

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL

Instituto de Química

Bacharelado em Química

O efeito da rota sol-gel na liberação controlada de cloroxilenol em matrizes de sílica

Bruno Diniz Rocha Pechina

2023

Bruno Diniz Rocha Pechina

O efeito da rota sol-gel na liberação controlada de cloroxilenol em matrizes de sílica

Trabalho de Conclusão de Curso como requisito parcial à obtenção do título de bacharel em Química do Instituto de Química da Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

Orientador: João Henrique Zimnoch dos Santos

Porto Alegre

2023

CIP - Catalogação na Publicação

Pechina, Bruno Diniz Rocha
O efeito da rota sol-gel na liberação controlada de
cloroxilenol em matrizes de sílica / Bruno Diniz Rocha
Pechina. -- 2023.
40 f.
Orientador: João Henrique Zimnoch dos Santos.

Trabalho de conclusão de curso (Graduação) --
Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Instituto
de Química, Bacharelado em Química, Porto Alegre,
BR-RS, 2023.

1. Materiais. 2. Sílica. 3. Sol-gel. 4.
Encapsulamento. 5. Liberação controlada. I. dos
Santos, João Henrique Zimnoch, orient. II. Título.

FOLHA DE APROVAÇÃO

Bruno Diniz Rocha Pechina

O efeito da rota sol-gel na liberação controlada de cloroxilenol em matrizes de sílica

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado como requisito parcial à obtenção do título de bacharel em Química do Instituto de Química da Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

Orientador: João Henrique Zimnoch dos Santos

Aprovada em: Porto Alegre, 28 de agosto de 2023.

BANCA EXAMINADORA:

Doutor João Henrique Zimnoch dos Santos
Universidade Federal do Rio Grande do Sul

Doutora Cristiane Pontes de Oliveira
Universidade Federal do Rio Grande do Sul

Doutor Rubens Bisatto
Dorf Ketal

DEDICATÓRIA

Aos meus pais, Célio e Adriana e aos meus
irmãos, Bibiana e Maurício.

AGRADECIMENTOS

Ao professor João Henrique, com seu espírito leve e comentários perspicazes, orientou de forma muito elegante todo o tempo que estive no K112. Sempre será grande inspiração para minha formação como pesquisador.

À Matheus Cichero e Alan dos Santos, grandes amigos que tive o privilégio de trabalhar lado a lado. Esse trabalho contou com o apoio de vocês, orientadores não oficiais.

A todos colegas do K112, a conexão e amizade de todos criou um sistema singular que faz o laboratório ser um local tão especial e único de se trabalhar.

Aos amigos do K127, com quem dividi os momentos de descanso. A pesquisa não acontece só no laboratório, não são apenas os reagentes que fazem as coisas acontecerem.

Aos pesquisadores da Dorf Ketal, em especial ao Cristiano e a Gabriela, que contribuíram com os ensaios microbiológicos, parte essencial do trabalho.

Aos meus amigos que sempre estiveram comigo, me acompanharam desde o início e sempre me deram apoio.

À minha família, que construiu ao longo das gerações todas as condições para mim e meus irmãos alcançarmos o ensino superior de qualidade que uma universidade federal oferece.

São sempre as pessoas que nos cercam que fazem valer a pena se dedicar à pesquisa. A todos aqui mencionados, e a muitas outras pessoas, muito obrigado.

EPIGRAFE

“Preocupado com uma única folha, você não verá a árvore. Preocupado com uma única árvore você não perceberá toda a floresta.”

Takuan Soho

RESUMO

O uso indiscriminado de biocidas pode ser prejudicial para o meio-ambiente e para a saúde humana. Portanto, o uso de estratégias de liberação controlada pode ser mais efetivo na inibição do crescimento de microrganismos. O processo sol-gel é uma das alternativas, sendo bem descrito na literatura o seu uso para o encapsulamento de uma variedade de moléculas. Neste trabalho exploraram-se diferentes rotas sol-gel e seu efeito no encapsulamento de cloroxilenol (PCMX). Em um primeiro momento estudaram-se diferentes rotas no processo sol-gel, sendo elas, Ácida, Básica, *Two-steps* e Fluoreto. Na etapa seguinte, a rota ácida foi utilizada em conjunto com híbridos organosilanos. Três organosilanos ((3-aminopropil)-trietóxi-silano, trimetóxi-octasilano e trimetóxi-fenilsilano) foram escolhidos para esse trabalho devido aos seus grupos funcionais. Diversas técnicas foram utilizadas para caracterizar os sistemas produzidos, sendo elas, porosimetria de nitrogênio, DLS, potencial Zeta, IV-ATR, UV-Vis e ensaios microbiológicos. Observou-se que o encapsulamento foi efetivo e que a liberação ocorre mais rapidamente quanto maior o volume de poro das matrizes de sílica. As matrizes apresentaram estruturas mesoporosas e microporosas. Os sistemas mantiveram atividade antimicrobiana assim como o PCMX livre, exceto para os sistemas que utilizaram catalisadores básicos na sua síntese.

Palavras-chave: Liberação controlada; Sílica; Sol-gel; Encapsulamento; Cloroxilenol.

ABSTRACT

The indiscriminate use of biocides may be harmful to the environment and to human health. Therefore, strategies that rely on controlled release have the potential for a more effective inhibition on the microorganisms' growth. Sol-gel process is one of the alternatives since is well described in the literature for the encapsulation of a variety of molecules. In this work different sol-gel routes and their effects in the encapsulation of Chloroxylenol (PCMX) were investigated. Initially, the role of different sol-gel routes were studied, namely: Acid, basic, two-steps and fluoride catalysts. In the following step, the acid route was chosen for the synthesis with organosilane hybrids, which were (3-aminopropyl)triethoxysilane, trimethoxy(octyl)silane and phenyltrimethoxysilane due to their functional groups. A range of techniques was employed for characterization of the produced systems, which included nitrogen porosimetry, DLS, Zeta potential, IR-ATR, UV-Vis and microbiological assays. It was observed that the encapsulation was effective and the release happened faster as the pore volume increased in the silica matrices. The matrices showed mesoporous and microporous structures. The systems kept antimicrobial activity as it was for PCMX except for systems which employed basic catalysts in their synthesis.

Keywords: Controlled release; Silica; Sol-gel; Encapsulation; Chloroxylenol.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 – Características estruturais de géis de sílica	14
Figura 2 – Tipos de isotermas	20
Figura 3 – Tipos de histereses	21
Figura 4 – Isotermas das amostras controle: (a) AC (b) BC (c) TSC (d) FC	22
Figura 5 – Espectro de Infravermelho no modo transmitância do PCMX	24
Figura 6 – Espectros de Infravermelho das quatro rotas, amostras controles e as respectivas amostras encapsuladas: AC/AE, BC/BE, TSC/TSE e FC/FE	25
Figura 7 – Espectro de Infravermelho no modo ATR do PCMX	26
Figura 8 – Espectros de Infravermelho no modo ATR das quatro rotas, amostras controles e as respectivas amostras encapsuladas: AC/AE, BC/BE, TSC/TSE e FC/FE	27
Figura 9 – Placas inoculadas com a suspensão das matrizes da Etapa 1	28
Figura 10 – Teste de liberação das matrizes não-funcionalizadas	31
Figura 11 – Ajuste linear das matrizes não-funcionalizadas nas primeiras horas de liberação	32
Figura 12 – Teste de liberação das matrizes funcionalizadas	33
Figura 13 – Isotermas de adsorção das amostras controle: (a) AAPTES, (b) AC8 e (c) APh	34
Figura 14 – Espectros de Infravermelho no modo ATR das três rotas, amostras controles e as respectivas amostras encapsuladas: AAPTES C/AAPTES E, AC8 C/AC8 E e APh C/APh E	35
Figura 15 – Placas inoculadas com a suspensão das matrizes com organosilanos	36

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Áreas específicas e volume de poro das amostras controle	22
Tabela 2 – Tamanho de partícula e Potencial Zeta das amostras controle e encapsuladas	23
Tabela 3 – Valores de unidades formadoras de colônias por de cada suspensão....	29
Tabela 4 – Áreas específicas e volume total de poro das matrizes funcionalizadas .	34
Tabela 5 – Valores de unidades formadoras de colônias das suspensões contendo organosilanos	37

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	11
1.1 OBJETIVO GERAL	11
1.2 Objetivos específicos	12
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	12
3 METODOLOGIA	15
3.1 Reagentes	15
3.2 Etapa 1 – Estudo das rotas	16
3.2.1 Preparo de catalisadores	16
3.2.2 Rota ácida	16
3.2.3 Rota Básica	16
3.2.4 Rota <i>Two-steps</i>	17
3.2.5 Rota Fluoreto	17
3.2.6 Secagem	17
3.3 Etapa 2 – Estudo das funcionalizações	17
3.4 Caracterização das amostras	18
4 ANÁLISE E DISCUSSÃO DOS RESULTADOS	19
4.1 Etapa 1 – Estudo das rotas	19
4.1.1 Porosimetria de nitrogênio	19
4.1.2 Tamanho de partícula e Potencial Zeta	23
4.1.3 Espectroscopia no Infravermelho – modo Transmitância	23
4.1.4 Espectroscopia no Infravermelho – modo ATR	25
4.1.5 Ensaio microbiológicos	27
4.2 Etapa 2 – Estudo das funcionalizações	30
4.2.1 Espectroscopia molecular UV-Vis	30
4.2.2 Porosimetria de nitrogênio	33
4.2.3 Espectroscopia no Infravermelho – modo ATR	35
4.2.4 Ensaio microbiológicos	36
5 CONSIDERAÇÕES FINAIS	37
REFERÊNCIAS	38

1 INTRODUÇÃO

Biocidas são compostos amplamente utilizados para o controle do crescimento de microrganismos, sendo que a maior parte do mercado utiliza compostos halogenados. Trata-se de compostos eficazes e com alto poder de desinfecção. As aplicações de biocidas contemplam diversos segmentos, tais como: produtos de limpeza, cosméticos, desinfetantes, produtos de higiene pessoal, detergentes, conservantes, inseticidas, antissépticos, fungicidas, herbicidas. Na indústria encontram aplicações na desinfecção de embalagens, desinfecção de superfícies, transporte de alimentos, tintas e revestimentos. Cerca de 25% do mercado mundial se concentra na aplicação em tintas e revestimentos. A difusão do uso desses compostos trouxe à tona preocupação com a saúde humana e o meio ambiente, já que o uso indevido de compostos com atividade antimicrobiana pode selecionar microrganismos resistentes, entre outros problemas.

Para reduzir os efeitos colaterais e prolongar os efeitos benéficos de tais produtos, técnicas de encapsulamento têm sido empregadas. Há diversas maneiras de realizar o encapsulamento, como por formação de micelas, *self-assembly* e sol-gel. E os materiais disponíveis mais comuns para o uso no encapsulamento são: alginato, polímeros e sílica. A sílica, produzida a partir do processo sol-gel tem sua química e diversas aplicações bem descritas na literatura.

A sílica pode ter suas características texturais alteradas de acordo com os catalisadores utilizados na sua síntese e funcionalizações promovidas por organosílica. Uma vez que características texturais são alteradas, a velocidade em que o biocida é liberado para o meio é prolongada ou reduzida. Portanto, a liberação controlada é uma estratégia que leva a um uso mais eficiente e seguro dos biocidas.

1.1 Objetivo geral

Investigar as potencialidades e limitações do uso de tecnologia sol-gel para o encapsulamento de cloroxilenol em sílica.

1.2 Objetivos específicos

Avaliar o papel da rota sol-gel na natureza das espécies encapsuladas geradas.

Correlacionar características texturais das matrizes de sílica com a liberação controlada do biocida.

Avaliar o efeito de compostos organosilanos na síntese das matrizes de sílica e na liberação de cloroxilenol.

Avaliar a capacidade de inibição do crescimento de microrganismos frente ao composto encapsulado.

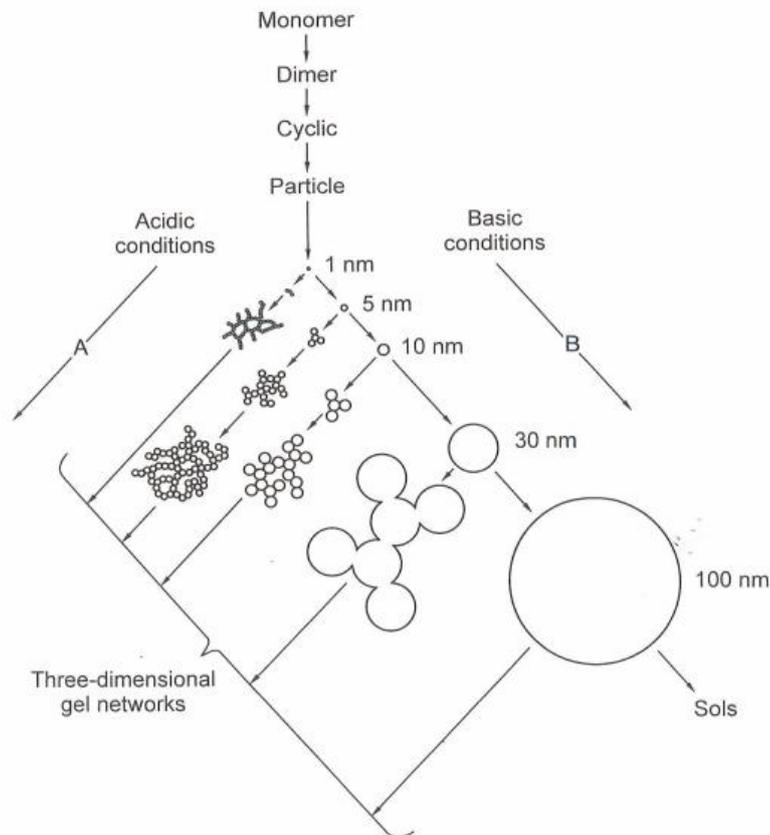
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

O processo sol-gel consiste em qualquer rota de síntese de materiais onde, em um determinado momento, ocorre a transição de um sistema sol para um sistema gel. O termo sol é empregado para definir uma suspensão de partículas coloidais (dimensão entre 1 e 1000 nm) estável em um fluido, enquanto um sistema gel pode ser visto como um sistema formado pela estrutura rígida de partículas coloidais (gel coloidal) ou de cadeias poliméricas (gel polimérico). Trata-se de processo de formação de redes por policondensação em duas etapas: inicialmente ocorre a formação de oligômeros, polímeros, estruturas cíclicas sob forma de coloides (sol), que subsequentemente sofrem reações de condensação e reticulação (gel) levando à formação do material final. Vários fatores influenciam as características estruturais, texturais e morfológicas do produto formado, dentre eles o tipo de processo (hidrolítico ou não-hidrolítico), a natureza do catalisador (ácido ou básico), temperatura, solvente, entre outros. O processo sol-gel encontra-se bem descrito e discutido na literatura em obras clássicas como aquelas de Brinker (1990), Schubert e Hüsing (2005), e Kickelbick (2007).

A formação da rede de sílica ocorre pelas reações de hidrólise e condensação. Isto é, através da (i) eliminação de um grupo -OH ou -OR na hidrólise, na forma de água ou álcool; e (ii) a formação de uma ligação Si-O-Si para a condensação. Ambas as reações são reversíveis e nas quais pode ocorrer a quebra das ligações do tipo siloxano como também a reversão para alcóxido. A velocidade com que cada reação ocorre varia com os catalisadores utilizados (ácido ou base),

já que atuam via mecanismos distintos. Partindo de uma condição de pH ácido, o átomo de oxigênio presente em Si-OH ou Si-OR é protonado gerando um bom grupo de saída: água ou álcool. Conseqüentemente, é diminuída a densidade de carga no átomo central de silício, o que favorece um ataque nucleofílico por parte da água do meio reacional (hidrólise) ou de outro grupo silanol (condensação). Já em pH básico, o mecanismo se inicia pelo ataque nucleofílico de uma espécie OH⁻ (hidrólise) ou SiO⁻ (condensação), ao átomo central de silício seguido da eliminação de -OH ou -OR, via uma reação do tipo S_{N2} (Schubert e Hüsing, 2005). Ainda há o mecanismo via fluoreto, que tem menor tempo de gelificação e produz um sólido mesoporoso e com alta área específica. O mecanismo é similar ao mecanismo da rota básica, porém o íon fluoreto é menor em raio e mais eletronegativo que a hidroxila. Dessa forma, a reação de hidrólise é mais rápida e promove maior eletrofilicidade no átomo de silício, o que o torna mais reativo (Winter *et al*, 1988). Na Figura 1 pode-se observar que o mecanismo ácido favorece tamanhos de partícula menores e uma rede polimérica conectada e ramificada. A etapa favorecida nessa rota é a hidrólise dos alcóxidos, produzindo vários pontos de nucleação ao mesmo tempo. Por outro lado, a rota básica favorece maiores tamanhos de partícula e menos ramificações. Isso ocorre porque a reação favorecida nesse caso é a condensação, o que leva ao crescimento a partir de um ponto de nucleação.

Figura 1 – Características estruturais de géis de sílica.



Fonte: Schubert e Hüsing, 2005.

A adição de substituintes orgânicos nos alcóxidos, do tipo $R'Si(OR)_3$ altera significativamente as propriedades das matrizes de sílica. Ligações R'-Si que são estáveis à hidrólise e permanece após a condensação na rede de sílica. Esses ligantes alteram a polaridade do material. Por exemplo, grupos funcionais de hidrocarbonetos produzem materiais hidrofóbicos. Outros fatores são afetados, como o número de ligações entre as unidades de sílica, que sofrem redução. A reatividade do alcóxido é também alterada devido ao efeito indutivo produzido pelas cadeias laterais, assim como por efeitos estéricos (Schubert, 2003).

Biocidas apresentam amplo uso nos setores industriais, de saúde e de uso pessoal, na forma de sabão, géis, produtos cosméticos entre outros. Cloroxilenol (PCMX) é um dos biocidas mais usados nas formulações de tais produtos, permitido por diversas agências reguladoras de saúde pelo mundo (Filipe *et al*, 2021). A forma pela qual o PCMX atua se dá pela mudança de conformação e cristalinidade da membrana celular, causando a morte ou afetando o crescimento das células (Poger

e Mark, 2019). Os biocidas que interagem com a membrana celular causam alteração nos perfis de energia de permeação e pressão lateral da membrana, e por consequência, na permeabilidade e conformação das proteínas (Cantor, 1998). Visto que a ação de tal composto é bastante eficaz na destruição de organismos nocivos à saúde humana, o seu uso indiscriminado pode causar efeitos colaterais indesejados. Há indícios que determinadas bactérias, especialmente gram-negativas, que possuem uma barreira externa, ou bactérias que produzam biofilme, têm maior capacidade de sobreviver a esses desinfetantes. Portanto, na presença de quantidades residuais, que não são suficientes para causar a morte das células, essas bactérias têm a capacidade de adquirir resistência aos biocidas, o que também pode se traduzir para uma resistência a antibióticos (White e McDermott, 2001).

Tendo em vista a versatilidade do processo sol-gel e das características estruturais da sílica, há uma variedade de aplicações para esse tipo de material. Uma aplicação muito comum utilizada na agricultura e na indústria é o encapsulamento de biocidas. Estes compostos que, quando aplicados na forma livre, podem ser tóxicos a outras espécies que não as de interesse. Na sua forma encapsulada tem a sua liberação controlada e maior estabilidade frente ao meio. Portanto, o presente trabalho explora diferentes rotas do processo sol-gel a fim criar um sistema com liberação controlada, dadas as características texturais de cada uma delas.

3 METODOLOGIA

O trabalho foi realizado em duas etapas. Na primeira etapa foram estudados os efeitos das quatro rotas no encapsulamento do PCMX. Já na segunda, uma das rotas foi selecionada, no caso a Ácida, para estudar o efeito das funcionalizações promovidas pelos organosilanos sobre o encapsulamento.

3.1 Reagentes

Os reagentes utilizados foram trietóxisilano (TEOS) 98%, Sigma-Aldrich, Etanol PA 95%, Química Moderna, ácido clorídrico 37%, Química Moderna, hidróxido de amônio 30 %, Anidrol, fluoreto de amônio, Merck, cloroxilenol (PCMX) fornecido

pela Dorf Ketal, (3-aminopropil)-trietóxi-silano 98% (APTES), Sigma-Aldrich, trimetóxi-octasilano (C8) e trimetóxi-fenilsilano (Ph), Dow Corning.

3.2 Etapa 1 – Estudo das rotas

Nessa etapa foram preparadas 8 amostras a partir das rotas Ácida, Básica, *Two-Steps* e Fluoreto. A fim de facilitar a identificação foram utilizadas as abreviaturas A, B, TS e F para as rotas mencionadas, respectivamente. Seguido de C, para os controles que não continham o biocida e E para as amostras com biocida encapsulado.

3.2.1 Preparo dos catalisadores

O catalisador ácido, HCl 0,2 M, foi preparado transferindo 1,70 mL de HCl 37% para um balão volumétrico de 100 mL. A solução foi avolumada com água deionizada. O catalisador básico, NH₄OH 0,2 M, foi preparado a partir de 1,14 mL de NH₄OH 30%, transferido para balão volumétrico de 100 mL e avolumado com água deionizada. O catalisador fluoreto foi preparado com 1,8520 g de NH₄F e 20,5000 g de NH₄OH 30%, dissolvidos em água e avolumado para 100 mL em balão volumétrico.

3.2.2 Rota Ácida

Em um Béquer foram adicionados 10 mL de TEOS, seguido de 5 mL de etanol e por fim 5 mL da solução de HCl 0,2 M. A mistura ficou sob agitação até completa gelificação. Na amostra contendo PCMX, este foi dissolvido primeiro em etanol antes de ser adicionado.

3.2.3 Rota Básica

O procedimento nesta rota foi idêntico à rota ácida exceto pelo catalisador utilizado. Neste caso NH₄OH 0,2 M ao invés de HCl 0,2 M.

3.2.4 Rota *Two-Steps*

Em um Béquer foram adicionados 10 mL de TEOS, seguido de 5 mL da solução de HCl 0,2 M, mantido por 30 min sob agitação, e por fim 5 mL da solução de NH₄OH 0,2 M. A mistura ficou sob agitação até completa gelificação. Na amostra contendo PCMX, este foi dissolvido em TEOS.

3.2.5 Rota Fluoreto

Nesta rota foram preparadas duas soluções, denominadas A e B. Na solução A foram pesadas 2,63 g de TEOS e 4,89 g de etanol. Já a solução B foi preparada com 4,89 g de etanol, 3,95 g de água e 0,2 g de catalisador fluoreto. Uma vez que as duas soluções estavam homogeneizadas, a solução B foi transferida para a solução A e mantida sob agitação até a gelificação. Na amostra contendo PCMX este foi adicionado à solução B antes da mistura das duas frações.

3.2.6 Secagem

Todas as oito amostras, quatro controles e quatro encapsulados, após gelificação, foram secas em estufa a 50 °C por 24 h.

3.3 Etapa 2 – Estudo das funcionalizações

Após a caracterização e análise dos resultados da primeira etapa, o preparo sofreu algumas alterações. As sínteses das quatro rotas se mantiveram as mesmas, porém, após a secagem as amostras foram lavadas com água e etanol, filtradas e secas em estufa novamente.

A adição de PCMX nessa segunda etapa se deu por impregnação: 1 g de sílica foi suspensa em 20 mL de etanol contendo 100 mg do biocida e após 1h foi colocado em estufa a 50 °C até completa evaporação do solvente.

Após caracterização das amostras impregnadas foi selecionada a rota ácida como a rota para se aplicar os agentes de funcionalização (organossilanos): a saber, (3-aminopropil)-triétoxissilano, trimetóxi-octasilano e trimetóxi-fenilsilano. Esses três modificadores foram adicionados na síntese junto com TEOS em uma proporção de

9:1 de TEOS:organosilano, a mesma proporção molar utilizada por Escobar (2016). As demais etapas de secagem, lavagem e impregnação foram idênticas às rotas sem modificadores.

Nessa etapa foram utilizadas abreviaturas com prefixo A, referente à rota Ácida utilizada. Seguido da funcionalização, APTES para o (3-aminopropil)-trietoxissilano, C8 para o trimetóxi-octasilano e Ph para o trimetóxi-fenilsilano. E com o sufixo C para os controles e E para as amostras encapsuladas.

3.4 Caracterização das amostras

A análise de adsorção de nitrogênio foi realizada em um equipamento modelo TriStar II 3020 da Micrometrics. As amostras foram tratadas a 150 °C sob vácuo por 16h. Para realizar as medidas tanto de tamanho de partícula quanto de potencial zeta foi utilizado um equipamento Zetasizer Nano ZS da Malvern. Para essa análise as amostras foram preparadas pesando-se 1 mg de amostra em Eppendorf seguida da adição de 2 mL de água ultrapura. Os Eppendorfs foram submetidos a 10 minutos em banho ultrassônico antes das medidas. As análises de espectroscopia no infravermelho foram realizadas no modo de refletância atenuada (ATR) em um equipamento Spectrum two. Realizaram-se 8 varreduras de 4000 a 450 cm^{-1} , com resolução de 4 cm^{-1} .

Os ensaios microbiológicos seguiram a metodologia de Ruiz-Rico *et al* (2017), com algumas alterações. Foi preparada uma solução estoque de 10% (m/v) das amostras em DMSO. Estas que foram submetidas por 2 min em banho ultrassônico. Das soluções-estoque foi retirado 1 μL e adicionado a 50 mL do meio. O inóculo, diferente do artigo, foi 1% v/v de pré-inóculo em água peptonada, 10^6 cel/mL (ATP). O pré-inóculo foi obtido a partir de uma amostra coletada na empresa Dorf Ketal, denominada “água branca”.

Os ensaios de liberação realizados na Etapa 2 utilizaram a técnica de espectroscopia no UV-Vis, em um equipamento da Varian, modelo Carry C100. A massa de amostra, solvente e tempos de amostragem foram adaptados a partir do procedimento proposto por Mardones *et al* (2022). Nessa abordagem, 10 mg das amostras encapsuladas foram suspensas em 10 mL de etanol em tubo Falcon de 15 mL. Foram preparados tubos Falcon com essa suspensão para cada tempo de amostragem, que foram, 1h, 2h, 3h, 6h, 12h, 1d, 2d, 3d e 4d. As amostras foram

filtradas em filtros de seringa de 0,45 μm de PTFE. As medições se deram no comprimento de onda de 280 nm e a curva analítica preparada com o padrão foi na faixa de 10 mg/L a 90 mg/L com 9 pontos. A equação da reta foi $y = 0,0102x - 0,0057$ e o $R^2 = 0,9999$. Quando necessário, as amostras foram diluídas cinco vezes a fim de manter a concentração em solução dentro dessa faixa.

4 ANÁLISE E DISCUSSÃO DOS RESULTADOS

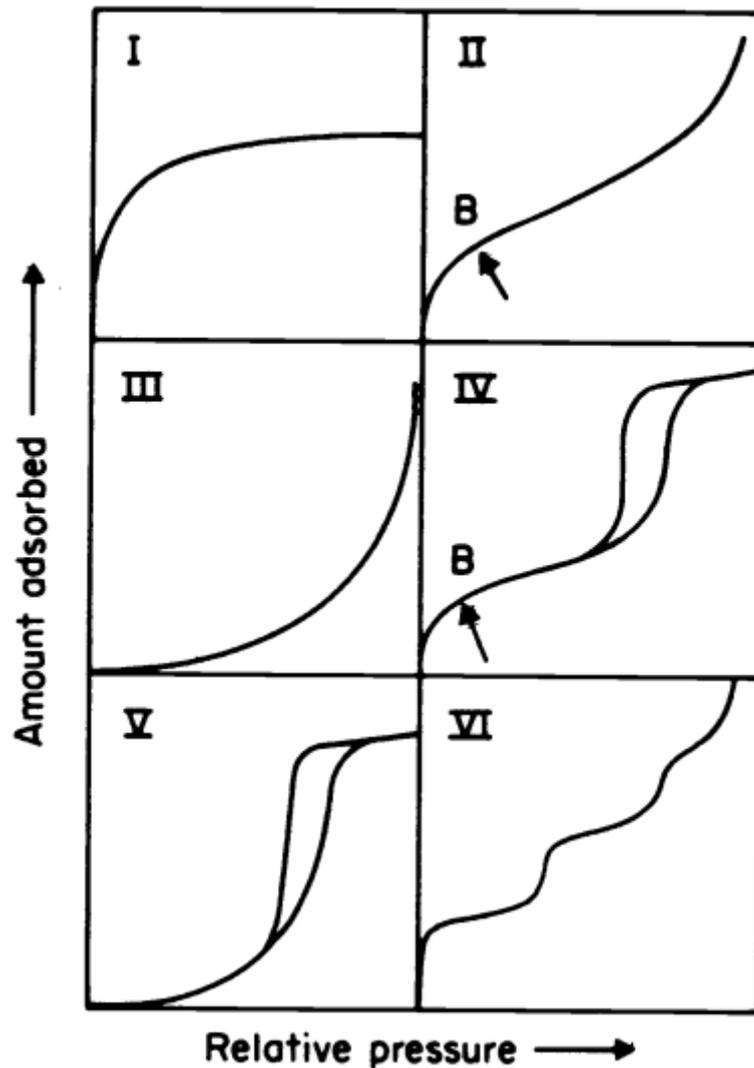
4.1 Etapa 1 – Estudo das rotas

O tempo de gelificação das rotas fluoreto, ácida, *Two-steps* e básica foram 10 min, 20h, 20h e 7 dias, respectivamente.

4.1.1 Porosimetria de nitrogênio

A partir da porosimetria de nitrogênio os materiais podem ser classificados de acordo com as isotermas que apresentam. Na Figura 2 são apresentados seis tipos de isotermas. A isoterma tipo I é característico de materiais microporosos. Tipo II é típico de materiais macroporosos ou não-porosos. Tipo III e V são incomuns, onde a interação entre adsorvente e adsorvato são fracas, diferindo no fato que a isoterma tipo V apresenta histerese. A isoterma tipo IV corresponde a materiais mesoporosos. Já a isoterma tipo VI é matérias não-porosos com adsorção multicamada.

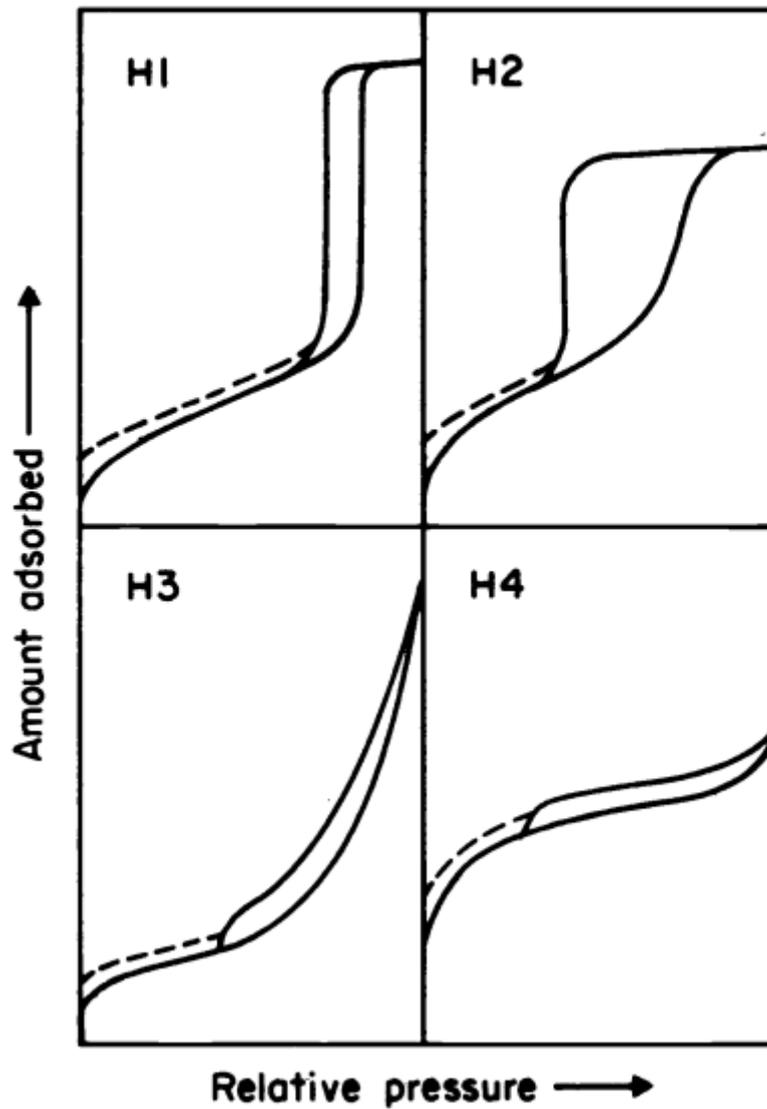
Figura 2 – Tipos de isotermas.



Fonte: Sing *et al*, 1985.

A Figura 3 apresenta os tipos de histereses que podem ser observadas nas isotermas. Elas aparecem de acordo com o formato de poro que o material apresenta. Uma histeres H1 corresponde a aglomerados que formam poros com uma distribuição uniforme de tamanho. H2 é característico de materiais com poros no formato *bottleneck*, ou seja, interior de poro largo e saída estreita. H3 aparece em materiais com poros em formato de fendas. Já H4 são poros de fendas finas.

Figura 3 – Tipos de histereses.



Fonte: Sing *et al*, 1985.

Na Tabela 1 são apresentados os valores de área específica calculados pelo método BET e o volume de poro, calculados pelo método BJH. As amostras com maior área específica foram *Ácida* e *Two-Steps*, porém seus volumes de poro foram inferiores àqueles observados para as rotas que utilizaram catálise *Básica* e *Fluoreto*.

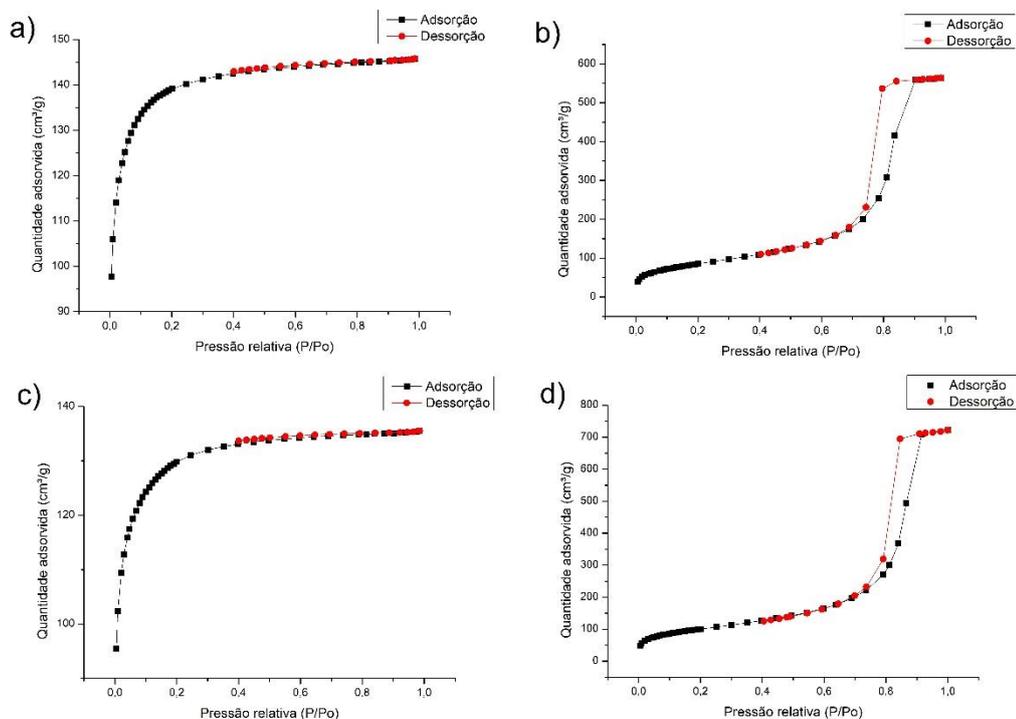
Tabela 1 – Áreas específicas e volume de poro das amostras controle.

Amostra	Área Específica (m ² /g)	Volume total de poro (cm ³ /g)
AC	495	0,23
BC	305	0,87
TSC	460	0,21
FC	358	1,11

Fonte: autoria própria.

Essas tendências podem ser observadas nas isotermas apresentadas na Figura 4: as isotermas (a) e (c), referentes às rotas Ácida (AC) e *Two-Steps* (TSC), de acordo com as definições da IUPAC, são do tipo I: materiais microporosos. Já as isotermas (b) e (d), rotas Básica (BC) e Fluoreto (FC), são do tipo V: materiais mesoporosos. Cabe ressaltar que para essas duas isotermas têm-se histereses do tipo H1, que de acordo com a IUPAC indicam poros formados por aglomerados de esferas uniformes ou poros cilíndricos bem definidos (Allothman, 2012).

Figura 4 – Isotermas das amostras controle: (a) AC (b) BC (c) TSC (d) FC.



Fonte: autoria própria.

4.1.2 Tamanho de partícula e Potencial Zeta

Os tamanhos de partícula observados na Tabela 2 tiveram grande variabilidade entre amostras controle e encapsuladas, não havendo uma correlação clara entre o tamanho de partícula obtido para a síntese utilizada em cada caso. Já as medidas de potencial zeta indicam um aumento na carga das partículas contendo cloroxilenol. Isso é bastante promissor, uma vez que a carga superficial das partículas indica a forma de potencial interação com a membrana celular de microorganismos, que por sua vez também têm a superfície carregada eletricamente (Maillard, 2021).

Tabela 2 – Tamanho de partícula e Potencial Zeta das amostras controle e encapsuladas.

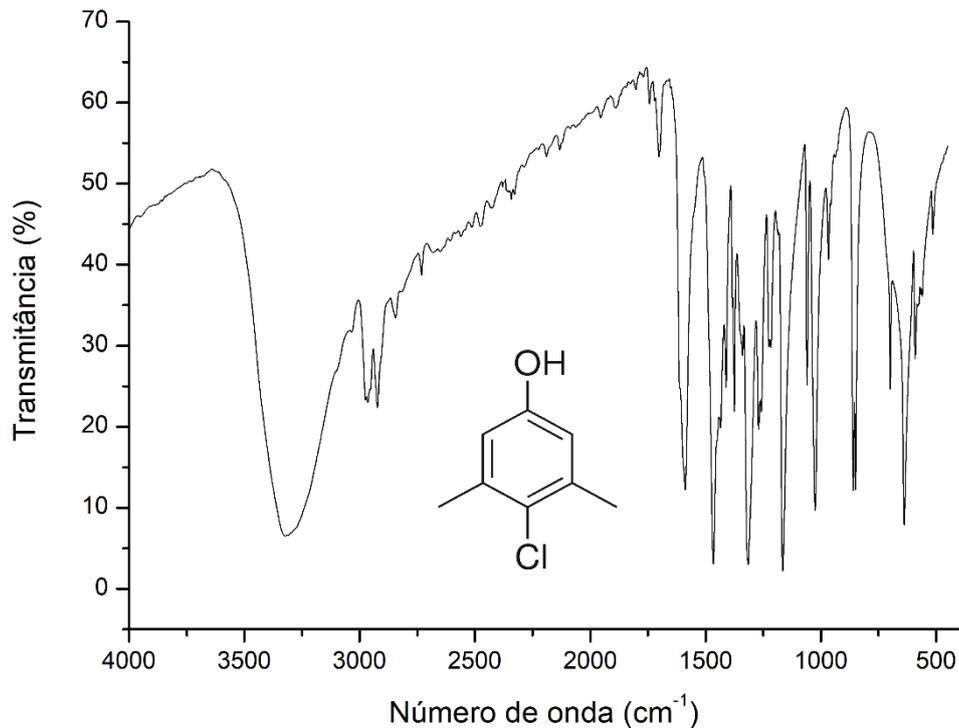
Amostras	Diâmetro de partícula (nm)	Potencial zeta (mV)
AC	930	-23,93
BC	4660	-0,04
TSC	884	-27,63
FC	724	-19,20
AE	1121	-30,27
BE	1051	-29,83
TSE	884	-35,40
FE	315	-18,00

Fonte: autoria própria.

4.1.3 Espectroscopia molecular no infravermelho – modo transmitância

A espectroscopia molecular no infravermelho no modo transmitância foi utilizado a fim de constatar se houve encapsulamento do PCMX dentro das matrizes de sílica. O espectro infravermelho do PCMX (Figura 5) caracteriza-se por um estiramento da hidroxila, banda larga centrada em 3300 cm^{-1} e estiramento C-H em 3000 cm^{-1} das metilas na posição meta do anel. O estiramento C-C dos carbonos aromáticos é visível em 1466 cm^{-1} . O dobramento O-H do fenol está presente por volta de 1310 cm^{-1} e o estiramento C-Cl em 638 cm^{-1} .

Figura 5 – Espectro de Infravermelho no modo transmitância do PCMX.

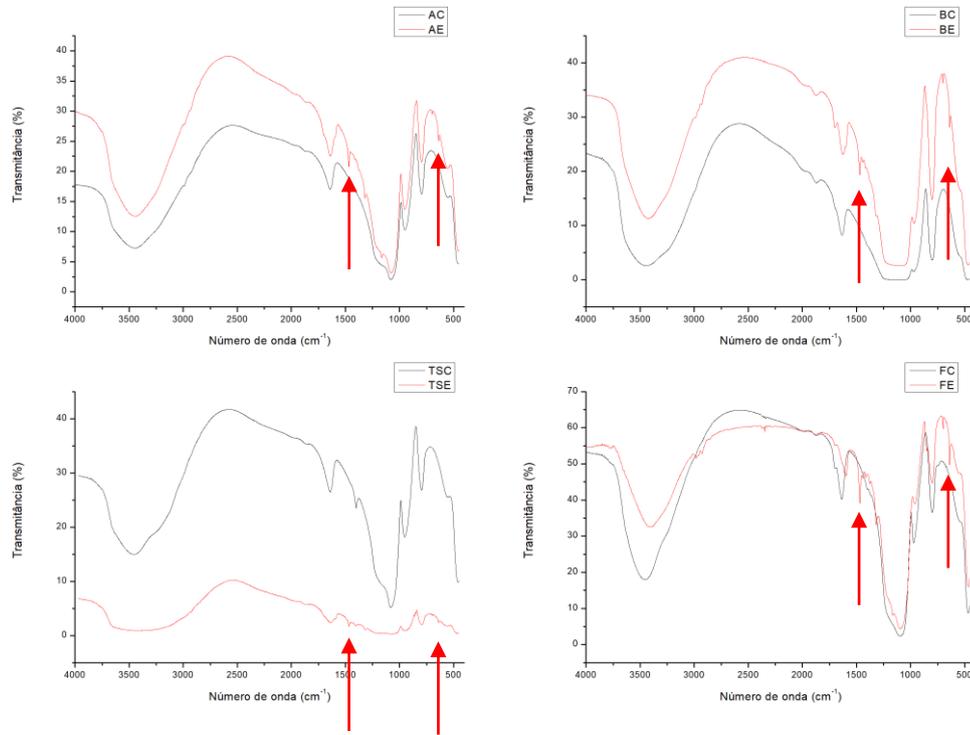


Fonte: autoria própria.

Os espectros das matrizes de sílica, produzida nas diferentes rotas, são apresentados na Figura 6. Observaram-se aí os picos característicos da sílica: estiramento O-H por volta de 3400 cm^{-1} e as bandas de estiramento assimétrico Si-O-Si em 1100 cm^{-1} , balanço em 780 cm^{-1} e dobramento em 460 cm^{-1} .

Na Figura 6 são ainda apresentados os espectros das amostras encapsuladas nas quatro rotas investigadas sobrepostas às suas respectivas amostras controle. Além dos picos característicos da sílica observaram-se picos provenientes da adição de PCMX: estiramento C-C aromático centrado em 1466 cm^{-1} e o estiramento C-Cl em 638 cm^{-1} . Não houve um deslocamento maior que 4 cm^{-1} , resolução empregada na medida, dos picos nas amostras encapsuladas em relação ao espectro de PCMX livre. A interação entre a matriz e a molécula se deu de forma que não interferiu nos modos vibracionais do biocida.

Figura 6 – Espectros de Infravermelho das quatro rotas, amostras controles e as respectivas amostras encapsuladas: AC/AE, BC/BE, TSC/TSE e FC/FE.

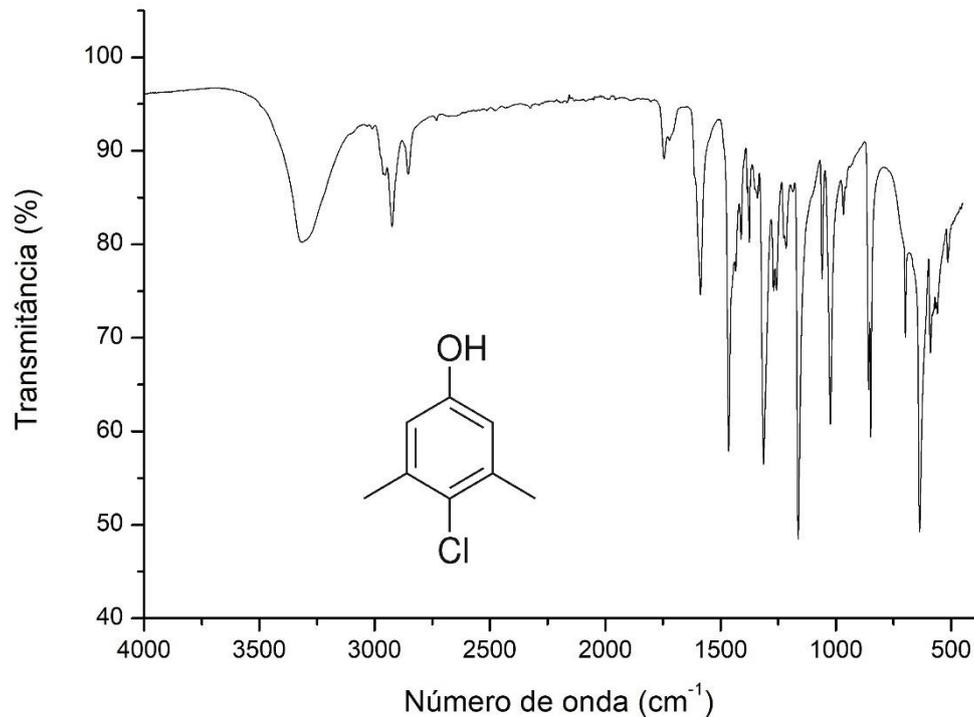


Fonte: autoria própria.

4.1.4 Espectroscopia molecular no infravermelho – modo ATR

As amostras foram comparativamente analisadas por espectroscopia no infravermelho em modo de refletância total. A comparação dos espectros obtidos entre o modo de transmitância e de refletância permite comparar a distribuição do biocida no interior da partícula, na superfície da partícula ou distribuído uniformemente na amostra. Na Figura 7 é apresentado o espectro do PCMX no modo ATR. Os principais picos se encontram nas mesmas posições, estiramento O-H em 3300 cm^{-1} , estiramento C-H em 3000 cm^{-1} , estiramento C-C aromático em 1466 cm^{-1} , estiramento O-H do fenol em 1310 cm^{-1} , estiramento C-Cl em 638 cm^{-1} .

Figura 7 – Espectro de Infravermelho no modo ATR do PCMX.



Fonte: autoria própria.

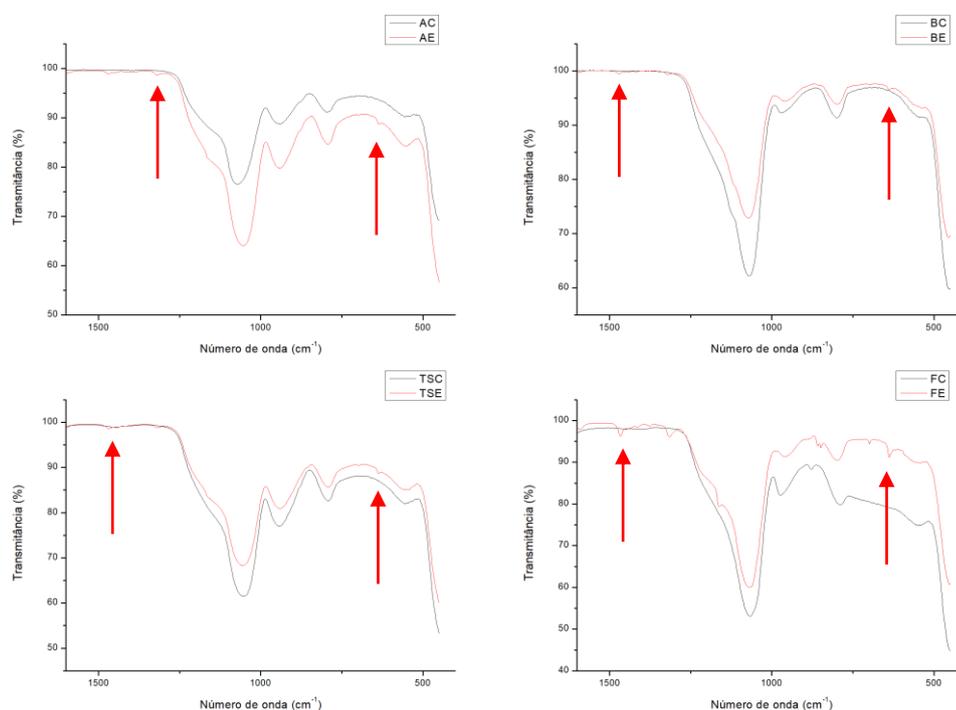
Nos espectros das amostras foi realizado um recorte em 1600 cm^{-1} , já que não houve picos com uma intensidade significativa e para se ter uma melhor visualização dos picos abaixo desse valor. Nos espectros de infravermelho dos controles (Figura 6) apresentam algumas bandas características. As bandas, já mencionadas, em 1100 , 780 e 460 cm^{-1} , referente à ligação Si-O-Si nos modos vibracionais de estiramento, balanço e dobramento, respectivamente.

Já para as amostras encapsuladas (Figura 8) é possível observar o aparecimento de novos picos. Esses picos são oriundos da adição do cloroxilenol na síntese. Sendo notável perceber o estiramento C-C nas bandas em 1466 cm^{-1} , da ligação C-Cl em 638 cm^{-1} .

Foi avaliado de forma semi-quantitativa a proporção de PCMX na superfície. Para tal fim, calculou-se a razão entre as áreas dos picos do estiramento C-C (1466 cm^{-1}) e estiramento C-Cl (638 cm^{-1}) em relação a um padrão interno. Nesse caso foi utilizado o estiramento Si-O-Si (1100 cm^{-1}) como padrão interno. As razões de $1466\text{ cm}^{-1}/1100\text{ cm}^{-1}$ e $638\text{ cm}^{-1}/1100\text{ cm}^{-1}$, para as quatro rotas foram, respectivamente:

4/1000 e 6/1000 para AE, 4/1000 e 3/1000 para BE, 5/1000 e 5/1000 para TSC e 1,6/100 e 1,4/100 para FE. A partir dessas razões se observou que a rota Fluoreto (F) concentra mais moléculas na superfície. O que pode ser relacionado à liberação mais rápida, observada na Etapa 2, que essa rota tem em relação às outras.

Figura 8 – Espectros de Infravermelho no modo ATR das quatro rotas, amostras controles e as respectivas amostras encapsuladas: AC/AE, BC/BE, TSC/TSE e FC/FE.



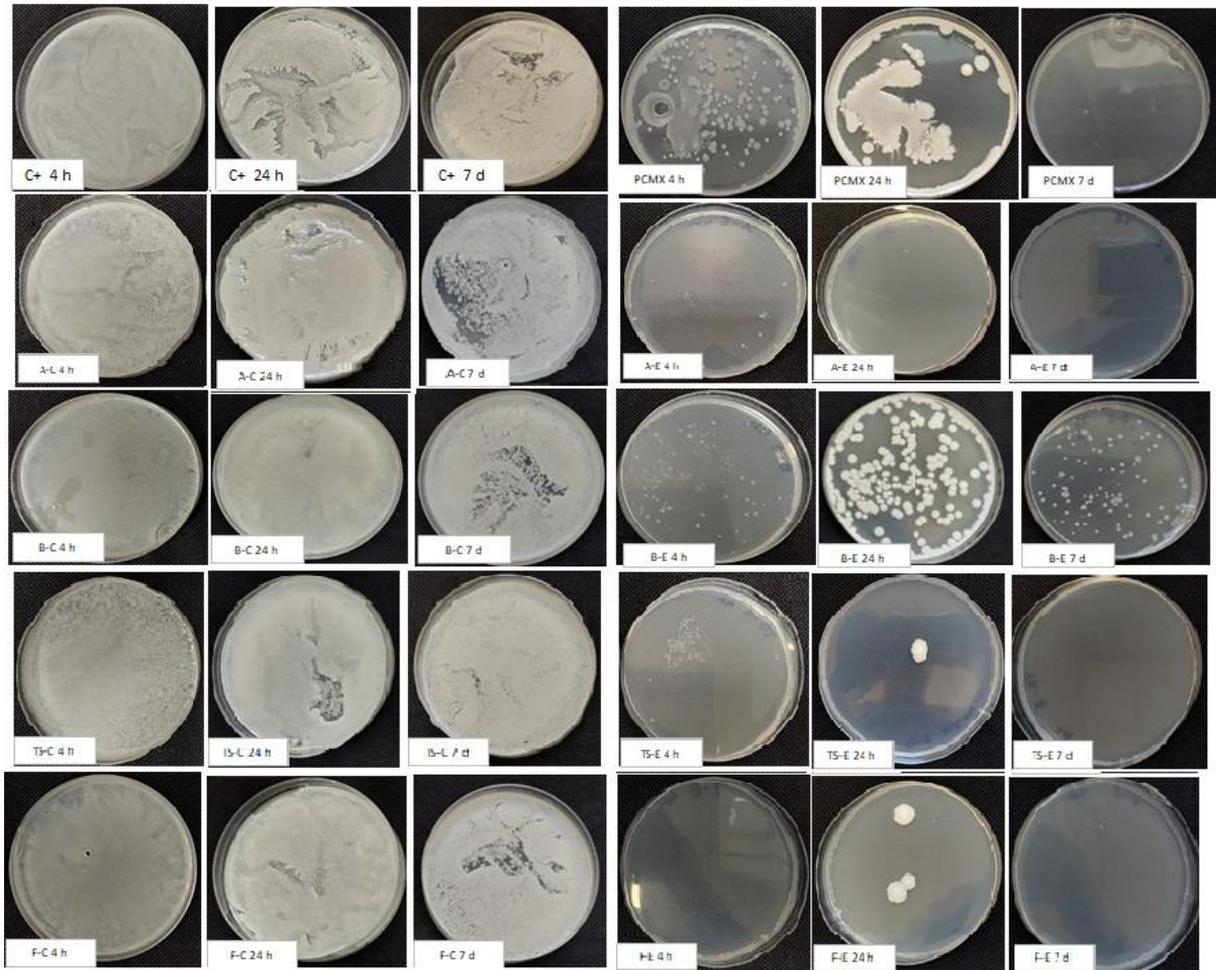
Fonte: autoria própria.

4.1.5 Ensaios microbiológicos

Por fim, a avaliação por uma semana da atividade antimicrobiana pode ser observada na Figura 9, que apresenta as placas inoculadas para cada período de amostragem. As três colunas à esquerda são apresentadas o controle positivo e as amostras controle, sem biocida. Nessas placas é nítida a presença de colônias que cobrem completamente as placas. Já nas três colunas à direita são apresentados os resultados referentes ao PCMX livre e às amostras encapsuladas. Há presença de

microrganismos em todas as amostragens da rota Básica, 4h e 24h do PCMX livre e 24 h para a rota *Two-steps* e para rota Fluoreto.

Figura 9 – Placas inoculadas com a suspensão das matrizes da Etapa 1.



Fonte: autoria própria.

Como complemento, a Tabela 3 traz os valores de unidades formadoras de colônias por volume. O controle positivo as matrizes controle apresentaram valores superiores a 10^3 UFC/mL em todos os tempos de amostragem, o que na figura anterior se observou como placas completamente cobertas. Os melhores resultados apresentados foram das rotas Ácida, *Two-Steps* e Fluoreto. Tiveram uma ação mais rápida em relação ao PCMX e que se mantiveram ao longo do tempo. Apenas a rota Básica não mostrou um desempenho satisfatório, com concentrações de 10^2 UFC/mL, potencialmente devido à interação entre o catalisador e a molécula de cloroxilenol.

Tabela 3 – Valores de unidades formadoras de colônias por de cada suspensão.

Tempo de contato	Amostra	Dosagem (mg/L)	UFC/mL
4h	Controle positivo	-	$\geq 10^3$
	PCMX livre		10^2
	AC		$\geq 10^3$
	BC		$\geq 10^3$
	TSC		$\geq 10^3$
	FC	200	$\geq 10^3$
	AE		10^1
	BE		10^2
	TSE		10^1
	FE		0
24 h	Controle positivo	-	$\geq 10^3$
	PCMX livre		10^2
	AC		$\geq 10^3$
	BC		$\geq 10^3$
	TSC		$\geq 10^3$
	FC	200	$\geq 10^3$
	AE		0
	BE		10^3
	TSE		10^1
	FE		10^1
7 d	Controle positivo	-	$\geq 10^3$
	PCMX livre		0
	AC		$\geq 10^3$
	BC		$\geq 10^3$
	TSC		$\geq 10^3$
	FC	200	$\geq 10^3$
	AE		0
	BE		10^2
	TSE		0
	FE		0

Fonte: autoria própria.

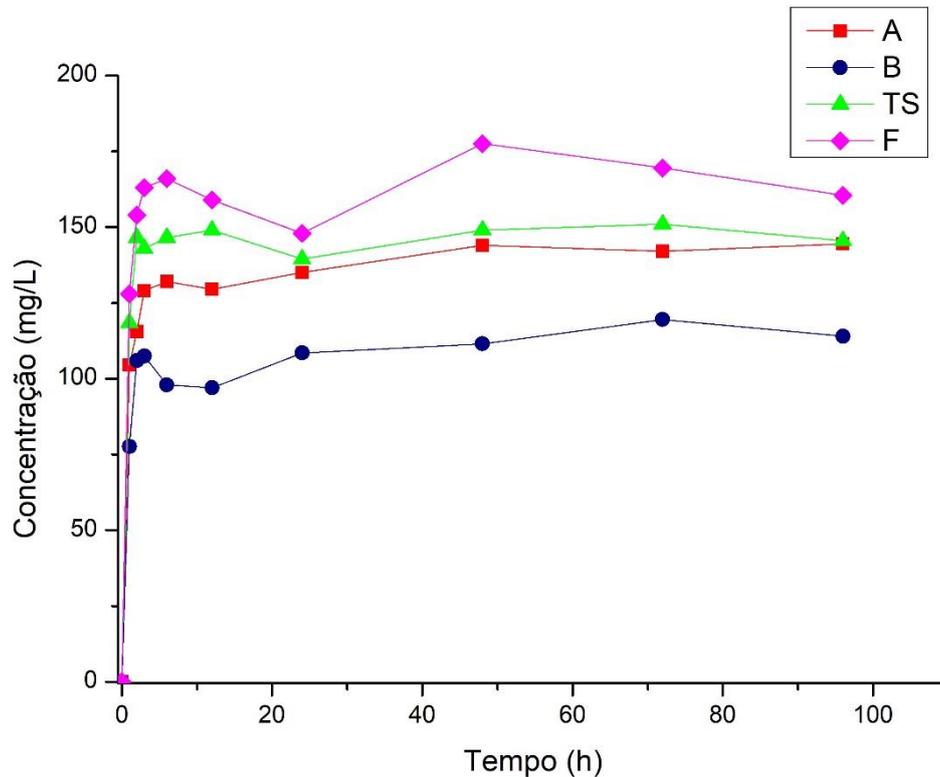
4.2 Etapa 2 – Estudo das funcionalizações da matriz

Após a primeira etapa concluída optou-se por realizar a lavagem das matrizes de sílica após a sua síntese, uma vez que a rota básica desativou o PCMX. Também foi alterada a forma de adição do biocida: ao invés de se dar no início da síntese realizou-se por impregnação, já que a razão de TEOS/PCMX não se mantém para sílica/PCMX, devido ao fato de cada rota resultar em uma massa de sílica diferente. Para as novas matrizes produzidas com trimetóxi-octasilano (AC8) e trimetóxi-fenilsilano (APh) levaram 24h para gelificar e a rota com (3-aminopropil)-trietoxissilano (AAPTES) levou 7 dias.

4.2.1 Espectroscopia molecular UV-Vis

Outro critério utilizado para aprimorar a rota sol-gel foi a liberação ao longo do tempo. Na Figura 10, é apresentada a liberação das quatro rotas ao longo do tempo. Foi observado que a rota básica teve pior desempenho, apresentando os menores valores de PCMX em solução, possivelmente desativando o biocida como foi observado nos testes microbiológicos da etapa anterior. Já a rota Fluoreto, apesar de apresentar maior liberação também foi a que atingiu o patamar de concentração mais rapidamente, portanto presume-se que a liberação completa ocorra ainda nas primeiras horas em contato com o solvente. As rotas Ácida e *Two-steps* tiveram comportamentos parecidos, diferindo apenas na liberação nas primeiras horas, onde a rota ácida é um pouco mais lenta.

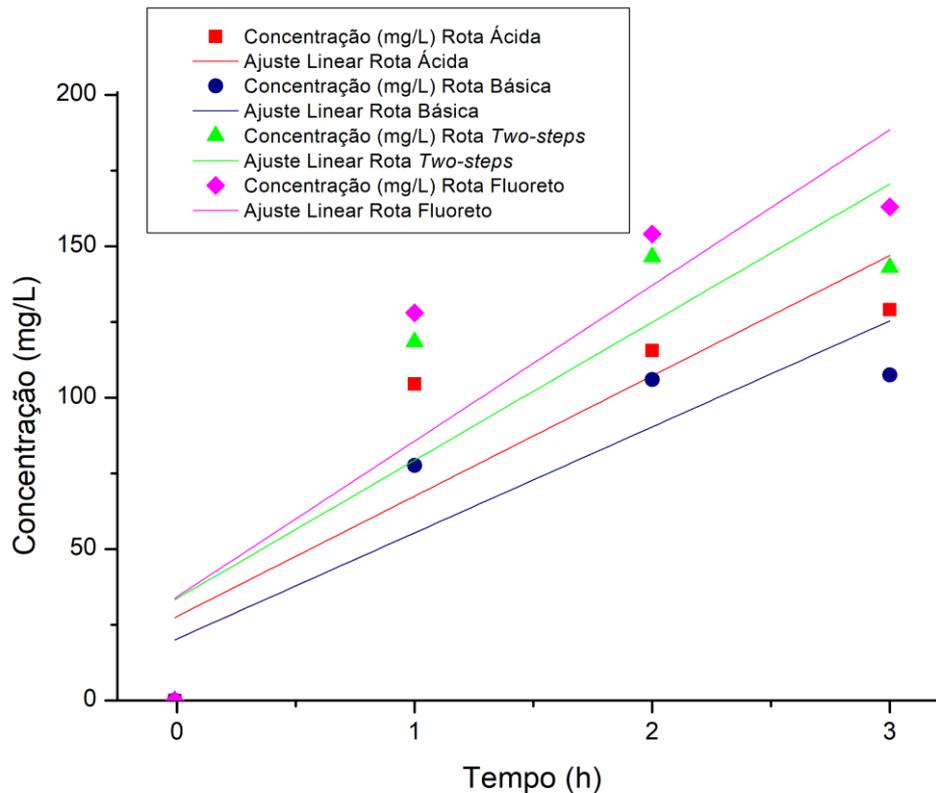
Figura 10 – Teste de liberação das matrizes não-funcionalizadas.



Fonte: autoria própria.

A partir das curvas de liberação foi construído um gráfico com os ajustes lineares das quatro rotas. Foram selecionados os pontos de 0 h a 3 h. A Figura 11 apresenta os quatro ajustes. As inclinações das retas foram de 40, 35, 46, 51 para as rotas Ácida, Básica, *Two-steps* e Fluoreto, respectivamente. Levando em consideração as inclinações, as mais baixas foram as rotas Básica e Ácida. Porém a rota Básica teve menores valores de concentração em solução ao atingir o patamar de concentração e na Etapa 1 foi a única ineficaz no controle do crescimento de microrganismos. Portanto, foi selecionada a rota Ácida para a adição de funcionalizações.

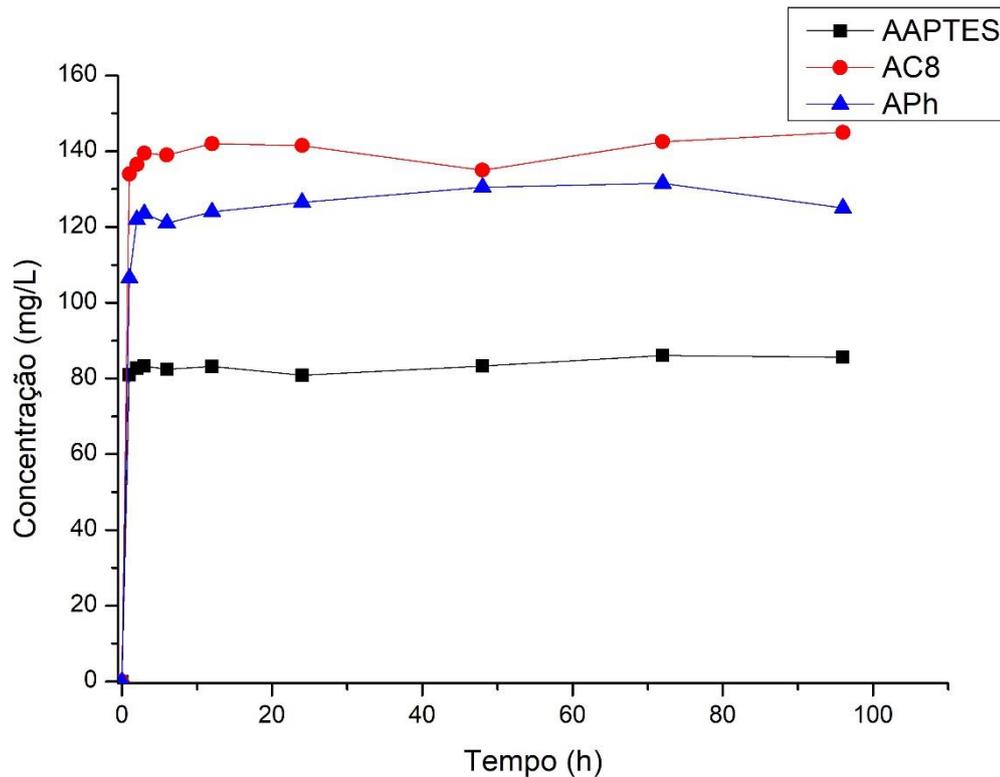
Figura 11 – Ajuste linear das matrizes não-funcionalizadas nas primeiras horas de liberação.



Fonte: autoria própria.

Na etapa seguinte, três agentes de funcionalização organossilanos foram utilizados: (3-aminopropil)-trietóxi-silano (APTES), trimetóxi-octasilano (C8) e trimetóxi-fenilsilano (Ph). Novamente, os testes de liberação em etanol foram realizados, apresentados na Figura 12. Observou-se para a rota contendo APTES menor liberação. O caráter básico da cadeia lateral pode ter desativado o biocida assim como a rota básica. Já os modificadores C8 e Ph, duas cadeias hidrofóbicas, uma alifática e a outra aromática, tiveram desempenhos similares. Dentre os três modificadores propostos, o C8 teve maior liberação ao longo do tempo. Porém, as três matrizes tiveram um comportamento semelhante, isto é, atingiram o patamar de concentração ainda nas primeiras horas.

Figura 12 – Teste de liberação das matrizes funcionalizadas.

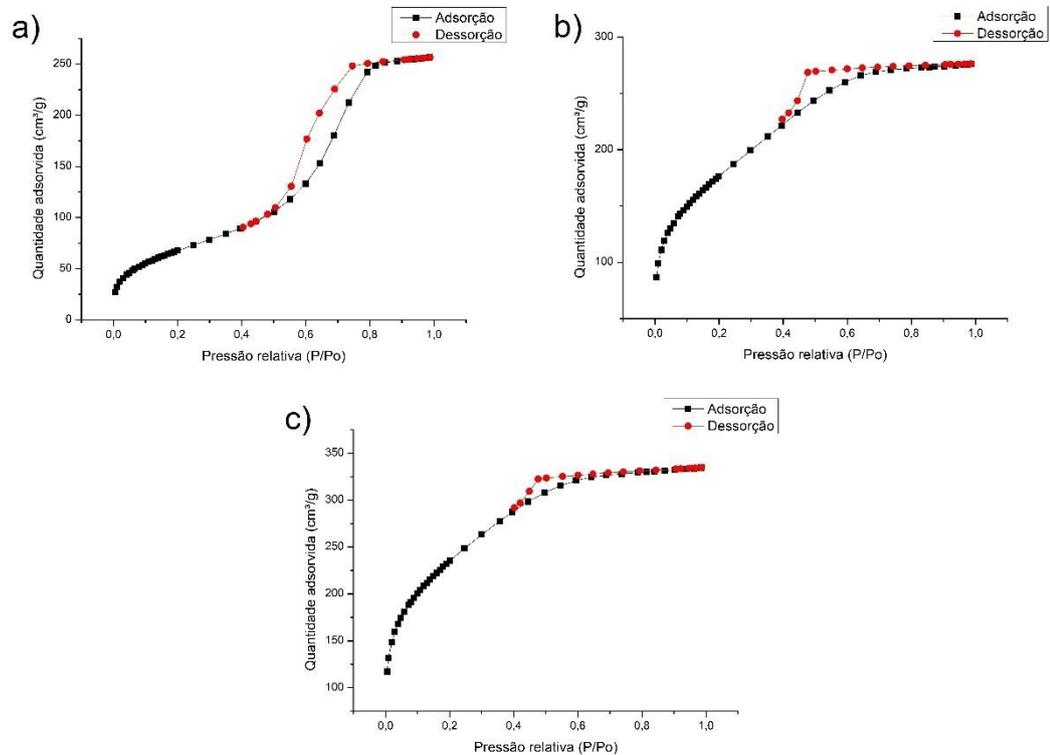


Fonte: autoria própria.

4.2.2 Porosimetria de nitrogênio

As isotermas obtidas pelo método BET (Figura 13) mostram um comportamento similar para as matrizes obtidas na etapa anterior do trabalho. Para a rota AAPTES há o comportamento de uma isoterma tipo IV, ou seja, um material mesoporoso. Possivelmente, o caráter básico da cadeia lateral predomine sobre o catalisador empregado na síntese. Já as rotas AC8 e APh apresentaram isotermas do tipo I, típico da rota ácida, características de materiais microporosos. A rota AAPTES ainda apresenta uma histerese do tipo H1, que indica um aglomerado de esferas de tamanhos uniformes, comum para uma rota básica, ou canais cilíndricos bem definidos. As outras duas rotas apresentam histereses do tipo H4, ou seja, poros no formato de fendas estreitas: cavidades geradas pela presença de cadeias laterais alifáticas e aromáticas na estrutura da sílica.

Figura 13 – Isotermas de adsorção das amostras controle: (a) AAPTES,(b) AC8 e (c) APh.



Fonte: autoria própria.

Por fim, a Tabela 4 traz um resumo das áreas específicas e volume de poro de cada uma das rotas contendo organosilanos, sendo a de menor área e volume de poro a AAPTES e a de maior a rota APh. Em conjunto com as Figuras 10 e 12, dos ensaios de liberação e a Tabela 1, os resultados sugerem que a liberação se dá mais rapidamente à medida que o volume de poro da matriz aumenta.

Tabela 4 – Áreas específicas e volume total de poro das matrizes funcionalizadas.

Amostra	Área específica (m ² /g)	Volume total de poro (cm ³ /g)
AAPTES	245	0,40
AC8	630	0,43
APh	840	0,52

Fonte: autoria própria.

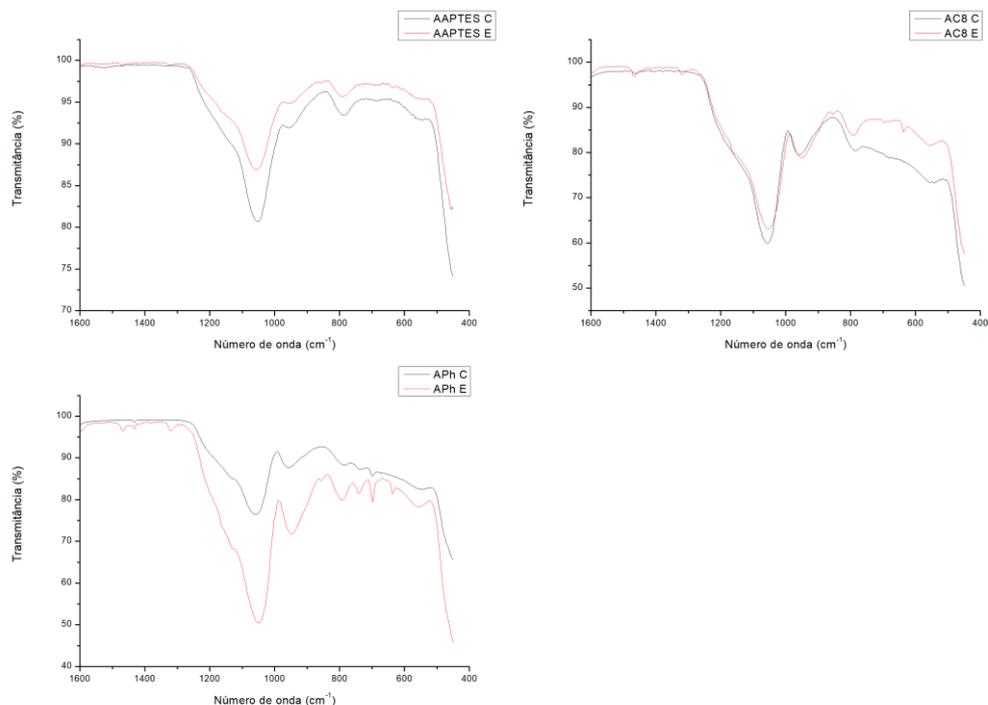
4.2.3 Espectroscopia molecular no Infravermelho – modo ATR

Assim como na etapa anterior as bandas de siloxano em 1100, 780 e 460 cm^{-1} , aparecem no espectro dos controles (Figura 14). Novamente foi realizado um recorte nos espectros acima de 1600 cm^{-1} , já que para os números de onda acima desse valor não houve aparecimento de picos relevantes.

Os picos do PCMX aparecem nas matrizes após o encapsulamento, para as amostras AC8 e APh (Figura 14). O estiramento C-C aromático em 1466 cm^{-1} e o estiramento C-Cl em 638 cm^{-1} .

A avaliação semi-quantitativa se deu nos mesmo picos da etapa anterior. Os valores de 1466 cm^{-1} /1100 cm^{-1} e 638 cm^{-1} foram, respectivamente: 6/1000 e 6/1000 para AAPTES e 1,7/100 e 1,7/100 para AC8 e APh. Como observado no teste de liberação, a declividade das curvas de AC8 e APh foram superiores a de AAPTES.

Figura 14 – Espectros de Infravermelho no modo ATR das três rotas, amostras controles e as respectivas amostras encapsuladas: AAPTES C/AAPTES E, AC8 C/AC8 E e APh C/APh E.

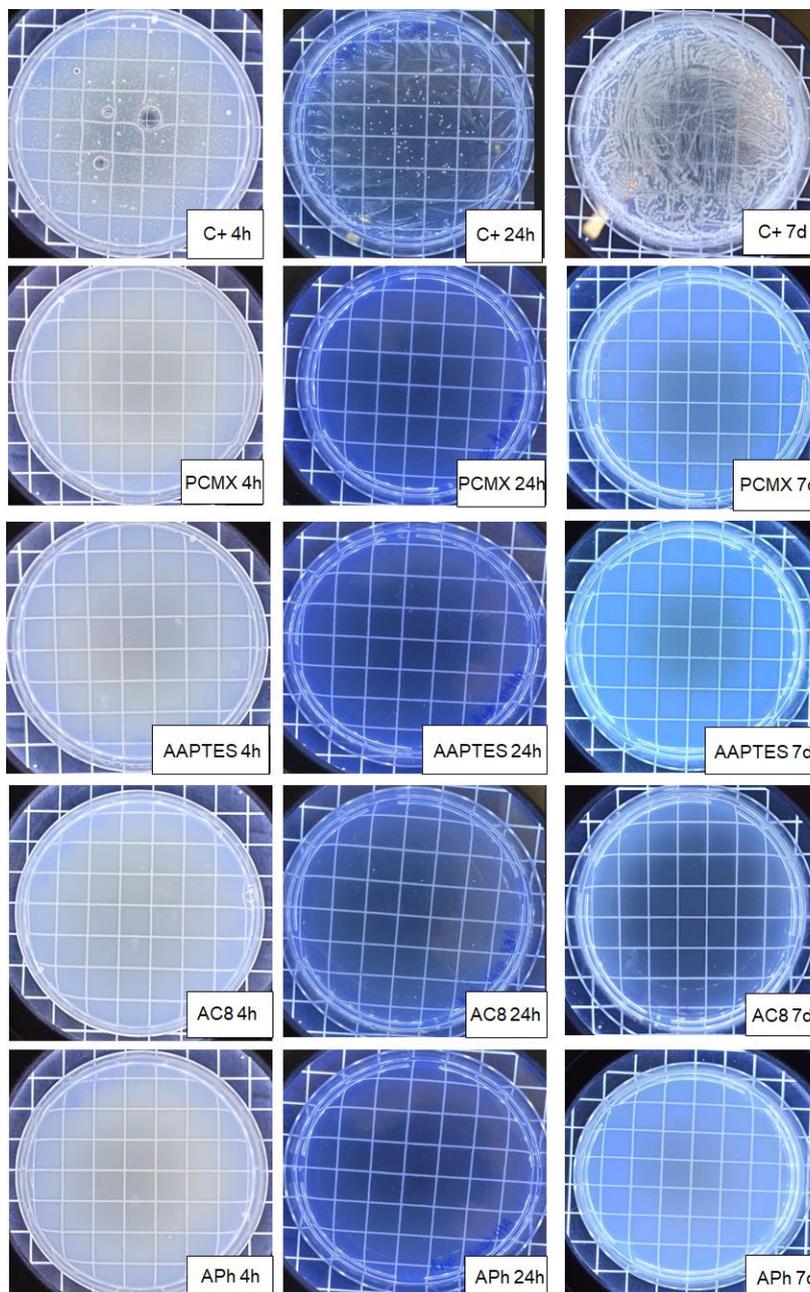


Fonte: autoria própria.

4.2.4 Ensaio microbiológicos

Por fim, a atividade antimicrobiana dos três novos sistemas foi testada como descrito anteriormente. Foi observada a inibição do crescimento de colônias em todos os tempos de amostragem, 4 h, 24 h e 7 d. Na Figura 15 podemos observar as placas inoculadas contendo a suspensão mais a cultura de bactérias. Não há crescimento visível de biofilme ou colônias para as amostras AAPTES, AC8, APh e PCMX.

Figura 15 – Placas inoculadas com a suspensão das matrizes com organosilanos.



Fonte: autoria própria.

A Tabela 5 mostra o número de unidades formadoras de colônias presentes em cada placa. Como observado na Figura 13, a tabela demonstra que não há detecção de colônias nas três rotas e no PCMX no período de 7 dias, apenas no controle positivo.

Tabela 5 – Valores de unidades formadoras de colônias das suspensões contendo organosilanos.

Tempo de contato	Amostra	Dosagem (mg/L)	UFC/mL
4 h	Controle Positivo	-	$\geq 10^3$
	PCMX livre		0
	AAPTES	100	0
	AC8		0
	APh		0
24 h	Controle Positivo	-	$\geq 10^3$
	PCMX livre		0
	AAPTES	100	0
	AC8		0
	APh		0
7 d	Controle Positivo	-	$\geq 10^3$
	PCMX livre		0
	AAPTES	100	0
	AC8		0
	APh		0

Fonte: autoria própria.

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

As caracterizações das matrizes de sílica revelam que os sólidos sintetizados via diferentes rotas sol-gel são materiais com grande área específica e com estruturas microporosas ou mesoporosas. Os espectros de infravermelho confirmam o encapsulamento efetivo das moléculas de cloroxilenol. A adição de organosilanos na síntese promoveu mudanças estruturais importantes que se traduziram nos resultados de liberação e atividade antimicrobiana. Foi observada a atividade na

ação antimicrobiana para três dos quatro sistemas na Etapa 1 e atividade para todos os sistemas propostos na Etapa 2. Apenas a rota básica, na Etapa 1, não foi eficaz para evitar o crescimento de colônias bacterianas.

Foi observado que a velocidade de liberação pode estar relacionada aos tamanhos de poro das matrizes de sílica e à abundância de espécies na superfície da matriz. Isso porque a liberação se deu mais rápida para os sistemas que apresentaram maiores volumes de poro e maior razão entre as áreas dos picos de infravermelho no modo ATR. O tamanho de partícula obtido por DLS na Etapa 1 não apresentou uma correlação clara com os demais resultados. Por isso optou-se na Etapa 2 não repetir essa caracterização. Os grupos funcionais introduzidos nas matrizes aparentemente não tiveram uma influência direta na liberação. Apenas uma influência indireta no controle de área específica e volume de poro das matrizes produzidas.

Os resultados, até aqui obtidos, sugerem que há ainda há espaço para melhorias nos sistemas propostos. A fim de evitar desativação do biocida, além da lavagem com água e etanol, realizada na segunda etapa do projeto, poderia ser realizada uma lavagem ácida a fim de evitar qualquer sítio básico na superfície da sílica. Os ensaios de atividade antimicrobiana também podem ser melhorados, testando dosagens menores e maiores tempos de exposição dos microrganismos aos sistemas encapsulados. Além disso, há uma variedade de organosilanos que contém outras cadeias laterais que podem alterar a afinidade com a molécula de interesse. Se adicionados na síntese podem alterar o tempo de liberação de biocidas, prolongando o efeito desejado.

REFERÊNCIAS

- ALEMÁN, J. V. *et al.* Definitions of terms relating to the structure and processing of sols, gels, networks, and inorganic-organic hybrid materials (IUPAC Recommendations 2007). **Pure and Applied Chemistry**, v. 79, n. 10, p. 1801-1829, 2007.
- ALOTHMAN, Z.A. A Review: Fundamental Aspects of Silicate Mesoporous Materials. **Materials**, v. 5, p. 2874-2902, 2012.
- ARZANI, F. A. DOS SANTOS, J. H. Z. Biocides and techniques for their encapsulation: a review. **Soft Matter**, v. 18, p. 5340-5358, 2022.

- BRINKER, C. J., SCHERER, G. W. **Sol-Gel Science** – The Physics and Chemistry of Sol-Gel Processing, Inc., San Diego: Academic Press, 1990.
- CANTOR, R. S. The lateral pressure profile in membranes: a physical mechanism of general anesthesia. **Toxicology Letters**, v. 100-101, p. 451-458, 1998.
- COLTHUP, N. B. DALY, L. H. WIBERLEY S. E. **Introduction to Infrared and Raman spectroscopy**. 3 ed. San Diego: Academic Press INC, 1990.
- DANKS A. E. HALL S. R. SCHNEPP Z. The evolution of 'sol-gel' chemistry as a technique for materials synthesis. **Materials Horizons**, v. 3, p. 91-112, 2016.
- DOS SANTOS, Cristiane. **Encapsulamento de taninos de Acacia mearnsii por métodos Sol-Gel**. 2014. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Materiais) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2014.
- ESCOBAR, Cícero Coelho de. **Estratégias no delineamento de fotocatalisadores seletivos via impressão molecular**. 2016. Tese (Doutorado em Engenharia Química) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2016.
- FILIPPE, H. A. L. *et al.* Antiviral and antibacterial activity of hand sanitizer and surface disinfectant formulations. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 609, n. 121139, 2021.
- INNOCENZI P. Understanding sol-gel transition through a picture. A short tutorial. **Journal of Sol-Gel Science and Technology**, v. 94, p. 544-550, 2020.
- KAYA, H. *et al.* spectral changes in Si-O-Si stretching band of porous glass network upon ingress of water. **Journal of Non-Crystalline Solids**, v. 527, n. 119722, 2020.
- KICKELBICK, G. Introduction to hybrid materials. In: **Hybrid materials synthesis, characterization and applications**, Weinheim: Wiley, 2007.
- MAILLARD, A. P. V. F. *et al.* Zeta potential beyond materials science: Applications to bacterial systems and to the development of novel antimicrobials. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Biomembranes**, v. 1863, n. 6, 2021.
- MARDONES, L. *et al.* Encapsulation and controlled release of isothiazolinones in zeolite NaY (FAU). **Journal of Environmental Chemical Engineering**, v. 10, n. 107277, 2022.
- MARDORNES, L. E. *et al.* Increasing the effectiveness of a liquid biocide component used in antifungal waterborne paints by its encapsulation in mesoporous sílicas. **Progress in Organic Coatings**, v. 134, p. 145-152, 2019.
- POGER, D. MARK A. E. Effect of Triclosan and Chloroxylenol on Bacterial Membranes. **The Journal of Physical Chemistry**, v. 123, p. 5291-5301, 2019.

- RUGGIERO, L. *et al.* Encapsulation of environmentally-friendly biocides in silica nanosystems for multifunctional coatings. **Applied Surface Science**, v. 514, n. 145908, 2020.
- RUIZ-RICO, M. *et al.* Enhanced antimicrobial activity of essential oil components immobilized on silica particles. **Food Chemistry**, v. 233, p. 228-236, 2017.
- SING, K. S. W. *et al.* Reporting physisorption data for gas/solid systems with special reference to the determination of surface area and porosity (Recommendations 1984). **Pure and Applied Chemistry**, v. 57, n. 4, p. 603-619, 1985.
- SCHUBERT U. Silica-Based and Transition Metal-Based Inorganic-Organic Hybrid Materials—A Comparison. **Journal of Sol-Gel Science and Technology**, v. 26, p. 47-55, 2003.
- SCHUBERT, U., HÜSING, N. **Synthesis of inorganic materials**. 2nd.ed. Weinheim: Wiley, 2005.
- SMITH, B. C. **Fundamentals of Fourier Transform Infrared Spectroscopy**. 2nd.ed. Boca Raton: CRC Press, 2011.
- WHITE, D. G. MCDERMOTT P. F. Biocides, drug resistance and microbial evolution. **Current Opinion in Microbiology**, v. 4, p. 313-317, 2001.
- WITOON, T. *et al.* Preparation of silica xerogel with high silanol content from sodium silicate and its application as CO₂ adsorbent. **Ceramics International**, v. 37, p. 2297-2303, 2011.
- WITOON, T. CHAREONPANIC, M. LIMTRAKUL, J. Size control of nanostructured silica using chitosan template and fractal geometry: effect of chitosan/silica ratio and aging temperature. **Journal of Sol-Gel Science and Technology**, v. 56, p. 270-277, 2010.
- WINTER, R. *et al.* The effect of fluoride on tile sol-gel process. **Journal of Non-Crystalline Solids**, v. 105, p. 214-222, 1988.