem sendo muito utilizada para aumento da resistência contra a corrosão, reduzindo assim custos de manutenção de estruturas. Até mesmo alumínio contendo elementos de liga podem ser anodizados com sucesso.

1.3.2 Filmes anódicos porosos

Filmes anódicos porosos são formados pela oxidação eletroquímica do alumínio, titânio e outros metais em soluções nas quais o óxido é solúvel. Filmes anódicos em condições particulares de processos contem, espontaneamente, arranjos ordenados hexagonais de nanoporos cilíndricos com diâmetro sub-micrométrico. Estes óxidos anódicos porosos e auto-organizados vem sendo estudados extensivamente como modelo para ferramentas nanoestruturadas e materiais funcionais (Masuda *et al.*, 1995). Vários materiais podem ser depositados no interior dos poros dessa membrana anódica por inúmeras técnicas como deposição eletroquímica, CVD (*Chemical Vapor Deposition*), técnicas de sol-gel, *sputtering*, etc (Stępniewski, Bojar, 2011).

Na Figura 5, observa-se um esquema de filme anódico poroso ideal formado durante a anodização, esse filme forma-se de maneira homogênea na superfície da amostra. Na Figura 6 pode-se observar via MEV a homogeneidade de um filme de óxido de titânio formado por anodização.

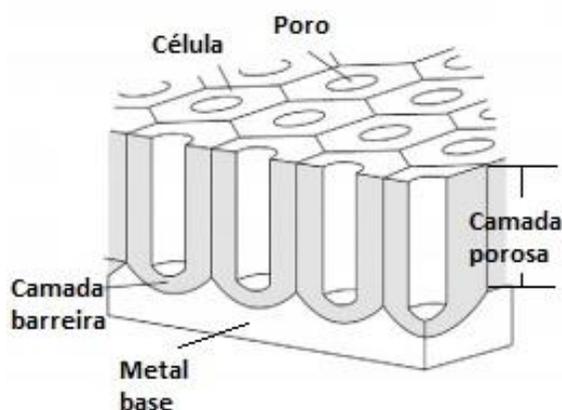


Figura 5 - Desenho esquemático de um filme anódico poroso ideal.

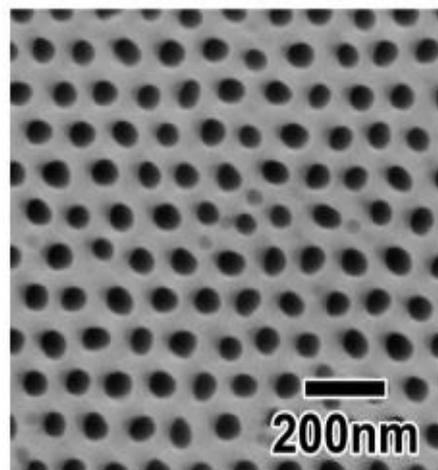


Figura 6 - MEV de filme anódico poroso ideal de TiO₂ (Kondo *et al.*, 2016).

A maior vantagem da alumina anódica porosa (AAP) é o controle da morfologia da matriz nanoporosa, incluindo diâmetro do poro, distância interporo e espessura do óxido formado, controlando as condições de operação, incluindo tipo, concentração e temperatura do eletrólito, tensão na célula e duração da anodização (Abd-Elnaiem *et al.*, 2014; Stępniewski *et al.*, 2013).

A AAP é normalmente obtida através da anodização em ácido sulfúrico, ácido oxálico e ácido fosfórico. Outros eletrólitos como ácido tartárico ou ácido cítrico também são usados, mas com menor frequência, pois a anodização nestes meios produz poros muito maiores (Sulka, 2008). Anodização em ácido oxálico é normalmente conduzida a temperaturas baixas, o que causa baixa densidade de corrente e, conseqüentemente, baixa taxa de crescimento do óxido poroso. O aumento da temperatura do eletrólito até 30°C provoca aumento da densidade de corrente, ocasionando aumento da espessura e porosidade do filme (S. Ono, N. Masuko, 2003; Sulka, Stępniewski, 2009).

A formação do óxido pode ser realizada de dois modos, representados na Figura 7: com aplicação de corrente, modo galvanostático, visto na Figura 7(A), ou com aplicação de potencial, modo potencioestático, visto na Figura 7(B).

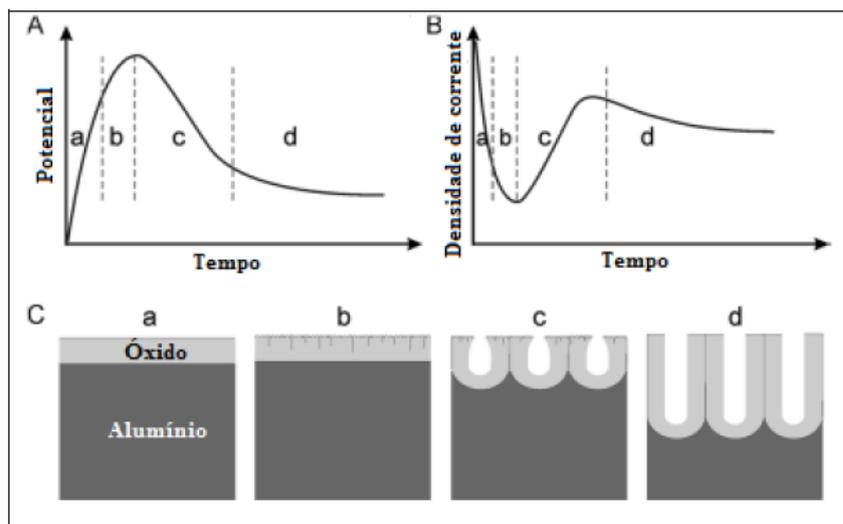


Figura 7 - Ilustração esquemática da cinética em modo galvanostático (A) e potenciostático (B), e em (C) os estágios de desenvolvimento do óxido. (Sulka, 2008).

Com aplicação de uma corrente constante, o potencial aumenta linearmente com o crescimento do óxido barreira, este produz um aumento elevado da resistência local. O estágio (b) resulta na propagação de caminhos preferenciais (poros precursor). No máximo potencial (c), a formação da camada porosa inicia e a tendência é a estabilização do potencial (d). Sob potencial constante, ocorre uma queda rápida na densidade corrente inicial devido a formação da camada barreira, seguido do aumento da corrente pela formação inicial de poros e a estabilização pela formação e crescimento estável da camada porosa. (Sulka, 2008).

Estudos recentes vem contrapondo a ideia da anodização em baixas temperaturas. Sulka e Stepniowski em trabalho publicado em 2009, comprovam que é possível obter uma alta taxa de crescimento de óxido para o alumínio, em temperatura ambiente e com eletrólito de ácido oxálico 0.3M, reduzindo assim custos com sistemas de resfriamento e aumentando as possibilidades de aplicação em escala industrial.

1.3.3 Formação dos poros

O crescimento da camada de óxido porosa ocorre na interface metal/óxido no fundo do poro. Para alumina anódica porosa, o crescimento do filme de óxido está associado a dissolução localizada do óxido, como consequência disso os poros são formados. Durante o crescimento do óxido poroso, uma camada barreira fina é continuamente dissolvida na interface eletrólito/fundo do poro, pelo aumento local do campo elétrico. Um equilíbrio é estabelecido entre formação (interface metal/óxido) e dissolução do óxido (interface eletrólito/óxido). Na Figura 8 pode-se observar a corrente desenvolvida na formação dos poros.

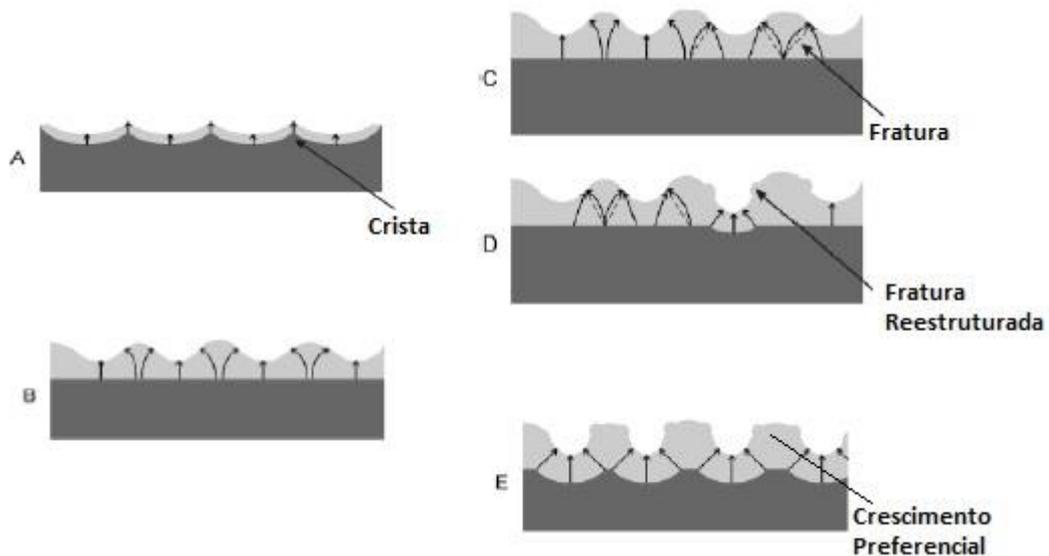


Figura 8 - Distribuição da corrente durante início da formação dos poros na alumina. (Adaptado de Sulka, 2008).

O crescimento uniforme do óxido produz uma leve rugosidade na superfície do alumínio. Uma distribuição de corrente não-uniforme na superfície pode ocorrer (impurezas, contorno de grão, etc), levando a uma maior dissolução do óxido e aumento heterogêneo na espessura, 8(B). Fraturas, 8(C) e reestruturações no filme, 8(D), ocorrem rapidamente devido a alta densidade de corrente em alguns pontos. A espessura do óxido aumenta nas zonas de falha, aumentando a curvatura do óxido na interface, 8(E). Um efeito Joule que ocorre no fundo do poro contribui para aumento da dissolução do óxido neste local (Sulka, 2008).

1.3.4 Anodização de liga alumínio prata

Metais como ouro, cobre e níquel podem ser eletrodepositados nos poros após anodização, mas existem poucos trabalhos na literatura abordando a anodização de ligas contendo esses metais. A inovação deste trabalho encontra-se na eliminação desta etapa pós anodização, trazendo o metal prata desde a fusão do alumínio e transformando-o em nanopartículas através de processo eletroquímico.

Pérez estudou a produção de uma liga Al-Ag através de *melt-spinning*, com 95,25% de alumínio em peso e 4,75% de prata em peso, com posterior anodização em ácido oxálico 0,3M. Nanopartículas de prata foram obtidas com variação de 4 a 120nm.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 Materiais Utilizados

As amostras foram produzidas a partir de um fio de alumínio com pureza de 99,999%, o mesmo foi cortado em segmentos de cerca de 5mm de comprimento.

A prata utilizada se apresentava na forma de grãos e possuía pureza de 99,9% e, em média, 3mm de espessura.

O alumínio e a prata, em uma proporção de 10:1, foram pesados e colocados em um cadinho de alumina, conforme Figura 9(A), e então fundidos em forno elétrico tubular, sob vácuo de aproximadamente 10^{-3} atm, o vácuo foi realizado através de uma bomba de vácuo. Ao final da fusão obteve-se a liga vista em 9(B) e foram então laminadas conforme visto em 9(C).

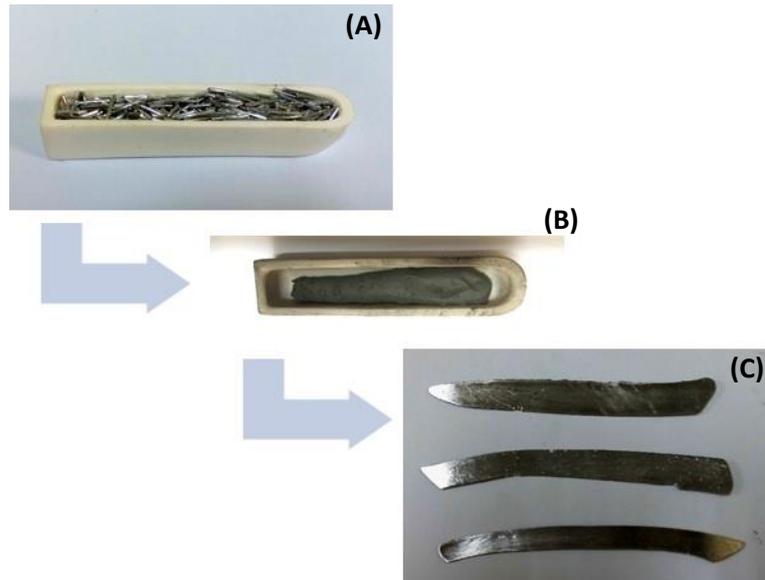


Figura 9 - Em (A) materiais antes da fusão, (B) liga metálica após a fusão e (C) liga metálica laminada.

A composição da liga produzida está indicada no diagrama de fases da Figura 10, apresentando 10% de prata em peso ou cerca de 3% em porcentagem atômica.

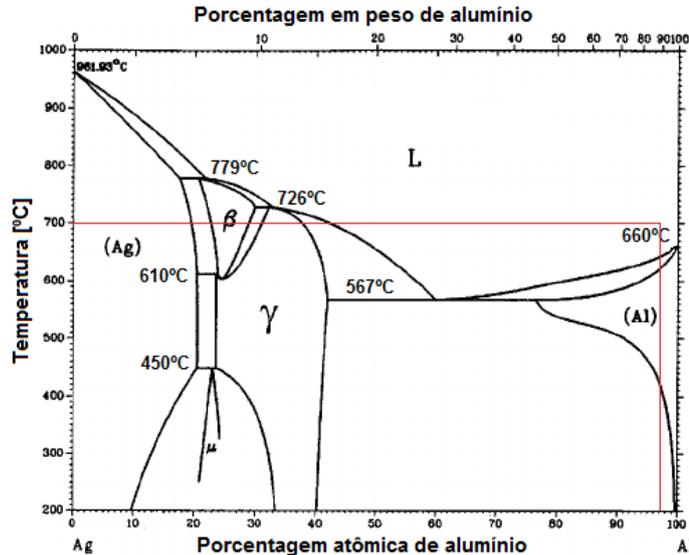


Figura 10 - Diagrama binário Al-Ag indicando a composição da liga e a temperatura de fusão utilizada.

A temperatura utilizada para garantir a completa fusão dos materiais foi de 700°C, com este sobreaquecimento também se garantiu uma maior energia para que a prata pudesse difundir-se homogênea no alumínio líquido.

A liga após fusão pode ser vista na Figura 9(B), o resfriamento da mesma ocorreu dentro do forno e após foi feita laminação, a intenção é fraturar e dispersar precipitados da fase $\gamma\text{Ag}_2\text{Al}$.

Posterior à laminação, as tiras obtidas, conforme se vê na Fig 9(C), foram submetidas a um tratamento térmico de solubilização a 550°C , durante 5 horas, sob vácuo. Após solubilização, as lâminas foram temperadas em água. Com este tratamento térmico espera-se a completa dissolução da prata e manutenção da solução sólida a temperatura ambiente (fase α supersaturada).

2.2 Preparação Das Amostras Para Anodização

A partir das tiras laminadas, foram retiradas amostras de cerca de 1cm^2 . A superfície das amostras foi preparada utilizando-se lixas de Carbetto de Silício com granulometria sequencial de 1200#, 2400# e 4000# e após polidas em feltro com pasta de diamante. Um fio de cobre foi fixado com cola prata na face oposta para o contato elétrico. As regiões da amostra que não eram de interesse para o processo de anodização foram isoladas com resina epóxi.

2.3 Anodização Das Amostras

Ácido oxálico é um dos meios mais difundidos para anodização de ligas de alumínio, conforme já mencionado na revisão bibliográfica, portanto, foi a solução escolhida. O ácido foi preparado com uma concentração de 0,3M a partir de um sal dihidratado, com pureza de 99,5% da marca MERK.

Os elementos utilizados para realização da anodização foram um agitador para homogeneização da solução, um termômetro para controle de temperatura, um contra-eletrodo de aço inox, ligado ao polo negativo do potenciostato, e a amostra de Al-10Ag como eletrodo de trabalho, conectada ao polo positivo do potenciostato.

O procedimento foi realizado com densidade de corrente constante de $50\text{mA}/\text{cm}^2$ durante 15 minutos, com agitação lenta, sob temperatura ambiente. Com

o término da anodização, as amostras foram lavadas com água deionizada em abundância e álcool isopropílico, após, secas com jato de ar.

2.4 Caracterização Morfológica

2.4.1 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV-EDS)

A técnica de microscopia eletrônica de varredura (MEV) foi utilizada para caracterização morfológica das amostras. Também se fez uso da técnica de EDS, que fornece um espectro de raios x, para análise de composição química elementar. As análises via MEV-EDS foram realizadas no Centro de Microscopia Eletrônica da UFRGS.

Foi caracterizada seção transversal da amostra, verificando espessura de óxido. A face frontal da amostra foi analisada através de EDS, com tensões de trabalho crescente - 5,10, 20 e 30keV - pode-se obter um perfil de composição química elementar de prata na amostra, da superfície até seu interior.

2.4.2 Microscopia Eletrônica de Varredura – Campo de Emissão de Elétrons (Field Emission Gun)

O Microscópio Eletrônico de Varredura Zeiss Auriga com fonte de elétrons do tipo FEG, do Centro de Microscopia Eletrônica (CME) da UFRGS, foi utilizado para caracterização da estrutura de óxido porosa e das nanopartículas de prata. Este microscópio com fonte de emissão de campo é habilitado para análises de materiais nanoestruturados, com alta resolução na ordem de 10^{-9} .

2.4.3 Microscopia Eletrônica de Transmissão (MET)

Esse tipo de técnica é utilizada para captar imagens baseadas na intensidade eletrônica emitida através da amostra. Variações no grau de difração dos elétrons

através de uma fina camada, chamado de contraste de difração, são úteis para verificação de deslocamentos, interfaces e partículas de segunda fase.

No trabalho em questão, a análise objetivou a verificação da presença de nanopartículas e os seus tamanhos e também se intencionou obter imagens com maior resolução dos nanotubos. As amostras para MET foram preparadas realizando a remoção mecânica do óxido de alumínio sobre grids de transmissão.

2.5 Teste Biocida

A capacidade biocida da amostra anodizada foi comparada com uma amostra de alumínio comercial através de uma técnica de formação de biofilme de bactérias *Escherichia coli*, técnica modificada a partir de protocolos já descritos anteriormente (Antunes *et al.*, 2011; O'Toole, 2011). A formação do biofilme sobre a superfície das amostras foi medido pela coloração com cristal violeta, corante utilizado para medições de microtitulações.

As amostras foram cobertas com um filme de bactérias e coradas com cristal violeta 0,1% por 15 minutos. Após a superfície foi lavada com água destilada por três vezes, seca em jato de ar e as amostras foram transferidas para poços de uma placa de microtitulação. Dimetilsulfóxido (DMSO) foi adicionado a cada poço para solubilização do corante e a placa seguiu para incubação por 15 minutos em temperatura ambiente.

As amostras foram removidas de cada poço e com o corante solubilizado em DMSO realizou-se a microtitulação a 570nm, como controle foi usado DMSO.

3 RESULTADOS E DISCUSSÕES

3.1 Controle Da Anodização

Com anodização galvanostática, é possível acompanhar o desenvolvimento do óxido através do monitoramento do potencial.

Como mencionado na seção 1.3.2, a Figura 7(A) apresenta o modo galvanostático e o comportamento do potencial ideal. Pode-se relacionar a Figura 7(A) com o comportamento da anodização realizada em laboratório para a liga Al-10Ag, e compara-se com a anodização de uma liga de alumínio comercial da série 1xxx, conforme se vê na Figura 11.

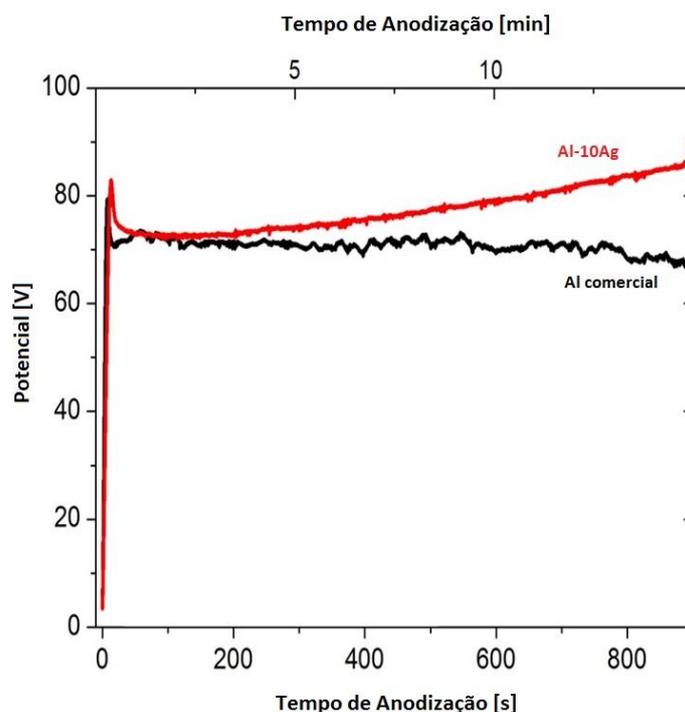


Figura 11 - Gráfico apresentando o desenvolvimento do potencial da liga metálica produzida e comparação com anodização de amostra de alumínio comercial.

Para ambas as amostras ocorre um aumento da resistência na superfície com a formação da camada barreira, no estágio inicial da anodização, isto provoca um

aumento do potencial gerado até um pico de aproximadamente 83 V para a liga Al-10Ag, e 80 V para a liga de alumínio comercial. Atingido este pico, inicia-se a formação dos poros, a tendência é a estabilização do potencial, como observado para o alumínio comercial.

Na última etapa da anodização, onde ocorre o crescimento do óxido poroso, para a liga Al-10Ag observa-se um curto período de tempo em que o potencial se estabiliza, cerca de 200 segundos, e após ocorre um aumento gradual do potencial até o fim da anodização. Esse comportamento pode ser explicado através da precipitação das partículas de prata no óxido em formação.

3.2 Caracterização Morfológica

3.2.1 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV-EDS)

Através da técnica de MEV, analisou-se a seção transversal da amostra anodizada para verificação da homogeneidade na espessura do óxido formado.

Nas figuras 12 e 13 pode-se notar a camada de óxido formada pela diferença de contraste entre a mesma e o substrato.

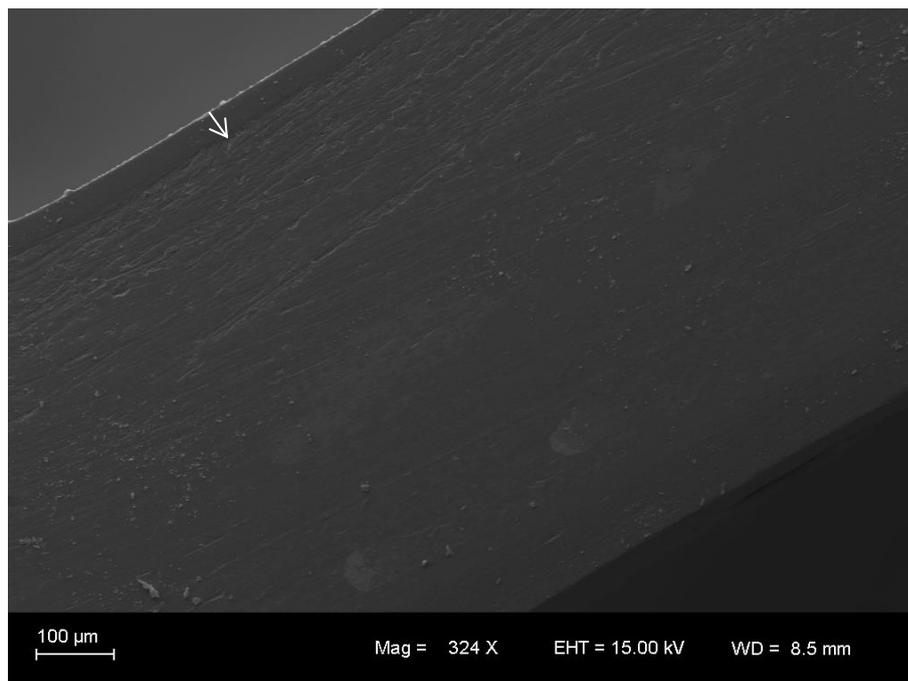


Figura 12 - Imagem obtida por MEV-SE da seção transversal da amostra anodizada.

Comprovando a homogeneidade em sua espessura, pode-se perceber na Figura 13 a espessura constante do filme de óxido, que apresenta um valor médio de 30μm.

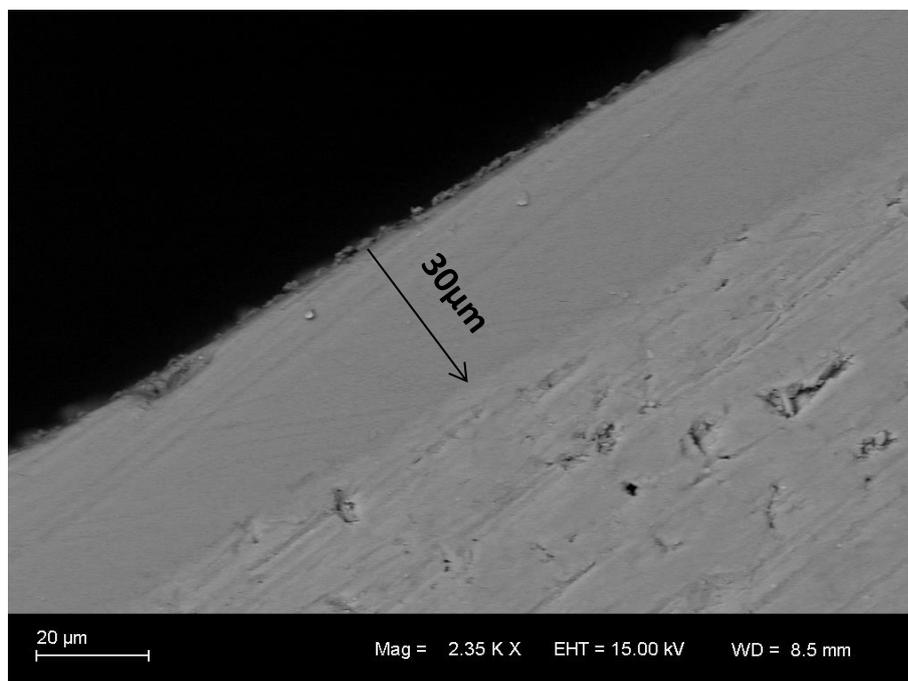


Figura 13 - Imagem obtida por MEV-SE da seção transversal da amostra anodizada com maior aumento na região do óxido. Magnificação: 2,35k

A hipótese da concentração de prata na superfície foi confirmada através da análise de EDS em diversos pontos da amostra, na face anodizada. A análise foi feita com diversas tensões do feixe de elétrons, que quanto maior, maior seu poder de penetração na amostra. Através desta técnica, pode-se relacionar a profundidade de penetração do feixe de elétrons, através da fórmula abaixo, com a concentração de prata.

$$r (\mu\text{m}) = \frac{2,76 \cdot 10^{-2} \cdot A \cdot E^{1,67}}{\rho \cdot Z^{1,69}}$$

Onde: A = massa atômica ρ = densidade do material (g/cm³)

E = tensão do feixe Z = número atômico

Como comparação, realizou-se também a análise EDS para uma amostra não anodizada. O gráfico da Figura 14 abaixo mostra a confirmação da hipótese feita sobre concentração de prata na superfície. Para uma análise química elementar superficial, com menor tensão de feixe, observa-se a maior concentração de prata para amostra anodizada, com 27% de prata em peso. De acordo com o aumento da tensão do feixe e o aumento da profundidade de análise, nota-se a diminuição gradativa da concentração de prata, até que o valor coincide com o mesmo para amostra sem anodização, em cerca de 11% de prata em peso.

Pode-se dizer que a concentração de prata na camada anodizada sofre um decréscimo de 27% até 11% em peso, em que 11% em peso refere-se à concentração de prata do metal base, o alumínio.

Para a amostra sem anodização, a alteração da profundidade de análise não altera o valor de porcentagem de prata, permanecendo constante em cerca de 11%.

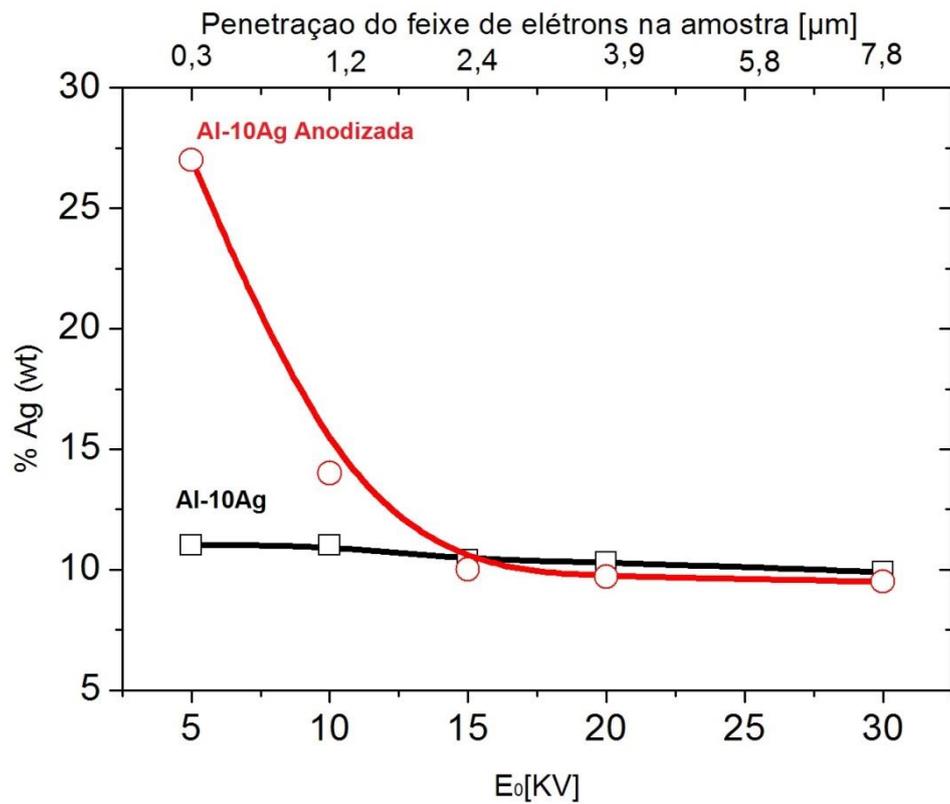


Figura 14 - Gráfico indicando a concentração de prata da superfície ao interior da amostra antes e após anodização.

3.2.2 Microscopia Eletrônica de Varredura – Campo de Emissão de Elétrons (MEV – FEG)

Através da análise MEV-FEG pode-se ver a regularidade do óxido formado na Figura 15, como já mencionado na revisão, visto para alumínio anodizado. Com auxílio do software *ImageJ* pode-se calcular o diâmetro de poro e espessura de parede do óxido, que em média, apresentaram valor de 85nm e 50 nm, respectivamente.

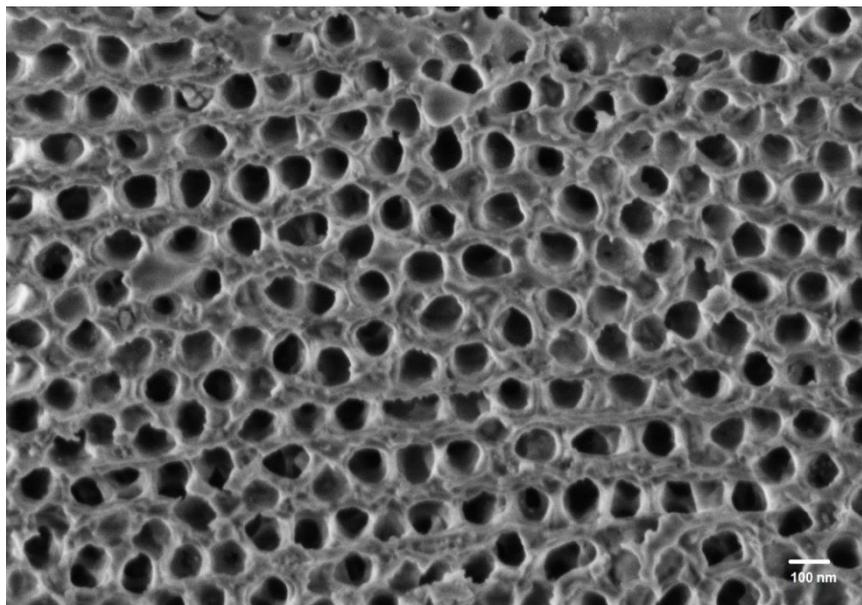


Figura 15 - Imagem obtida por MEV-FEG da microestrutura do óxido poroso. Magnificação: 100k.

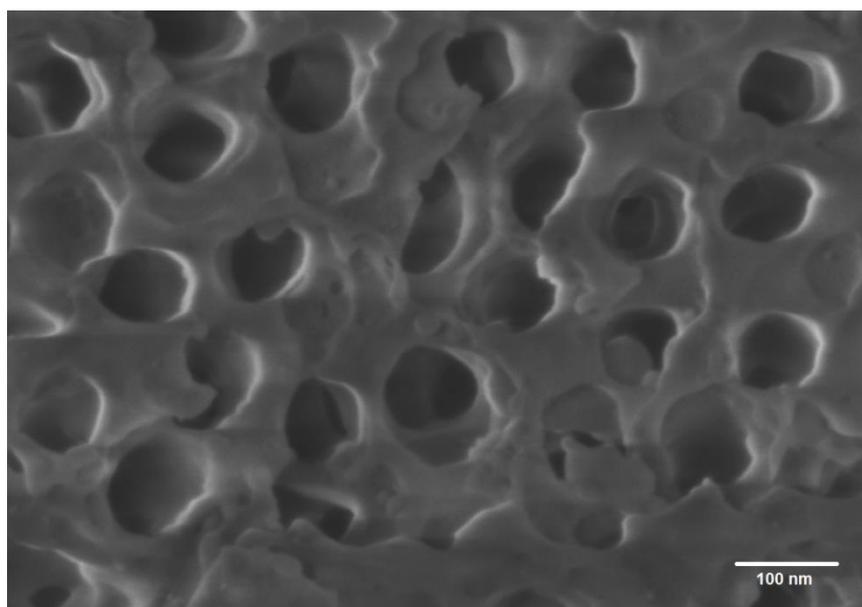


Figura 16 - Imagem obtida por MEV-FEG da microestrutura do óxido poroso em detalhe.
Magnificação: 250k.

As partículas de prata podem ser visualizadas com contraste de elétrons retroespalhados, localizadas nas paredes dos tubos de alumina, onde a maior nanopartícula analisada possui 40nm.

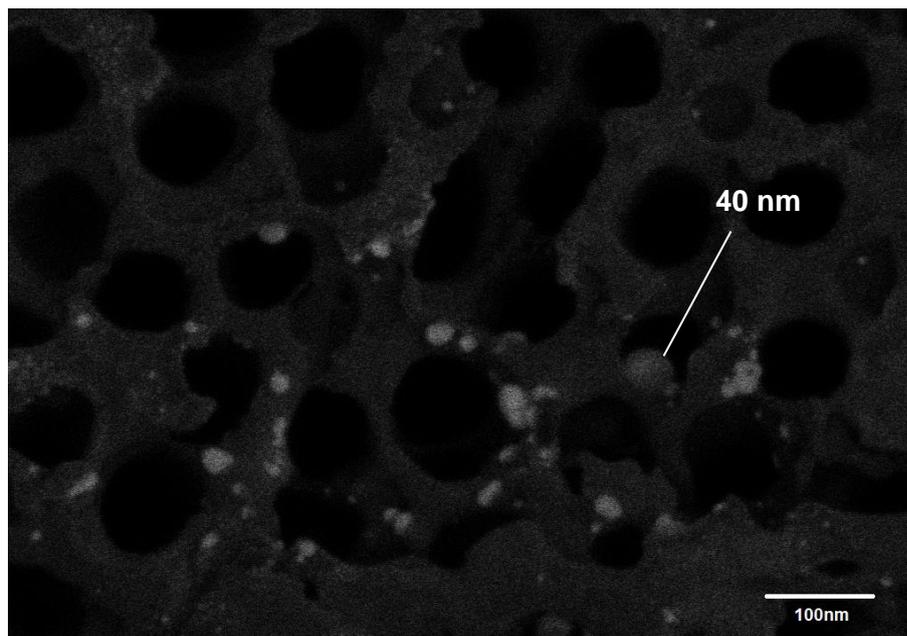


Figura 17 - Imagem obtida por MEV-FEG modo BSD, evidenciando microestrutura contendo nanopartículas de prata na superfície do óxido e nas paredes dos nanotubos de alumina.

3.2.3 Microscopia Eletrônica de Transmissão (MET)

Na Figura 18 podemos observar um nanotubo de óxido de alumina formado durante anodização. Este nanotubo apresenta diâmetro interno de 85 nm, valor semelhante a média de diâmetro dos poros, obtido através de MEV-FEG, visto na seção 3.3.2.

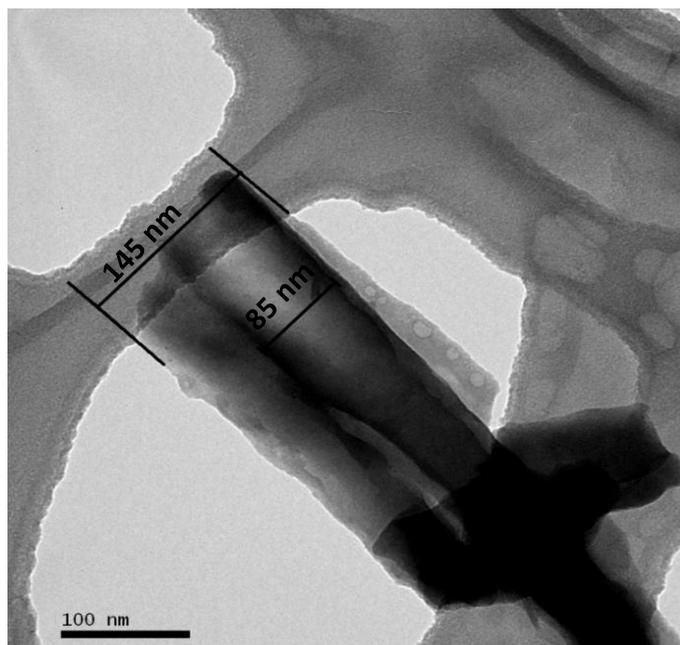


Figura 18 - Imagem obtida por MET de um nanotubo formado durante a anodização. Magnificação: 250k.

Na Figura 19 podemos notar as nanopartículas embebidas no óxido de alumina, a tonalidade escura é esperada em função do maior peso atômico dessas partículas. Na região analisada foi possível verificar nanopartículas de 3 a 5nm de diâmetro.

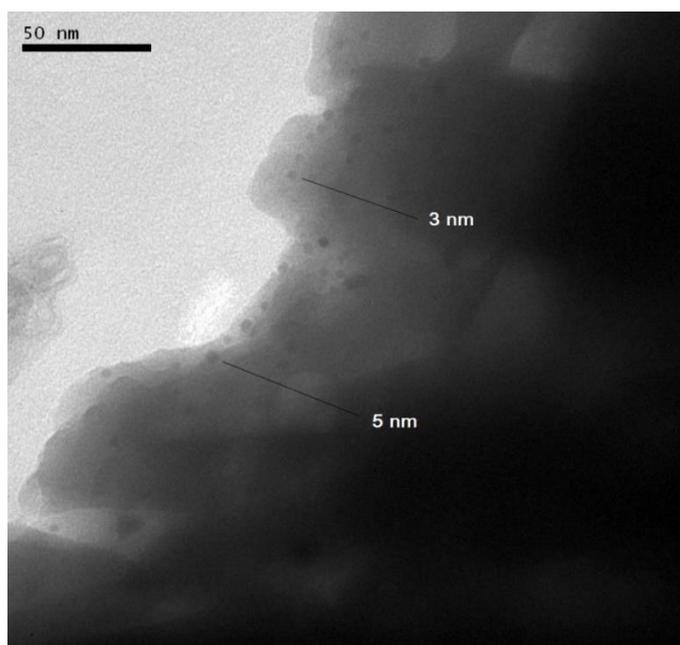


Figura 19 - Imagem obtida por MET onde podem ser observadas nanopartículas embebidas no óxido. Magnificação: 500k.

3.3 Teste Biocida

Através do teste biocida feito pela inoculação de bactérias *Escherichia coli* em biofilme, observa-se uma redução do crescimento do biofilme na amostra anodizada quando comparada com uma amostra de alumínio comercial da série 1xxx sem anodização, isto pode ser verificado através dos valores de absorvância para cada amostra testada, sendo que a absorvância aumenta com o aumento de bactérias. A absorvância de cada biofilme pode ser verificada no gráfico da Figura 20, abaixo.

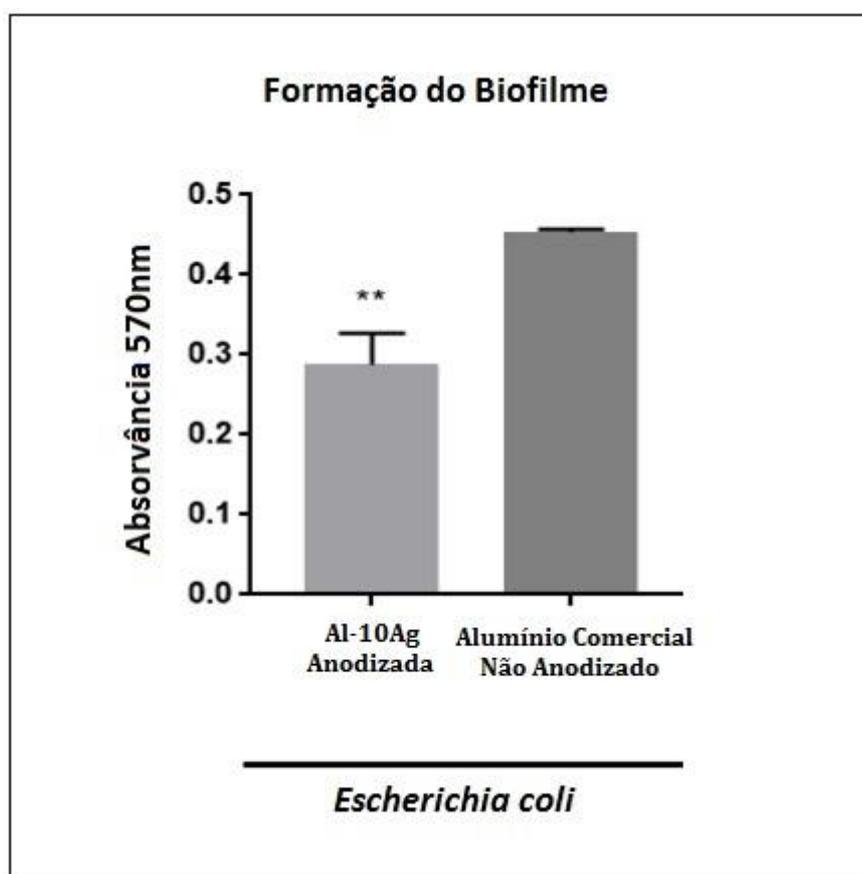


Figura 20 - Medidas de absorvância do biofilme na amostra anodizada e em alumínio comercial.

Na figura 21(A) e (B), podemos observar o biofilme após ter sido solubilizado em cristal violeta, corante utilizado para medidas de microtitulação, e em (C) observa-se o controle de DMSO utilizado.

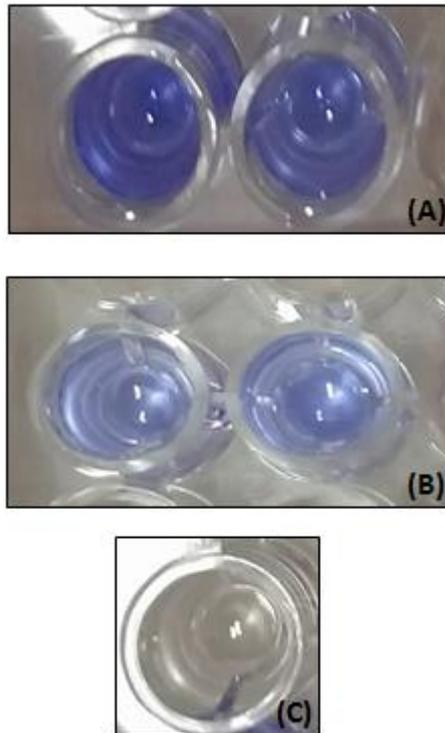


Figura 21 - Biofilme solubilizado com cristal violeta em (A) para alumínio comercial, em (B) para a liga Al-10Ag anodizada e em (C) controle de DMSO.

Em 21(A), representando a amostra de alumínio comercial sem anodização, pode-se notar uma coloração mais intensa da solução, indicando um número maior de bactérias crescidas no biofilme. Se analisarmos a imagem 21(B), nota-se uma diminuição na intensidade de cor, o que representa um número reduzido de bactérias crescidas no biofilme quando comparado com alumínio comercial.

4. CONCLUSÕES

A rota para obtenção de nanopartículas de prata em óxido de alumina sobre uma matriz de alumínio se apresentou viável para a aplicação proposta.

Através do processo de anodização obteve-se uma distribuição homogênea de poros com média de 85nm e espessura de parede de óxido com média de 50nm. As nanopartículas observadas variaram em uma faixa de 3 a 40nm.

O teste de biotoxidez para a mostra anodizada apresentou um resultado favorável para aplicação contra bactérias *Escherichia coli* quando comparada com alumínio comercial.

5. REFERÊNCIAS

ABD-ELNAIEM A.M.; MEBED, A.M.; EL-SAID, W.A.; ABDEL-RAHIM, M.A. Porous and mesh alumina formed by anodization of high purity aluminum films at low anodizing voltage, *Thin Solid Films*, v. 570, p. 49–56, 2014.

ANTUNES, L. C., IMPERI, F., CARATTOLI, A.; VISCA, P. Deciphering the multifactorial nature of *Acinetobacter baumannii* pathogenicity. *PLoS ONE*, v. 6, p. e22674, 2011.

CRABTREE, J.H.; BURCHETTE, R.J.; SIDDIQI, R.A.; HUEN, I.T.; HANDOTT, L.L.;

DAL LAGO, V.; DE OLIVEIRA, L.F.; DE ALMEIDA GONÇALVES, K.; KOBARG, J.; CARDOSO, M.B. Size-selective silver nanoparticles: future of biomedical devices with enhanced bactericidal properties, *Journal of Materials Chemistry*, v. 21, p. 12267-12273, 2011.

DIETER, G. E. *Metalurgia Mecânica*. Editora Guanabara, 2ª edição, p. 653, 1981.

ERNI, R.; HEINRICH, H.; KOSTORZ, G. On the Internal structure of Guinier-Preston zones in Al-3at.% Ag. *Phil. Mag. Letters*, v. 83, p. 599-609, 2003.

FENG, Q.L.; WU, J.; CHEN, G.Q.; CUI, F.Z.; KIM, T.N.; KIM, J.O. A mechanistic study of the antibacterial effect of silver ions on *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. *Journal of Biomedical Materials*, v. 52(4), p.662–668, 2000.

FENG, W.; HUANG, P.; JIANG, L. Preparation of highly ordered ZnO nanowire arrays by paired-cell deposition, *Ceramics Internacional*, v. 40 (5), p. 6383-6387, 2014.

HAICK, H. *Nanotechnology and Nanosensors – Introduction to Nanotechnology*, Technion, Israel Institute of Technology. Disponível em: <<https://pt.coursera.org/learn/nanotechnology>>. Acesso em: 18 de outubro de 2016.

JONES, S.A.; BOWLER P.G.; WALKER M.; PARSONS D. Controlling wound bioburden with a novel silver-containing Hydrofiber dressing. *Wound Repair Regen* v. 12(3), p. 288-294, 2004.

KELLER, F.; HUNTER, M. S.; ROBINSON, D. L. Structural features of oxide coatings on aluminum, *Journal of the Electrochemical Society*, v. 100, p. 411-419, 1953.

KLASEN, H.J. A historical review of the use of silver in the treatment of burns. II. Renewed interest for silver. *Burns*, v. 26(2), p. 131–138, 2000.

KREIBIG, U.; VOLLMER, M. *Optical properties of metal clusters*. Berlin, Germany: Springer; 1995.

LEE, Y.H.; LEU, C.; WU, M.T.; YEN, J.H.; FUNG, K.Z. Fabrication of Cu/Cu₂O composite nanowire arrays on Si via AAO template-mediated electrodeposition, *Journal of Alloys and Compounds*, v. 427 (1), p. 213-218, 2007.

MASUDA, H.; FUKUDA, K. Ordered Metal Nanohole Arrays Made by a 2-Step Replication of Honeycomb Structures of Anodic Alumina, *Science*, v. 268, p. 1466–1468, 1995.

MIRSATTARI, S.M.; HAMMOND, R.R.; SHARPE, M.D.; LEUNG, F.; YOUNG, G.B. Myoclonic status epilepticus following repeated oral ingestion of colloidal silver. *Neurology*, v. 62(8), p.1408–1410, 2004.

MORONES, J.R., ELECHIGUERRA, J.L., CAMACHO, A., HOLT, K., KOURI, J.B., RAMFREZ, J.T., YACAMAN, M.J. The bactericidal effect of silver nanoparticles. *Nanotechnology* v. 16, p. 2346 e 2353, 2005.

MULVANEY, P. Surface plasmon spectroscopy of nanosized metal particles. *Langmuir*, v. 12, p. 788–800, 1996.

O'TOOLE, G. A. Microtiter dish biofilm formation assay. *Journal of Visualized Experiments*, v. 47, p. 2437, 2011.

PAL, S.; TAK, Y.K.; SONG, J.M. Does the antibacterial activity of silver nanoparticles depend on the shape of the nanoparticle? A study of the gram-negative bacterium *Escherichia coli*. *Applied and Environmental Microbiology*, v. 27(6), p. 1712–1720, 2007.

PÉREZ, I. R.; *Produção de estruturas porosas contendo nanopartículas de prata e silício por Melt Spinning*; 2015.

RAI, M.; YADAV, A.; GADE, A. Silver nanoparticles as a new generation of microbials. *Biotechnology Advances*, v. 27, p. 76–83, 2009.

RAMESH, K.T. *Nanomaterials – Mechanics and Mechanisms*. Baltimore: Springer, 2009.

SILVER, S.; PHUNG L.T. Bacterial heavy metal resistance: new surprises. *Annual Review of Microbiology*, v. 50, p. 753- 789, 1996.

SONDI, I.; SALOPEK-SONDI, B. Silver nanoparticles as antimicrobial agent: a case study on *E. coli* as a model for gram-negative bacteria. *Journal of Colloid Interface*, v. 275, p. 177–182, 2007.

SONG, H.Y.; KO, K.K.; OH, L.H.; LEE, B.T. Fabrication of silver nanoparticles and their antimicrobial mechanisms. *European Cells and Materials*, v. 11, p. 58, 2006.

STĘPNIOWSKI, W.J.; MICHALSKA-DOMAŃSKA, M.; NOREK, M.; TWARDOSZ, E.; FLORKIEWICZ, W.; POLKOWSKI, W.; ZASADA, D.; BOJAR, Z. Anodization of cold deformed technical purity aluminum (AA1050) in oxalic acid, *Surface Coating Technology*, v. 258, p. 268–274, 2014.

STĘPNIOWSKI, W.J.; NOREK, M.; MICHALSKA-DOMAŃSKA, M.; BOJAR, Z. Ultra-small nanopores obtained by self-organized anodization of aluminum in oxalic acid at low voltages, *Materials Letter*, v. 111, p. 20–23, 2013.

SULKA, G.D. Highly ordered anodic porous alumina formation by self-organised anodising and template-assisted fabrication of nanostructured materials, *Nanostructured Materials in Electrochemistry*, p. 1, 2008.

SULKA, G.D.; STEPNIOWSKI, W.J.; Structural features of self-organized nanopore arrays formed by anodization of aluminum in oxalic acid at relatively high temperatures, *Electrochimica Acta*, v. 54, p. 3683–3691, 2009.

SULKA, G.D.; ZARASKA, L.; STĘPNIOWSKI, W.J. Anodic porous alumina as a template for nanofabrication, 2nd Edition, *Encyclopedia of Nanoscience and Nanotechnology*, American Scientific Publishers, v. 11, p. 261, 2011.

WANG, S.Q.; SCHNEIDER, M., YE, H.Q.; GOTTSTEIN, G. First-principles study of the formation of Guinier–Preston zones in Al–Cu alloys, *Scripta Materialia*, v. 51, p. 665–669, 2004

YU, Y. *Principle of Metal Subject*, Metallurgy and Industry Publishing House, Beijing, China, p. 495, 2000.

YOUNG, L., “Anodic Oxide Films.” Academic Press, London and New York, 1961.

ZHAO, G.; STEVENS JR, S.E. Multiple parameters for the comprehensive evaluation of the susceptibility of *Escherichia coli* to the silver ion. *Biometals*, v. 11, p. 27-32, 1998.

