



Un cristallo di TiO_2 anatasio

Valentina Caratto^{1,2}, Valerio Livoti¹,
Elisabetta Pezzati³, Bahar Aliakbarian⁴,
Patrizia Perego⁴, Maurizio Ferretti^{1,2}
¹Dipartimento di Chimica e Chimica Industriale
Università di Genova
²CNR-SPIN - Genova
³Dipartimento di Patologia e Diagnostica
Sezione di Microbiologia
Università di Verona
⁴Dipartimento di Ingegneria Chimica
e di Processo
Università di Genova
caratto@chimica.unige.it

STUDIO DELL'ATTIVITÀ FOTOCATALITICA DI NANO- PARTICELLE DI TiO_2 SU BATTERI GRAM NEGATIVI

L'obiettivo di questo studio è quello di valutare l'effetto fotocatalitico di nanoparticelle di TiO_2 con diversa struttura, dimensione e morfologia su batteri Gram negativi, in particolare su Escherichia coli e Pseudomonas aeruginosa. La fonte luminosa impiegata è stata una luce fluorescente.

La fotocatalisi è il fenomeno nel quale una sostanza, il fotocatalizzatore, modifica la velocità di una reazione chimica attraverso l'azione della luce. Questo fenomeno è stato scoperto nel 1972 da Fujishima e Honda [1]. Il meccanismo della fotocatalisi sfrutta l'energia solare per rendere attivi i fotocatalizzatori. Questi, qualora illuminati da luce avente appropriata lunghezza d'onda, inducono la formazione di reagenti fortemente ossidanti in grado di

decomporre le sostanze organiche ed inorganiche presenti. La fotocatalisi è, in sostanza, un acceleratore dei processi di ossidazione già attivi in natura [2]. Le sostanze che modificano la velocità di una reazione chimica, attraverso l'azione della luce, sono i semiconduttori. Quando un semiconduttore è colpito da fotoni aventi energia $h\nu$ maggiore del suo E_{gap} [3], un elettrone (e^-) è in grado di migrare dalla banda di valenza alla banda di conduzione, generando una vacanza

elettronica, o lacuna, al limite superiore della banda di valenza. I componenti della coppia fotogenerata sono in grado, rispettivamente, di ridurre ed ossidare una sostanza adsorbita sulla superficie del fotocatalizzatore [4]. Se il semiconduttore è a contatto con H_2O , le lacune possono produrre radicali ossidrilici (OH^*), mentre gli elettroni sono abbastanza riducenti da produrre dall'ossigeno l'anione superossido (O_2^-). Queste due specie, fortemente reattive, sono in grado di decomporre le sostanze adsorbite [4, 5]. Tra i sistemi fotocatalitici, una posizione di rilievo è certamente occupata dai catalizzatori in fase solida a base di ossidi semiconduttori costituiti da particelle nanodimensionali. Infatti, grazie alle particolari caratteristiche di questa classe di semiconduttori è possibile modulare le proprietà del materiale al variare delle dimensioni delle particelle, della loro morfologia e della struttura. In particolare, per ciò che concerne i semiconduttori, il controllo dimensionale permette variazioni programmate delle caratteristiche del materiale senza alterarne la composizione chimica. Variando, infatti, la dimensione dei cristalli, è possibile modificare il potenziale redox della coppia fotogenerata.

Dal momento che l'attività fotocatalitica si esplica sulla superficie del fotocatalizzatore, l'elevato rapporto superficie/volume che caratterizza un nanomateriale, aumentando la disponibilità di siti superficiali [6], contribuisce ad incrementare la velocità delle reazioni di fotodecomposizione [7]. Altro fattore che può modificare l'attività del fotocatalizzatore è la superficie specifica, a sua volta funzione della morfologia delle particelle: ad una maggiore superficie specifica corrisponde, infatti, una più efficace attività fotocatalitica. A riguardo, la superficie specifica aumenta sia al diminuire delle dimensioni delle particelle, sia sviluppando particelle di idonee geometrie, quali nanotubi, nanobastoncelli (*nano-rods*) [8] o morfologie più esotiche quali *nano-flowers* [9]. Il TiO_2 sembra essere il fotocatalizzatore ideale per molteplici motivi: è poco costoso, disponibile in natura, non nocivo per l'uomo e fortemente ossidante. Inoltre, gli elettroni fotogenerati sono sufficientemente riducenti da produrre l'anione superossido dall'ossigeno [2]. Nel caso del TiO_2 il potere ossidante delle lacune è molto maggiore del potere riducente degli elettroni. L'efficacia dell'attività fotocatalitica del TiO_2 dipende da molteplici e differenti fattori, quali la tipologia e la quantità relativa di fase cristallina presente [10, 11], la dimensione e la morfologia delle particelle e quindi la loro superficie specifica, la tipologia dei materiali da degradare [12], le impurezze, la densità dei gruppi ossidrilici di superficie ed il metodo di preparazione [13]. Il TiO_2 può cristallizzare in diversi polimorfi: rutilo, anatasio, brookite [14]. Sebbene la maggior parte dei lavori scientifici indichi nell'anatasio l'unica fase fotocataliticamente attiva [15, 16], recenti lavori riportano anche il rutilo come capace di contribuire all'attività fotocatalitica [17, 18]. Affinché il rutilo possa presentare una consistente fotoattività, è necessario che sia caratterizzato da un'elevata superficie specifica ed un'elevata cristallinità. La diminuzione della fotoattività, determinata dalla trasforma-

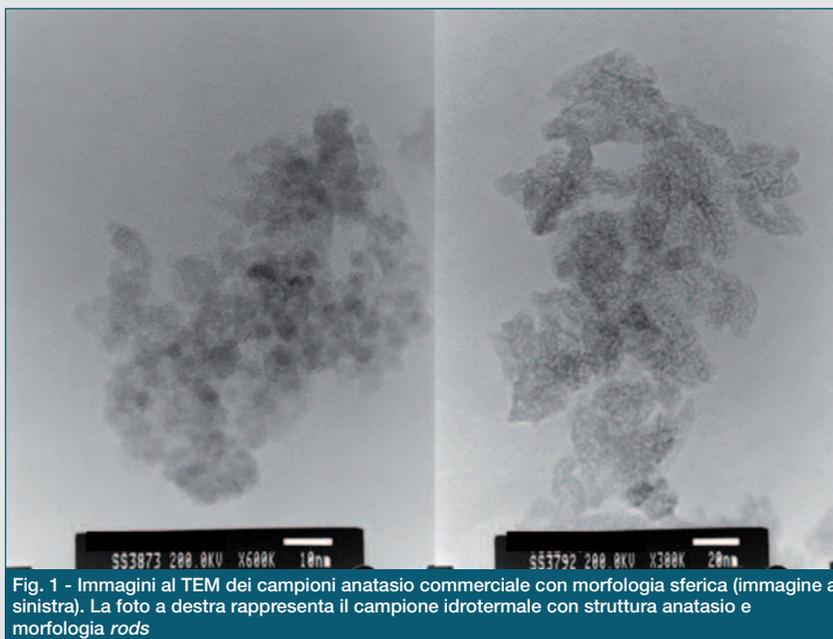


Fig. 1 - Immagini al TEM dei campioni anatasio commerciale con morfologia sferica (immagine a sinistra). La foto a destra rappresenta il campione idrotermale con struttura anatasio e morfologia rods

zione di fase anatasio-rutilo, non è tanto imputabile alla variazione della struttura cristallina, quanto, piuttosto, alle variazioni di superficie specifica e di porosità [19]. In ambito microbiologico sono stati condotti diversi studi volti a determinare l'attività antibatterica delle particelle di TiO_2 foto-eccitate con lampade UV [20]. L'obiettivo di questo studio è quello di valutare l'attività antibatterica di nanoparticelle di TiO_2 con diversa struttura, dimensione e morfologia dopo attivazione fotocatalitica per mezzo di luce fluorescente, su batteri Gram negativi quali *Escherichia coli* e *Pseudomonas aeruginosa*. In questo lavoro sono stati testati 4 differenti tipi di TiO_2 : anatasio commerciale, anatasio sintetizzato per via idrotermale, rutilo sintetizzato per via sol-gel e una miscela 1:1 di rutilo e anatasio. L'intensità della fonte luminosa e la concentrazione di TiO_2 (520 mg/m²) sono state mantenute costanti durante lo studio [21].

Le nanoparticelle sono state ottenute utilizzando due differenti tecniche di sintesi: la tecnica idrotermale e la tecnica sol-gel. La sintesi idrotermale si riferisce al trattamento di soluzioni acquose di sali metallici o metallorganici a temperature elevate, generalmente comprese tra i 100 e i 400 °C e pressione variabile da 1 a 10 atm [22]. Con questa metodologia, utilizzando autoclavi, polveri ceramiche possono essere prodotte attraverso reazioni chimiche in soluzioni acquose mediante la simultanea applicazione di calore e pressione [23]. Per la sintesi del TiO_2 utilizzato nel lavoro, la procedura ha previsto l'utilizzo di $TiCl_4$ in $HCl_{(aq)}$ 0,25 g/l, trattato in autoclave per 6 ore a 130 °C. Nella sintesi sol-gel i precursori in genere sono alcossidi metallici miscelati con solventi organici per creare il sol a bassa temperatura, successivamente con l'aggiunta di H_2O si ha la rapida evoluzione dal sol al gel sotto agitazione. Il composto ottenuto risulta amorfo, per completare la sintesi è quindi necessario un trattamento ad un tempo ed una temperatura definita per ottenere la struttura desiderata. I reagenti utilizzati sono stati $Ti[OCH(CH_3)_2]_4$, $(CH_3)_2CHOH$ e acqua, la reazione è stata con-

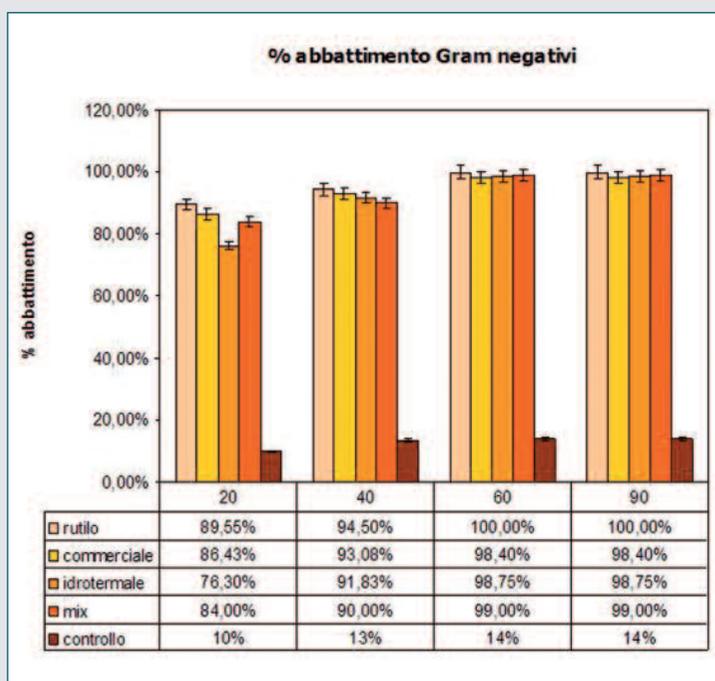


Fig. 2 - Percentuale di abbattimento microbico in funzione del tempo di esposizione alla luce. I dati per la serie a 20 minuti sono: rutile 89,55% dev. st. 0,18; commerciale 86,45% dev. st. 3,14; idrotermale 76,3% dev. st. 1; mix 85,5% dev. st. 2. I dati per la serie a 40 minuti sono: rutile 94% dev. st. 0,16; commerciale 93,8% dev. st. 1,17; idrotermale 91,8% dev. st. 1; mix 90% dev. st. 1. I dati per la serie a 60 e 90 minuti sono: rutile 100% dev. st. 0,1; commerciale 98,4% dev. st. 0,16, idrotermale 98,8% dev. st. 0,18; mix 99% dev. st. 1

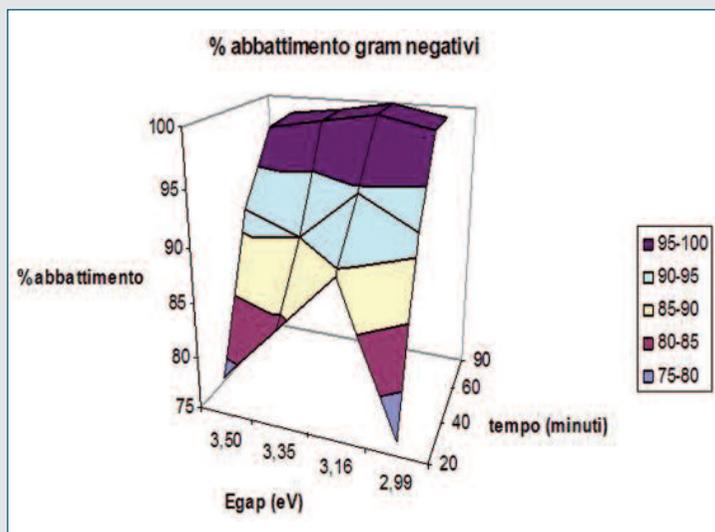


Fig. 3 - Grafico tridimensionale: percentuale di abbattimento in funzione di E_{gap} e del tempo

dotta a temperatura ambiente sotto agitazione costante per 4 ore. Il campione è stato calcinato in muffola a 700 °C per 1 ora al fine di ottenere nanoparticelle di rutile. Tutti i campioni utilizzati in questo lavoro sono stati caratterizzati mediante analisi XRD (diffrattometro a polvere Philips PW1830), SEM (Cambridge S360), TEM (Microscope JEOL JEM2010), RAF (JASCO V-570 UV-VIS-NIR). Le nanoparticelle di TiO₂ commerciale (Sigma Aldrich) hanno struttura cristallina anatasio, mor-

fologia sferica, dimensione media 17,8 nm calcolata mediante analisi TEM, area superficiale 120,46 m²/g. Dall'analisi di riflettività si ottiene che E_{gap} , ossia l'intervallo di energia proibito che gli elettroni presenti in banda di valenza devono superare per raggiungere la banda di conduzione, del campione è di 3,5 eV. Il campione idrotermale ha struttura cristallina anatasio, morfologia rods (Fig. 1), E_{gap} 2,98 eV, area superficiale 95,22 m²/g.

Il campione sol-gel ha struttura cristallina rutile, morfologia sferica, dimensione media di 19,6 nm, E_{gap} 3,2 eV. Il campione mix rutile-anatasio è stato preparato partendo dal campione commerciale in rapporto 1:1 con il rutile di sintesi. È stato utilizzato per questo studio il protocollo descritto da Caballero *et al.* [21]. Per gli esperimenti di fotocatalisi sono state preparate sospensioni di *Escherichia coli* e *Pseudomonas aeruginosa*, in una soluzione sterile di NaCl 0,9% in modo da ottenere una concentrazione finale di 20-30 CFU/ml. È stata quindi preparata una sospensione acquosa sterile di TiO₂ con concentrazione 0,01 g/l. Sono stati filtrati 50 ml della sospensione di TiO₂ su una membrana sterile di acetato di cellulosa 0,45 micron.

Sul filtro vengono trattenuti, come indicato da letteratura, 520 mg/m² di TiO₂ [21]. Successivamente, sulla stessa membrana, sono stati filtrati 5 ml della sospensione batterica. Il filtro è stato depositato all'interno di una piastra Petri sterile ed esposto ad una luce fluorescente (un neon commerciale 300-700 nm, Neon L36W/640 50Hz) ad una distanza di 15 cm per 20, 40, 60 e 90 minuti. Al termine di ogni tempo di esposizione (20, 40, 60, 90 minuti) i filtri sono stati posti su terreni di crescita microbica selettivi: MB agar per *Escherichia coli* e Mac Conkey agar per *Pseudomonas aeruginosa*. Le piastre sono state incubate a 37 °C per 24 ore, quindi è stata effettuata la conta batterica e l'analisi al SEM dei campioni. La percentuale di abbattimento batterico determinata dall'attività fotocatalitica del TiO₂ è stata calcolata utilizzando la seguente formula:

$$\% \text{ abbattimento} = -(N_{cc} - N_c) / N_c \times 100$$

N_{cc} = numero di colonie sul filtro contenente TiO₂ dopo l'esposizione al neon per un tempo X

N_c = numero di colonie sul filtro senza TiO₂ dopo l'esposizione al neon per un tempo X.

Come controllo è stata valutata anche l'attività antibatterica del TiO₂ al buio.

L'attività antibatterica delle nanoparticelle di TiO₂ dipende, come visto in precedenza, da E_{gap} e dall'area superficiale. Come è mostrato nelle Fig. 2 e 3, la più alta percentuale di abbattimento dei batteri Gram negativi si ottiene dopo un tempo di esposizione alla luce di 60 minuti indistintamente per i diversi tipi di ossido di titanio testati. Per tempi di trattamento più lunghi l'attività antibatterica resta costante.

Dopo 20 minuti di esposizione la minore percentuale di abbattimento si ottiene dai campioni trattati con anatasio commerciale e anatasio rod, seguita dal mix rutile+anatasio, mentre la più alta attività antibatterica è stata ottenuta con il rutile.

All'aumento del tempo di esposizione alla luce aumenta l'attività antibatterica di tutti i campioni, ma il rutilo è l'unico che raggiunge il 100% di abbattimento batterico dopo 60 minuti. La struttura cristallina influenza la percentuale di abbattimento modificando E_{gap} , mentre l'area superficiale, che dipende dalla morfologia, influenza l'attività fotocatalitica.

Il TiO_2 idrotermale presenta il valore minimo di E_{gap} ed è il campione maggiormente eccitabile con la luce al neon; nonostante ciò ha sempre una risposta inferiore al rutilo per tutti i tempi di esposizione. Per tempi di 20 minuti la risposta del campione idrotermale è paragonabile alla risposta dell'anatasio commerciale, che presenta un E_{gap} molto maggiore, ma l'area superficiale del campione sferico (120,46 m^2/g) è maggiore rispetto al TiO_2 rod (95,22 m^2/g). L'attività antibatterica quindi, per tempi brevi, è fortemente dipendente dall'area superficiale e da E_{gap} . Dopo la conta batterica i campioni ottenuti sono stati analizzati al SEM (Fig. 4). Il possibile meccanismo antibatterico che emerge dall'analisi al SEM eviden-

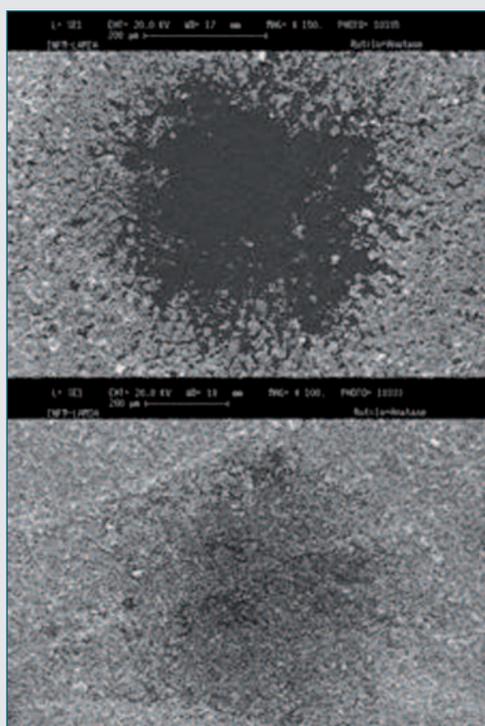


Fig. 4 - Immagini al Sem del campione mix dopo 20 minuti di esposizione alla radiazione fluorescente ad una distanza di 15 cm (alto) e dopo 60 minuti di trattamento nelle analoghe condizioni (basso)

zia che c'è un contatto diretto tra batteri e nanoparticelle di TiO_2 sulla superficie del filtro, quindi la probabilità di attacco da parte dei radicali OH^* alla cellula batterica in queste condizioni è favorita perché è elevata la superficie di contatto tra il fotocatalizzatore e il microorganismo. In conclusione la fotocatalisi mediante TiO_2 immobilizzato sotto la luce fluorescente è un metodo praticabile di disinfezione superficiale per batteri Gram negativi. Questo metodo di disinfezione rispetto ai metodi fisici e chimici tradizionali non presenta problemi di mutagenicità e risulta non pericoloso per l'operatore. La struttura influenza l'azione antibatterica, infatti il rutilo ha un'attività antimicrobica maggiore rispetto all'anatasio. La morfologia rods, a parità di struttura, è più influenzata dal tempo di esposizione: per trattamenti brevi ha un'azione antibatterica peggiore della morfologia sferica mentre ha un'efficienza migliore per tempi di esposizione lunghi. In generale per tempi di esposizione lunghi l'influenza della struttura e della morfologia è meno rilevante.

Bibliografia

- [1] A. Fujishima, K. Honda, *Nature*, 1972, **238**, 37.
- [2] A. Fujishima *et al.*, *J. Photoch. Photobiol. C*, 2000, **1**, 1.
- [3] A. Fujishima *et al.*, BKC Inc. Tokio, JP, p. 1241999.
- [4] M.R. Hoffman *et al.*, *Chem. Rev.*, 1995, **95**, 69.
- [5] M.A. Fox, M.T. Dulay, *Chem. Rev.*, 1993, **93**, 341.
- [6] J.A. Gamboa, D.M. Pasquevich, *J. Am. Ceram. Soc.*, 1992, **75**, 2934.
- [7] F. Matteucci *et al.*, *Ceram. Int.*, 2006, **32**, 385.
- [8] A. Fujishima *et al.*, *Surf. Sci. Rep.*, 2008, **63**, 515.
- [9] K.M. Reddy *et al.*, *Mater. Chem. Phys.*, 2002, **78**, 239.
- [6] K.N.P. Kumar, *Scripta Metall. Mater.*, 1995, **32**, 873.
- [7] P.I. Gouma, M.J. Mills, *J. Am. Ceram. Soc.*, 2001, **84**, 619.
- [8] X.-Z. Ding *et al.*, *J. Mater. Sci. Lett.*, 1996, **15**, 1789.
- [9] A.A. Gribb, J.F. Banfield, *Am. Mineral.*, 1997, **82**, 717.
- [10] J.F. Banfield, D.R. Veblen, *Am. Mineral.*, 1992, **77**, 545.
- [11] K. Tanaka *et al.*, *Chem. Phys. Lett.*, 1991, **187**, 73.
- [12] A. Sclafani, J.-M. Herrmann, *J. Phys. Chem.-US*, 1996, **100**, 13655.
- [13] I. Sopyan *et al.*, *Chem. Lett.*, 1996, **25**, 69.
- [14] R.R. Bacsza, J. Kiwi, *Appl. Catal. B-Environ.*, 1998, **16**, 19.
- [15] S. Yang, L. Gao, *J. Am. Ceram. Soc.*, 2006, **89**, 720.
- [16] T. Matsunaga *et al.*, *Appl. Env. Microbiol.*, 1988, **54**(6), 1330.
- [17] G. Fu *et al.*, *J. Phys. Chem. B*, 2005, **109**, 8889.
- [18] W. Su *et al.*, *J. Hazard. Mat.*, 2009, **172**, 716.
- [19] L. Armelao *et al.*, *Nanotec.*, 2007, **18**, 375709.
- [20] L. Caballero *et al.*, *Dyes and Pigments*, 2010, **86**, 56.
- [21] L. Caballero *et al.*, *J. Photoch. Photobiol. A: Chemistry*, 2009, **202**, 92.
- [22] X. Feng, M.Z.Hu, *Nalwa H.S. Ed.*, 1998, **1**, 687.
- [23] C. Kaya *et al.*, *Micro. Meso. Mat.*, 2002, **54**, 37.

ABSTRACT

Study of the Photo-Catalytic Activity of TiO_2 Nanoparticles on Gram Negative Bacteria

In this paper the anti-bacterial activity of TiO_2 nanoparticles with different structure, dimension and morphology, on Gram negative bacteria is discussed. Bacterial suspensions are filtered on membrane with 520 mg/m^2 of TiO_2 and then irradiated with neon lamp for different time. After incubation they are observed by SEM and the bacterial count was carried out. Results show that rutile has an higher anti-microbial activity than anatase and the rods morphology is more efficient than the spherical one.