



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
FUNDAÇÃO UNIVERSIDADE FEDERAL DA GRANDE DOURADOS
FACULDADE DE CIÊNCIAS EXATAS E TECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

**SÍNTESE DO ZnO VIA REAÇÃO DE PRECIPITAÇÃO QUÍMICA
ACELERADA PELA SONOQUÍMICA E SUA APLICAÇÃO
FOTOCATALÍTICA E ANTIMICROBIANA**

Graziele Weirich Akucevicius

**DOURADOS/MS
JUNHO/2021**



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
FUNDAÇÃO UNIVERSIDADE FEDERAL DA GRANDE
DOURADOS
FACULDADE DE CIÊNCIAS EXATAS E TECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

**SÍNTESE DO ZnO VIA REAÇÃO DE PRECIPITAÇÃO QUÍMICA
ACELERADA PELA SONOQUÍMICA E SUA APLICAÇÃO
FOTOCATALÍTICA E ANTIMICROBIANA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação, da Faculdade de Ciências Exatas e Tecnologia da Universidade Federal da Grande Dourados, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Química.

Mestranda: Grazielle Weirich Akucevicius
Orientador: Prof. Dr. Thiago Sequinel
Coorientador: Prof. Dr. Luiz Fernando Gorup

**DOURADOS/MS
JUNHO/2021**



**MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
FUNDAÇÃO UNIVERSIDADE FEDERAL DA GRANDE
DOURADOS
FACULDADE DE CIÊNCIAS EXATAS E TECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA**

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP).

A313s Akucevicius, Grazielle Weirich
SÍNTESE DO ZnO VIA REAÇÃO DE PRECIPITAÇÃO QUÍMICA
ACCELERADA PELA SONOQUÍMICA E SUA APLICAÇÃO
FOTOCATALÍTICA E ANTIMICROBIANA [recurso
eletrônico] / Grazielle Weirich Akucevicius. -- 2021.
Arquivo em formato pdf.

Orientador: Thiago Sequinel.
Coorientador: Luiz Fernando
Gorup.
TCC (Graduação em Química)-Universidade Federal da Grande
Dourados, 2021. Disponível no Repositório Institucional da UFGD
em:
<https://portal.ufgd.edu.br/setor/biblioteca/repositorio>

Ficha catalográfica elaborada automaticamente de acordo com os dados
fornecidos pelo(a) autor(a).

©Direitos reservados. Permitido a reprodução parcial desde que citada a fonte.



**MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
FUNDAÇÃO UNIVERSIDADE FEDERAL DA GRANDE
DOURADOS
FACULDADE DE CIÊNCIAS EXATAS E TECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA**



**MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
FUNDAÇÃO UNIVERSIDADE FEDERAL DA GRANDE DOURADOS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA / FACET**

Termo de Aprovação

Após a apresentação, arguição e apreciação pela banca examinadora foi emitido o parecer APROVADO, para a dissertação intitulada: “**Síntese de ZnO via reação de precipitação química acelerada pela sonoquímica e sua aplicação fotocatalítica e antimicrobiana**”, de autoria de **Graziele Weirich Akucevicius**, apresentada ao Programa de Mestrado em Química da Universidade Federal da Grande Dourados.

Prof. Dr. Thiago Sequinel (Orientador-UFGD)
Presidente da Banca Examinadora

Profa. Dra. Luciana Nuñez
Membro Examinador (UNESP)

Prof. Dr. Tiago André Denck Colman
Membro Examinador (UFGD)

Dourados/MS, 24 de junho de 2021



AGRADECIMENTOS

*Agradeço primeiro a **Deus**
por sua infinita graça e generosidade.*

*Aos meus pais, **Joel e Clarice**
por sempre me apoiarem em meus sonhos.*

*Ter vocês em minha vida,
me faz uma pessoa feliz e realizada.*

*Ao meu irmão **Rodrigo**,
por acreditar na minha capacidade e
pelas palavras de conforto e estímulos.*

*À minha avó **Helena** que eu amo tanto,
e que apesar da distância, sempre estamos juntas.*

*Ao meu orientador,
Prof. Dr. Thiago Sequinel,
pela oportunidade, paciência, dedicação
e confiança para realizar este trabalho.*



RESUMO

Neste trabalho estudou-se a síntese de nanopartículas de ZnO, por meio da reação de precipitação química associada à sonoquímica. A partir do trabalho realizado por este grupo de pesquisa, as caracterizações do DRX e MEV sugerem a formação de um material puro e homogêneo com formação de um aglomerado de nanopartículas no modelo estrelar. O ZnO obtido foi aplicado quanto a sua propriedade de fotocatalise, estudando seu potencial no processo de remoção da coloração de um composto modelo, o alaranjado de metila. Nos testes de fotocatalise, obteve-se descoloração do alaranjado de metila em pH ácido (~ 100%) em aproximadamente 90 minutos. Comparando-se com o teste de fotocatalise em meio neutro, ocorreu menor descoloração do corante (~ 48,24%), em um maior período (~ 120 minutos). O ZnO obtido neste trabalho também foi estudado quanto a sua propriedade biológica. Na avaliação bacteriostática a partir do método de microdiluição em caldo, as nanopartículas de ZnO30 apresentaram valores de CIMs variando de 4300 $\mu\text{g mL}^{-1}$ a 268,75 $\mu\text{g mL}^{-1}$, dependendo da cultura bacteriana analisada. As menores CIMs observadas foram de 268,75 $\mu\text{g mL}^{-1}$ contra *Acinetobacter baumannii* produtora de OXA-143 e *Klebsiella pneumonia* produtora de OXA-48.

Palavras-chave: óxido de zinco; sonoquímica; propriedades biológicas.



ABSTRACT

In this work was studied the efficient of the precipitation reaction associated with sonochemistry method to synthesize the nanoparticles of ZnO. The XRD and SEM characterizations reveal a pure ZnO hexagonal crystalline structure and homogeneous star like particles obtained. The photocatalytic tests showed that the obtained ZnO was able to degrade 100%, in 90 minutes, the methyl orange indicator when an acid pH solution was used. Varying the pH solution to neutral scale, the indicator degradation decreases to 48.24%, after 120 minutes. The antibacterial activity was evaluated through the minimum inhibitory concentration measurements (MIC). In the MIC measurements the ZnO nanoparticles (ZnO NP) concentration range was $4300 \mu\text{g mL}^{-1}$ to $268.75 \mu\text{g mL}^{-1}$, according to the target bacteria. Lower ZnO NP range of $268.75 \mu\text{g mL}^{-1}$ was obtained for *Acinetobacter baumannii* producing OXA-143 e *Klebsiella pneumonia* producing OXA-48.

KEYWORDS: zinc oxide, sonochemistry, biological properties



SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	4
2. OBJETIVO	6
2.1. Objetivo Geral	6
2.2. Objetivos Específicos	6
3. REVISÃO DE LITERATURA	7
3.1. Óxido de zinco (ZnO)	7
3.2. Metodologias mais usuais da literatura para a obtenção do ZnO	8
3.2.1. Método dos precursores poliméricos	8
3.2.2. Síntese Hidrotermal / Solvotermal	9
3.2.3. Síntese via sol-gel	11
3.2.4. Sonoquímica	12
3.3. Propriedades e aplicações do ZnO	14
3.3.1. Corantes em Efluentes Residuais e a Fotocatálise	16
3.3.2. Bactérias, Causas das Doenças Infecionadas por Microrganismos Patogênicos e a Avaliação da Atividade Antimicrobiana	19
4. PARTE EXPERIMENTAL	27
4.1. Síntese do ZnO	27
4.1.1. Reagentes	27
4.1.2. Preparo dos reagentes e condições de síntese	27
4.2. Caracterização do ZnO	30
4.3. Atividade fotocatalítica das nanopartículas de ZnO	30
4.3 Atividade antimicrobiana	31
4.3.1. Preparo da amostra	31
4.3.2. Isolados bacterianos	31
4.3.3. Concentração Inibitória Mínima (CIM)	32
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	34
5.1. Mecanismo	34
5.2. Difração de raios X (DRX)	35
5.3. Microscopia eletrônica de varredura por emissão de campo (FEG-MEV)	36
5.4. Rendimentos	37
5.5. Estudo da remoção de cor da solução do corante alaranjado de metila em meio ácido e neutro frente às nanopartículas de ZnO	38
5.6. Concentração Inibitória Mínima	41
6. CONCLUSÃO	44
REFERÊNCIAS	45



1. INTRODUÇÃO

O óxido de zinco (ZnO) é um material semicondutor intrínseco do tipo *n*, com *band gap* de aproximadamente 3,4 eV (FU et al., 2010; WOOD, LEE, 2017). A forma nanoestruturada do óxido de zinco tem atraído muita atenção por suas propriedades, como a alteração da sua condutividade na presença de um gás (SHOKRY HASSAN et al., 2014; VIEIRA, 2015), piezoelectricidade (VAUGHN, 2012), atividade fotocatalítica (HAO et al., 2019; MOUSAVI-KAMAZANI, 2019; NING; DEQING, 2019), fotoproteção (CHEGENI; POUR; DIZAJI, 2019), citotoxicidade (HAO et al., 2019), efeito antimicrobiano (CHU et al., 2014; DADI et al., 2019), dentre outras. Desta forma, os estudos de ZnO tem-se destinado para aplicações como sensor de gás (FU et al., 2010; WOOD, LEE, 2017), dispositivos eletrônicos (VAUGHN, 2012), degradação de poluentes orgânicos (HAO et al., 2019; MOUSAVI-KAMAZANI, 2019; NING; DEQING, 2019), protetores solares (CHEGENI; POUR; DIZAJI, 2019), terapias de câncer de pâncreas (HAO et al., 2019), agente bacteriostático (CHU et al., 2014; DADI et al., 2019), entre inúmeras outras aplicações.

O óxido de zinco pode ser obtido a partir de diversos métodos de síntese, como o método dos precursores poliméricos (Pechini) (PECHINI, 1966), decomposição de precursores metalorgânicos (MOD) (HAN et al., 2008), síntese hidrotermal (NING, DEQING, 2019), sol-gel (BU, 2018) e reação de precipitação via sonoquímica (MAYRINCK et al., 2014; SERPONE; COLARUSSO, 1994; VIEIRA, 2015).

Dentre as metodologias de síntese para o ZnO, o método químico de precursores poliméricos possui a vantagem por obter um material homogêneo com elevada pureza (COSTA et al., 2007). Entretanto, neste método ocorrem reações de polimerização que utilizam altas temperaturas nas etapas de pirólise e calcinação, além de longos períodos de síntese (CHILITI et al., 2017). Compostos de ZnO com morfologia tipo bastão tem sido fabricado através do método sol-gel (BU, 2018). Nesta metodologia utiliza-se elevadas temperaturas de calcinação, etapa de desidratação e extensos períodos de síntese (BORTOLINI, 2017). Nanoestruturas de ZnO, com morfologia tipo flor, também podem ser obtidas a partir da reação por precipitação química assistida pelo método hidrotérmico (NING, DEQING, 2019). Para sintetizar um material nesta metodologia, é fundamental o uso de um reator (equipamento de alto custo) ou uma etapa extra de calcinação em altas temperaturas ao final do procedimento (YOSHIMURA; BYRAPPA, 2007).



**MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
FUNDAÇÃO UNIVERSIDADE FEDERAL DA GRANDE
DOURADOS
FACULDADE DE CIÊNCIAS EXATAS E TECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA**

Em busca do desenvolvimento de novas tecnologias para a síntese do ZnO que visem a economia, menor tempo de síntese e menor custo energético, as reações de precipitação química associadas a sonoquímica têm se destacado na literatura. Em geral, a metodologia para síntese de nanopartículas inorgânicas baseia-se em uma reação de precipitação química a partir de uma solução precursora juntamente com uma base forte. O precipitado gerado na reação é impulsionado por uma energia de ondas sonoras provenientes de um ultrassom, associadas ao aquecimento e a agitação em diferentes intervalos de tempo (KUMAR et al., 2014).

Neste trabalho produziu-se ZnO por meio da sonoquímica, com o objetivo de sintetizar a morfologia tipo flores/estrelas, avaliando suas propriedades fotocatalítica e biológica.



2. OBJETIVO

2.1. *Objetivo Geral*

Esta pesquisa teve como objetivo sintetizar nanopartículas de ZnO, por meio da reação de precipitação química associada à sonoquímica, para aplicação como fotocatalisador e como agente bacteriostático.

2.2. *Objetivos Específicos*

- Sintetizar nanopartículas de ZnO via reação de precipitação química acelerada pela sonoquímica.
- Caracterizar o pó de ZnO por meio da difração de raios X em pó (DRX), microscopia eletrônica de varredura por emissão de campo (FEG-MEV).
- Avaliar o potencial do ZnO a partir de parâmetros cinéticos para o processo de remoção de coloração de um composto modelo, a solução de corante alaranjado de metila, utilizando o método de fotocatalise.
- Analisar a atividade bacteriostática de nanopartículas de ZnO pelo método de microdiluição em caldo.

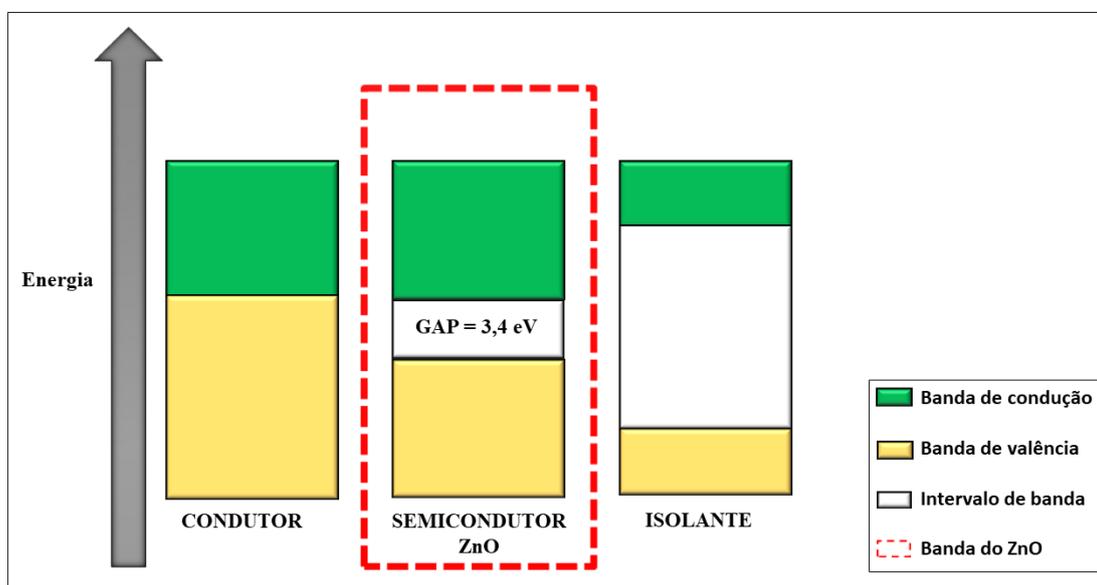


3. REVISÃO DE LITERATURA

3.1. Óxido de zinco (ZnO)

O óxido de zinco tem aspecto de um pó branco e fino, disponível na natureza como o mineral chamado zincita. O óxido de zinco pertence à classe dos óxidos condutores transparentes (TCO), é um composto amorfo, com ligações covalentes, hibridização sp^3 e apresenta caráter anfótero (KONAN et al., 2018). O óxido de zinco é um importante semiconductor intrínseco (figura 1) do tipo n , com *band gap* de transição direta de 3,4 eV (FU et al., 2010; LIANG et al., 2014). Por este motivo, o óxido de zinco tem sido utilizado em diversas aplicações tecnológicas atuais, observando-se uma tendência crescente no número de pesquisas em relação ao ZnO nanoestruturado (FATTOBENE, 2011; FU et al., 2010; GIRALDI et al., 2016; MOUSAVI-KAMAZANI, 2019).

Figura 1. Bandas de valência e condução dos materiais condutores, semiconductor (ZnO) e isolante.



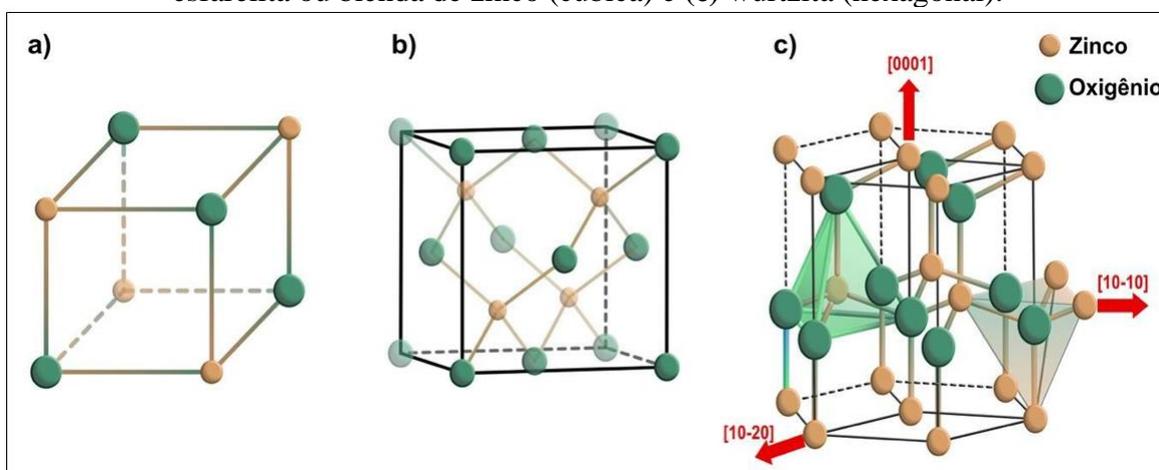
Fonte: A autora.

A estrutura cristalina do ZnO varia em três formas, dependendo das condições de síntese. A estrutura cúbica simples do tipo Rocksalt (figura 2a) é formada quando se aplica altas pressões (CAUDURO, 2012). A fase esfarelita (figura 2b) ocorre quando há



crescimento heteroepitaxial sobre substratos de estrutura cristalina cúbica (VAUGHN, 2012). Entretanto, a forma cristalina mais estável do ZnO sob condições ambientes é a hexagonal (wurtzita – figura 2c). A wurtzita é composta por átomos de zinco (Zn^{2+}) e oxigênio (O^{2-}) coordenados tetraedricamente e dispostos alternadamente em camadas ao longo do eixo c (VIEIRA, 2015).

Figura 2. Estruturas cristalinas nas quais o óxido de zinco pode ser obtido: (a) cúbica (b) esfarelita ou blenda de zinco (cúbica) e (c) wurtzita (hexagonal).



Fonte: A autora.

3.2. Metodologias mais usuais da literatura para a obtenção do ZnO

3.2.1. Método dos precursores poliméricos

O método dos precursores poliméricos (método Pechini) é fundamentada por uma reação de poliesterificação. Essa reação ocorre entre um complexo metálico quelatado após adições de ácidos hidroxicarboxílicos (por exemplo o ácido tartárico ou ácido cítrico) e um álcool polihidróxi (como o etilenoglicol ou polietilenoglicol). O resultado é a formação de uma resina polimérica (COSTA et al., 2007).

O aquecimento da resina polimérica em temperaturas superiores a 300 °C gera a quebra da ligação do polímero e o aumento da resina. O composto obtido consiste em um semicarbonizado (coloração preto), macroscópico e com aparência de espuma. Para obtenção da cerâmica desejada há a necessidade de etapas de aquecimento, como a pirólise ou a calcinação, em elevadas temperaturas (CHILITI et al., 2017; COSTA et al., 2007).



Para sintetizar as nanopartículas de ZnO pelo método dos precursores poliméricos, (CHILITI et al., 2017) utilizou o acetato de zinco dihidratado $[Zn(CH_3COO)_2 \cdot 2H_2O]$ ou o nitrato de zinco $(Zn(NO_3)_2 \cdot 6H_2O)$, ácido hidroxicarboxílico (ácido cítrico), ácido nítrico e álcool polihidróxi (etilenoglicol). Utilizou temperaturas de aquecimento entre 90 °C, etapa de pirólise à 300 °C por 2 horas e calcinação em elevadas temperaturas de 500 °C, 600 °C e 700 °C. O ZnO apresentou a estrutura hexagonal wurtzita, as partículas apresentaram-se aglomeradas com formato indefinido. Este trabalho visou a aplicação do ZnO como fertilizantes, visto que nanopartículas de óxido de zinco aumenta a solubilidade de Zn^{2+} nas plantas, e assim, a absorção do macronutriente (CHILITI et al., 2017).

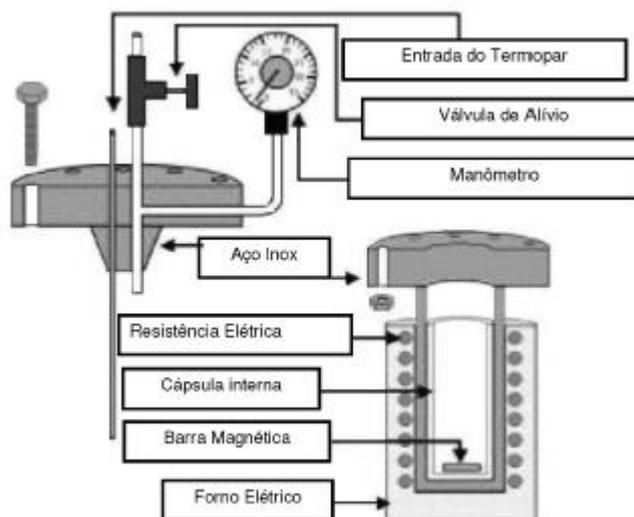
3.2.2. Síntese Hidrotermal / Solvotermal

De acordo com M. Yoshimura, 2008 (YOSHIMURA, BYRAPPA, 2007), a palavra hidrotermal é utilizada para definir as reações químicas que ocorrem em um sistema fechado. Essas reações ocorrem na presença de um solvente (aquoso ou não aquoso) sob aquecimento acima da sua temperatura de ebulição. O sistema fechado consiste em equipamentos de alto custo, e que exige maior consumo energético. Entre eles destacam-se reatores de grande volume, células de fluxo, reatores tipo Tuttle para operações de alta temperatura e pressão, autoclaves de uso geral, reatores agitados, e entre outros (YOSHIMURA, BYRAPPA, 2007).

Na figura 1. é demonstrado um reator fechado em aço inox com uma cápsula interna. A finalidade da cápsula interna é diminuir os efeitos das reações químicas. O reator é aquecido por um forno tubular na parte externa. Neste equipamento é possível controlar a temperatura (através do termopar) e a pressão (manômetro). O sistema pode atuar em uma pressão de até 40 atm. Não é utilizado tratamento térmico em elevadas temperaturas na etapa na qual é transferido o material para a autoclave, porém, muitas vezes, o período de síntese se processa por um longo período. Outra desvantagem é a necessidade de uma etapa extra de calcinação em altas temperaturas ao final do procedimento (MOURÃO et al., 2009).



Figura 3. Reator hidrotermal.



Fonte: (MOURÃO et al., 2009).

Dentro da síntese hidrotérmica, encontra-se uma alteração do método, denominado solvotérmico. Nesta variação o solvente consiste em um composto orgânico, enquanto na hidrotérmica é utilizado água. Ao contrário da hidrotermal, uma desvantagem da síntese via solvotérmico é a ocorrência de grupos orgânicos na superfície das partículas do produto (MOURÃO et al., 2009). Usando a síntese via hidrotermal/solvotermal, o ZnO pode ser sintetizado como um material nanoparticulado, filmes finos, bulks de monocristais (YOSHIMURA; BYRAPPA, 2007).

No trabalho de Z. Ning e C. Deqing, 2019 (NING; DEQING, 2019) foram adicionados $Zn(NO_3)_2 \cdot 6H_2O$ e ureia (CH_4N_2O) em um solvente (solução de água e glicerol). Esta solução foi agitada magneticamente à temperatura ambiente por um intervalo de 30 minutos, e em sequência, transferida para uma autoclave à 120 °C, durante um período de 7 horas. Realizou-se o processo de calcinação em uma mufla em altas temperaturas (500 °C) pelo período de 3 horas, obteve-se altos rendimentos de nanoestruturas de ZnO com morfologia de flor, com elevada área de superfície e pequeno tamanho de partículas. Em consequência desses fatores, as atividades fotocatalíticas foram altas e relevantes para a degradação de poluentes orgânicos.

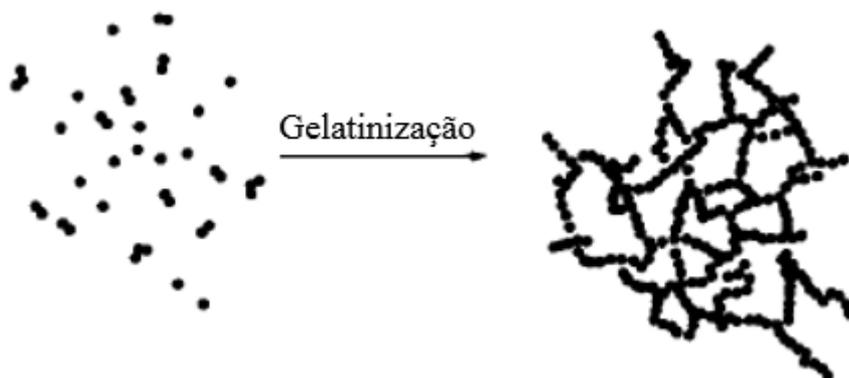


3.2.3. Síntese via sol-gel

Essa metodologia de síntese consiste na mudança de fase de uma solução contendo partículas coloidais dispersas em um fluido (fase sol), para uma estrutura rígida de partículas coloidais ou de cadeias poliméricas que retém a fase líquida nos seus interstícios (fase gel). Essa transformação ocorre pela formação de ligações entre as partículas e espécies moleculares, obtendo-se pequenas cadeias ramificadas e tridimensionais (HIRATSUKA; SANTILLI; PULCINELLI, 1995; MOURÃO et al., 2009).

O processo de gelatinização (figura 4) designa da aglomeração lateral de algumas partículas para formar cadeias curtas, e posteriormente, cadeias ramificadas. Essas regiões são aumentadas constantemente com o acréscimo de partículas da fase sol, até que a fase gel ocupe todo o volume. Após a formação do gel, as cadeias crescem simultaneamente, obtendo-se uma rede contínua por toda a ordenação (HIRATSUKA, SANTILLI, PULCINELLI, 1995; MOURÃO et al., 2009).

Figura 4. Processo de gelatinização.



Fonte: (HIRATSUKA, SANTILLI, PULCINELLI, 1995).

Variando alguns parâmetros na síntese via sol-gel, pode-se obter partículas com tamanho, morfologia e estado de aglomeração controlados. Em contrapartida, é necessário um tempo, para que o gel seja envelhecido, para assegurar a mudança de fase para uma massa sólida. Ocorre também etapas de desidratação, na qual o gel pode rachar e conseqüentemente reduzir seus poros, dificultando a obtenção do tamanho das nanopartículas, assim como sua



uniformidade. Além disso, este método utiliza elevadas temperaturas de calcinação (HIRATSUKA, SANTILLI, PULCINELLI, 1995; MOURÃO et al., 2009).

Na pesquisa de B. Bortolini (2017), desenvolveu-se a síntese de nanopartículas de ZnO pelo método sol-gel. Primeiramente, misturou-se uma solução aquosa de álcool polivinílico em uma solução aquosa de nitrato de zinco saturada sob agitação à temperatura ambiente pelo período de 2 horas. Então, aqueceu-se a solução sob agitação até a evaporação da água. Ocorreu a formação de um pó. Em seguida, realizou-se a calcinação do pó na mufla a 400 °C, obtendo o pó de ZnO nanoparticulado, puro e homogêneo.

3.2.4. Sonoquímica

Sonoquímica é um método de síntese que permite preparar uma grande variedade de materiais (inclusive na escala nanoparticulada) através da radiação ultrassônica. As ondas ultrassônicas situam-se no espectro sonoro em frequências maiores do que aquelas que o ouvido humano pode detectar, ou seja, acima de 20 kHz (FATTOBENE, 2011; WOOD, LEE, BUSSEMAKER, 2017; ZHANG et al., 2019).

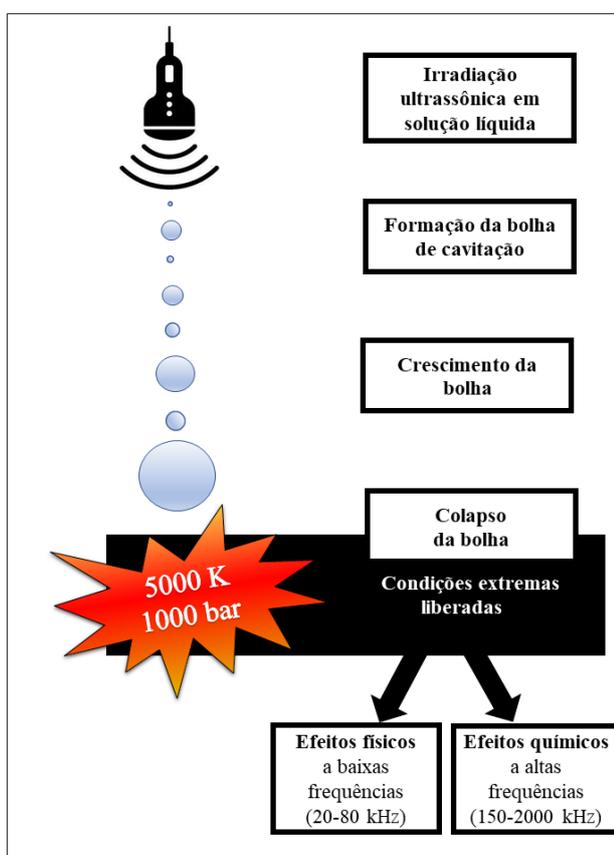
Desta maneira, a sonoquímica deriva principalmente da cavitação acústica: a formação, o crescimento e o colapso implosivo de microbolhas gasosas em um líquido. A cavitação serve como meio de concentrar a energia difusa do som. De acordo com a teoria do ponto quente, o colapso da bolha induzido pela cavitação produz a formação de pontos quentes localizados, atingindo altas temperaturas (aproximadamente 5000 °C) e altas pressões (500 atmosferas) em tempos de vida muito curtos, além de taxas de resfriamento e aquecimento superiores a 10⁹ K/s (CRUZ et al., 2017; MCCLURE; HUBBARD, 2019; ZHANG et al., 2019).

Esta metodologia de síntese é diferente das interações entre matéria e as demais fontes de energia comumente utilizadas (como as tradicionais provindas da luz, calor ou radiação ionizante). A sonoquímica facilita a quebra da ligação química por uma metodologia chamado de sonólise, na qual há a formação de radicais livres (CRUZ et al., 2017; NING; DEQING, 2019; WOOD, LEE, 2017). A frequência é um parâmetro sonoquímico, que altera o potencial e as aplicações da sonoquímica. Na água, por exemplo, é geralmente aceito que em frequências em torno de 20 e 80 kHz levam preferencialmente a



efeitos físicos, como por exemplo, microjatos, microconvecção, ondas de choque, entre outros. Já em frequências entre 150 e 2.000 kHz, são maiores as ocorrências químicas e a produção de espécies de radical hidroxila (CHATEL, 2019). O fenômeno de cavitação é representado na figura 5

Figura 5. Fenômeno de cavitação na origem dos efeitos fornecidos sob ultrassom de potência.



Fonte: adaptada e traduzida de (CHATEL, G., 2019).

As reações sonoquímicas envolvem as etapas de nucleação, cavitação, dinâmica de bolhas/interações, processos químicos e termodinâmicos. Inicialmente, há a formação de cavidades por nucleação a partir de bolhas que já estavam contidas na solução, as quais são estabilizadas contra a dissolução devido às propriedades superficial. Posteriormente, ciclos de oscilação são formados, consistindo em ondas sonoras que provocam a compressão (alta



pressão) e rarefação (baixa pressão) das bolhas (FATTOBENE, 2011; WOOD, LEE, BUSSEMAKER, 2017).

O uso do ultrassom durante o processo de síntese de óxidos favorece a diminuição do número de etapas de síntese, o aumento do rendimento das reações, a eliminação da necessidade de solventes caros e de alta pureza, assim como, aumenta a atividade dos catalisadores existentes (THOMPSON, DORAISWAMY, 1999).

No trabalho de B. Costa (2014) foram sintetizados ZnO a partir de um processador ultrassônico. As soluções precursoras consistem em uma mistura composta por 300 mL de água deionizada, 4 g $Zn(NO_3)_2 \cdot 6H_2O$ e 9 mL NH_4OH . As mesmas foram colocadas em banho ultrassônico em diferentes tempos de tratamento: 5, 15, 30, 60, 90, 120 e 150 minutos. As soluções foram retiradas do ultrassom e deixadas em repouso por 24 horas com a finalidade que todas as partículas dispersas sedimentassem. Para finalizar o experimento, os precipitados foram recolhidos e lavados cinco vezes com água deionizada e cinco vezes com álcool isopropílico. Observou-se o efeito da diminuição do tamanho das estruturas de ZnO quando comparadas sem a utilização do ultrassom. Obteve-se ZnO com morfologia do tipo flores (COSTA, 2014).

A escolha da metodologia de síntese é um importante passo para a obtenção do material com as desejadas propriedades. Além disso, uma apresentação que atrai muita atenção é a aplicação de óxidos em filmes finos.

3.3. Propriedades e aplicações do ZnO

Há muitos estudos científicos recentes em relação às propriedades das nanopartículas de ZnO (MAYRINCK et al., 2014). Entre esses estudos, encontra-se a propriedade de mudar a condutividade na presença de um determinado gás, podendo ser aplicado como sensor de gases. Os sensores de gases são dispositivos que variam em suas resistências elétricas quando estão em contato com alguns gases. Um sensor de gás consiste em um substrato depositado com um ou mais óxidos metálicos semicondutores, um aquecedor e um par de eletrodos (HASSAN et al., 2014). Em geral, é aplicado altas temperaturas ao sensor, levando ao óxido metálico a dissociar o gás em íons carregados, resultando na transferência de elétrons (VALENÇA, 2013).



O sensor de gás de ZnO destaca-se por sua sensibilidade química a vários gases adsorvidos (altas e baixas concentrações), a capacidade de dopagem (como o índio para aumentar a sensibilidade ao gás), sua alta estabilidade química, baixa toxicidade, baixo custo e longo tempo de vida útil (após detectar um gás, retorna ao seu estado original) (DADI et al., 2019; HAN et al., 2008; SABINO, 2007; ZANOTTO, 2012). Como destacado na pesquisa de (HASSAN et al., 2014) e na dissertação de (VIEIRA, 2015), o sensor de ZnO na presença dos gases O₂, H₂, CO₂ e C₂H₂ apresentou alta sensibilidade em baixo tempo de resposta.

As propriedades ópticas do ZnO permitem o uso deste material em células solares. As células solares (também chamadas de células fotovoltaicas) são dispositivos que transformam energia solar em energia elétrica. Este efeito fotovoltaico consiste na conversão direta da luz incidente em eletricidade por um dispositivo semicondutor (HASNIDAWANI et al., 2016; THOMPSON; DORAISWAMY, 1999). Como destacado no trabalho de (SABINO, 2007), o ZnO é um material que pode apresentar baixa resistência elétrica superficial e elevada transmitância óptica, podendo ser aplicado em células solares.

Outro campo de aplicação para o ZnO é na conversão de energia, devido às suas características piezoelétricas. A propriedade piezoelétrica consiste na incorporação de pressão sobre um cristal, gerando um potencial elétrico sobre a superfície de um material. Após sintetizar ZnO com morfologia de nanobastões, o autor (VAUGHN, 2012) estudou as propriedades piezoelétricas a partir da deposição de filmes de ZnO em um substrato condutor de silício com platina. O dispositivo apresentou uma resposta piezoelétrica frente a uma deformação física de até 7 mV, indicando que os nanobastões de ZnO podem ser utilizados como conversores de energia mecânica em energia elétrica.

O ZnO é aplicado largamente na indústria cosmética, como protetores solares, pois abrange um amplo espectro que atuam refletindo, dispersando e absorvendo a radiação UV. Os filtros inorgânicos utilizados em fotoprotetores constituídos por nanopartículas entre 50 e 200 nm são preferíveis. Além de aumentar a eficiência da reflexão da radiação ultravioleta, as nanopartículas de ZnO melhoram a aparência estética do produto, já que minimiza a formação de um filme esbranquiçado sobre a pele (ALBUQUERQUE, 2018).

Há ainda estudos em relação a citotoxicidade de partículas ZnO em relação ao seu potencial promissor para terapia de câncer. Quando as nanopartículas são localizadas no



microambiente ácido tumoral, a citotoxicidade de materiais ZnO pode ser gerada a partir de vários meios. Entre esses mecanismos, pode-se citar aumento do estresse oxidativo reativo, elevação do nível intracelular de Zn^{2+} por dissolução, diminuição da mitocôndria potencial de membrana ou genotoxicidade (PANDURANGAN; KIM, 2015; WARBURG, 1956). No trabalho de (HAO et al., 2019), células de câncer de pâncreas humano foram incubadas em várias concentrações de micro/nanopartículas de ZnO. Quanto maior a concentração e menor o tamanho das partículas de ZnO, maior a citotoxicidade. Neste trabalho, obteve-se valores baixos de IC_{50} (aproximadamente $12 \mu g mL^{-1}$), indicando o potencial anticâncer das nanopartículas de ZnO.

A seguir, destacamos outras duas aplicações para o óxido de zinco. As aplicações como fotocatalise e microbiológicas foram detalhadas em dois tópicos separados, por serem o alvo deste trabalho.

3.3.1. Corantes em Efluentes Residuais e a Fotocatálise

Corantes orgânicos sintéticos constituem uma classe de diversos compostos químicos largamente utilizados nas indústrias têxteis, alimentícias, de impressões, farmacêuticas, cosméticas, de celulose, entre outras. Os corantes são altamente estáveis, devido à presença de núcleos aromáticos nas estruturas, sendo de fundamental importância para a permanência das cores nos tecidos. Entretanto, essas moléculas podem gerar problemas ambientais decorrente da poluição gerada em efluentes residuais, provindos em maior parte da indústria (AMORIM; LEÃO; MOREIRA, 2009).

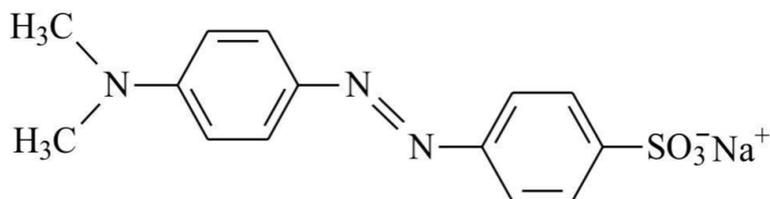
Atualmente, os métodos tradicionais não são eficazes o bastante para a remoção de resíduos. Como exemplo, destaca-se a degradação de corantes provindos principalmente de indústrias têxteis. Entre esses métodos clássicos, pode-se citar a aplicação de bentonita para eliminar corantes têxteis, mas a desvantagem do processo é limitada para soluções ácidas. Outro método é a adição de sais de alumínio, entretanto, a separação sólido-líquido é difícil (SHEN et al., 2008). No trabalho de (FORGACS; CSERHÁTI; OROS, 2004) foram destacados 18 corantes azo para a investigação através do processo de lodo ativado, sendo que 11 desses corantes, não foram degradados completamente. Desta forma, concluiu-se que



os usuais tratamentos de efluentes da indústria têxtil são inefetivos, devido à estabilidade química dos corantes (FORGACS; CSERHÁTI; OROS, 2004). Frente a esses problemas, torna-se indispensável a pesquisa de novas tecnologias, visando o tratamento de águas residuais poluídas provindas da indústria e domicílios.

Os corantes pertencem a classe de compostos orgânicos, e são classificados, de acordo com sua estrutura química, em seis diferentes classes: antraquinonas, sulfurosos, índigoides, trifenilmetanos e triftalocianinas (ALHASSANI; RAUF; ASHRAF, 2007). Aproximadamente 70%, são do tipo azo (SHEN et al., 2008). Corantes azoicos são compostos orgânicos sintéticos, que são caracterizados pela presença de uma ou mais ligações do tipo azo, classificado pelo grupo (-N=N-) (CÂMARA, 2017). Um exemplo deste corante é o alaranjado de metila, classificado como do tipo azo, representado a estrutura molecular na figura 6.

Figura 6. Estrutura molecular do alaranjado de metila.



Fonte: (CADORIN, 2009).

Os processos de oxidação avançados (POA's) são uma alternativa para a descontaminação de águas com corantes. Esses processos consistem na geração de radicais livres, como o radical hidroxila ($\cdot\text{OH}$), o qual possui alto poder oxidante, e atua na degradação de vários compostos orgânicos poluentes (STARÁ et al., 2009).

A fotocatalise é um exemplo de método oxidativo avançado utilizado para a degradação de poluentes, até mesmo os poluentes mais resistentes. O princípio da fotocatalise envolve a ativação de um semicondutor como o ZnO (já que possuem uma banda de valência preenchida e uma banda de condução vazia no estado fundamental) por luz solar ou artificial (GIRALDI et al., 2016). O óxido de zinco pode ser utilizado como fotocatalisador na degradação de corantes orgânicos como azul de metileno (GIRALDI et



al., 2016), alaranjado de metila (QU et al., 2019), rodamina B (NING, DEQING, 2019) e também do antibiótico cloridrato de ciprofloxacino (BORTOLINI, 2017).

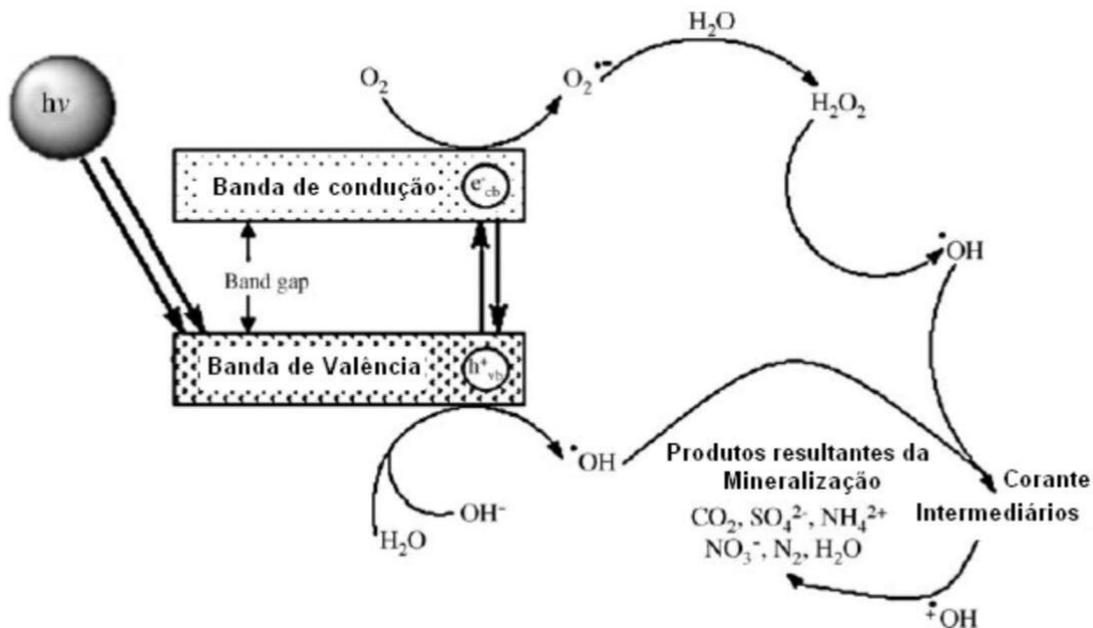
As nanopartículas de ZnO destaca-se como um material com potencial promissor para a degradação de poluentes orgânicos em efluentes residuais. Essa aplicação é possível devido à forte capacidade de oxidação do metal, *band gap* de 3,4 eV e elevada energia de excitação.

A fotocatalise é caracterizado pelo uso de semicondutores que, ao serem irradiados por luz UV, absorvem fótons com energia igual ou superior à energia de *band gap*, gerando vacâncias (ou lacunas) positivas ao promover um elétron da sua banda de valência para a banda de condução. O desempenho da propriedade fotocatalítica está relacionado com a competência em que o elétron é excitado da superfície do semicondutor metálico e a recombinação do elétron e a lacuna, ocasionando a liberação de calor.

Como representado na figura 7, inicialmente, o par elétron-lacuna, destacado como e^-/h^+ , pode se recombinar ou interagir particulamente com outras moléculas. Na banda de valência, as lacunas podem oxidar os íons hidróxido adsorvidas na superfície do semicondutor ou a água para a geração de radicais hidroxila. Os elétrons na banda de condução que se encontram na superfície do catalisador podem reduzir o oxigênio molecular (O_2) para ânion superperóxido ($O_2^{\cdot-}$). Tanto o radical hidroxila quanto o ânion superperóxido são fortes agentes para oxidar o substrato (como corantes presentes em efluentes residuais) em compostos intermediários que subsequentemente passam por uma mineralização total em muitos dos casos (JULSON; OLLIS, 2006).



Figura 7. Mecanismo geral da fotocatalíse.



Fonte: (BEHNAJADY; MODIRSHAHLA; HAMZAVI, 2006).

3.3.2. Bactérias, Causas das Doenças Infeccionadas por Microrganismos Patogênicos e a Avaliação da Atividade Antimicrobiana

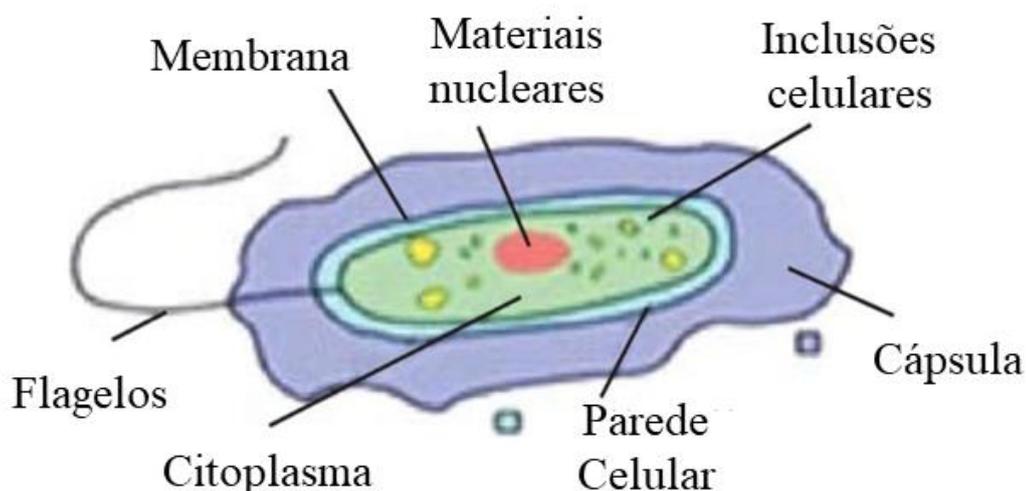
Em geral, as bactérias são compostas por uma parede celular, membrana celular e citoplasma. A parede celular consiste em uma camada externa ao redor da membrana celular, sendo formada principalmente de uma homogênea camada de peptidoglicano (que consiste em aminoácidos e açúcares) com a função de manter a rigidez celular, formato celular e divisão celular. A membrana plasmática é constituída de uma dupla camada de fosfolipídios, que além de manter o material citoplasmático no interior da célula, atua como uma barreira seletiva, ou seja, permite ou bloqueia a passagem de moléculas e íons (SIRELKHATIM et al., 2015; TORTORA; FUNKE; CASE, 2005).

Algumas estruturas como citoplasma, ribossomos, membrana plasmática e nucleotídeo contendo o DNA (material genético disperso no citoplasma), são visualizadas em todas as bactérias. O citoplasma, um líquido gelatinoso que preenche uma célula, envolve todas as células componentes, exceto o núcleo. As funções dessas organelas incluem crescimento, metabolismo e replicação. Conseqüentemente, o citoplasma contém proteínas,



carboidratos, ácidos nucleicos, sais, íons e água. Esta composição contribui na condutividade elétrica da estrutura celular. A carga geral das paredes celulares bacterianas é negativa (SIRELKHATIM et al., 2015; TORTORA; FUNKE; CASE, 2005). A figura 8 mostra a composição geral da estrutura das bactérias.

Figura 8. Composição geral de uma bactéria.

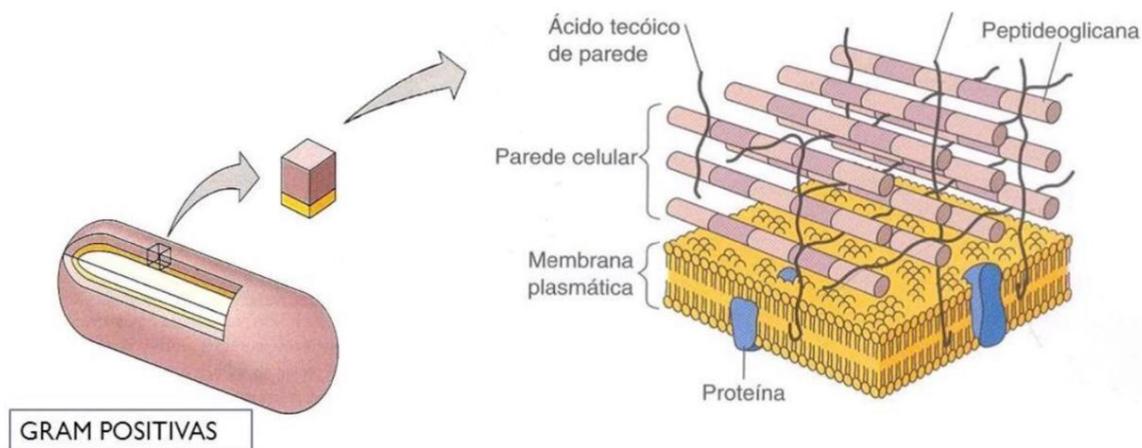


Fonte: adaptada e traduzida de (SIRELKHATIM et al., 2015).

As bactérias gram-positivas são formadas por uma membrana plasmática e uma parede celular simples e grossa, entre 20-80 nm, compostas por muitas camadas de polímero peptidoglicano (figura 9). As bactérias gram-negativas são formadas por uma estrutura mais complexa, contendo uma membrana plasmática e uma parede celular de espessura de 7 a 8 nm. Nanopartículas com tamanho dentro de tais intervalos, podem facilmente passar através do peptidoglicano e, portanto, são altamente suscetíveis a danos na parede celular. A parede celular das bactérias gram-negativas é composta por uma fina camada de peptidoglicano e uma membrana externa (figura 10). A adição da membrana exterior nas células bacterianas gram-negativas influencia a permeabilidade de muitas moléculas. Sob certas condições, as bactérias gram-negativas costumam ser mais resistentes a muitos antibióticos quando comparadas com as células gram-positivas (TORTORA; FUNKE; CASE, 2005).

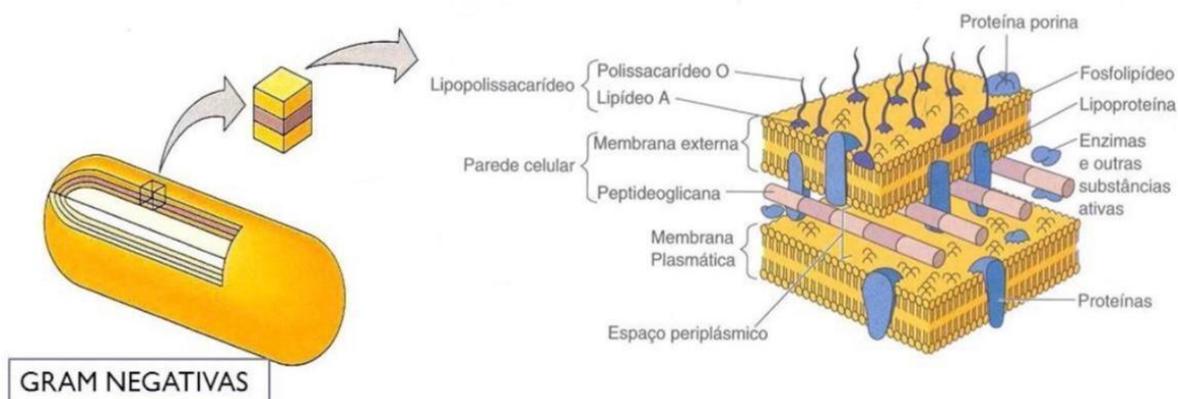


Figura 9. Estrutura básica da parede celular gram-positiva.



Fonte: (TORTORA; FUNKE; CASE, 2005).

Figura 10. Estrutura básica da parede celular gram-negativa.



Fonte: (TORTORA; FUNKE; CASE, 2005).

As doenças infecciosas provocadas por microrganismos patogênicos são um problema de saúde pública. Essas doenças ocorrem devido a diversos fatores, entre eles pode-se citar as mutações bacterianas e resistência bacteriana a antibióticos (MOTA et al., 2005), assim como as infecções hospitalares (SANTOS DE QUEIROZ, 2004) e escassez de vacinas (BONA, 2018). A contaminação por microrganismos ocorre em superfícies hospitalares (OLIVEIRA; DAMASCENO, 2010), instrumentos médicos (DUTRA et al., 2013), sistemas de purificação de água (ALCÂNTARA; SIMÕES; FARACHE FILHO,



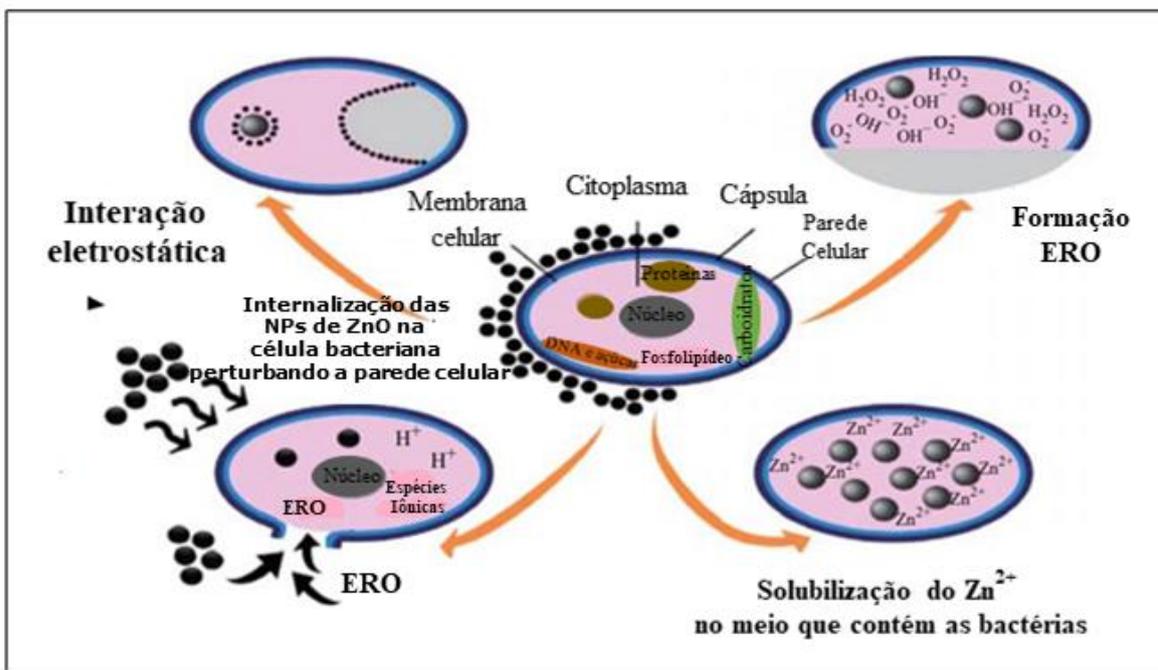
2001), produtos de saúde (FISCHER, 1992) e higiene (MASSAD; ROZMAN, 2000), alimentos (BALBANI; BUTUGAN, 2001), embalagens (SOTO et al., 2009) e entre outros.

Frente a esses problemas, é fundamental o estudo da síntese de nanopartículas como agente antimicrobiano. De acordo com a Food and Drug Administration, o ZnO é considerado um material seguro e atóxico aos seres humanos (MIRZA et al., 2015). As nanopartículas de ZnO estão sendo amplamente estudadas em virtude de apresentarem elevada área superficial, o que contribui para o aprimoramento da propriedade antimicrobiana (MOHR et al., 2019). O agente é considerado antibactericida se matar as bactérias e bacteriostático se inibe o seu crescimento, e estes não podem ser prejudiciais ao hospedeiro (PREMANATHAN et al., 2011).

As nanopartículas de ZnO possuem maior potencial de atividade inibitória frente as culturas de bactérias devido a maior área de superfície quando comparadas com as partículas micrométricas (REYES-TORRES et al., 2019). Na literatura é apresentado várias possibilidades de mecanismos para a atividade antibacteriana das nanopartículas de ZnO (SIRELKHATIM et al., 2015). Esses mecanismos são ilustrados na figura 11.



Figura 11. Diferentes mecanismos propostos para a atividade bacteriana das nanopartículas de ZnO.



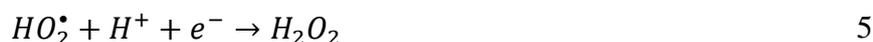
Fonte: adaptada e traduzida de (SIRELKHATIM et al., 2015).

O mecanismo mais destacado na literatura é a geração de espécies reativas de oxigênio (ERO) (SIRELKHATIM et al., 2015). A toxicidade de ERRO para bactérias é atribuída à sua alta reatividade e propriedade oxidante. Em suspensões aquosas, as nanopartículas de ZnO produzem aumento nível de ERO (ZHANG et al., 2010). Raghupathi et al. mostraram que o aumento da atividade antibacteriana do ZnO era devido a aumento da produção de ERO com exposição à radiação UV. As espécies reativas são ânion superóxido (O_2^-), hidróxido (OH^-) e o peróxido de hidrogênio (H_2O_2) (RAGHUPATHI; KOODALI; MANNA, 2011). Essas espécies reativas de oxigênio podem levar ao dano no DNA, proteínas, lipídeos e minerais, resultando em supressão do crescimento e, finalmente, morte celular (KRÓL et al., 2019).

O mecanismo é semelhante a fotocatalise. Após o ZnO absorver os fótons, o buraco (h^+) formado interage com a água (H_2O) para produzir $\bullet OH$ e H^+ . Enquanto o elétron (e^-) reage com as moléculas de O_2 suspensas na mistura de bactérias para produzem ânion peróxido ($\bullet O_2^-$), que reage com H^+ para produzir $HO_2\bullet$. Depois, $HO_2\bullet$ interfere na geração



de elétrons que combina com o H^+ para geração de peróxido de hidrogênio (H_2O_2). As moléculas de peróxido de hidrogênio são capazes de entrar na membrana e impedir a multiplicação ou matar as bactérias (CORTESE; BERNARDINA; MOUREN, 1996). É descrito a seguir as equações 1-5 para representação do mecanismo.



Os superóxidos e os radicais hidroxila não conseguem penetrar na membrana devido a suas cargas negativas (XIE et al., 2011). Portanto, essas espécies são encontradas na superfície externa das bactérias. Quando as nanopartículas de ZnO estão no meio de crescimento, eles continuarão liberando peróxidos que cobrirão inteiramente as superfícies das bactérias mortas. Portanto, essa liberação contínua de peróxido leva a um aumento da eficácia bactericida. Entretanto, é levantado na literatura diferentes opiniões em relação a ação das espécies reativas de oxigênio na atividade antibacteriana. A geração das espécies oxidativas de oxigênio parece ser contraditória uma vez que vários estudos revelaram esse mecanismo sob exposição à luz, enquanto outros estudos inovadores destacam a atividade antimicrobiana mesmo no escuro (CORTESE; BERNARDINA; MOUREN, 1996).

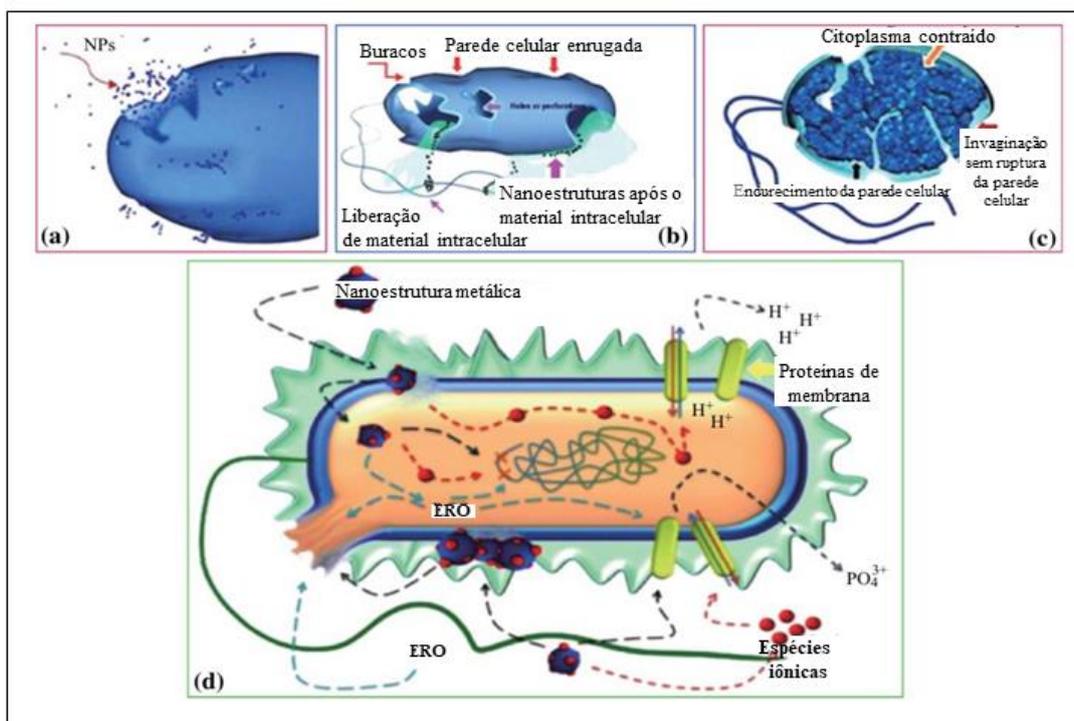
A liberação de íons Zn^{2+} na membrana celular que inibem o crescimento bacteriano também é proposto como um mecanismo de ação inibitório das bactérias (PRASAD et al., 2020). O lançamento de íons de Zn^{2+} tem efeito significativo na inibição ativa do transporte, bem como no metabolismo de aminoácidos e no sistema enzimático (YANG et al., 2009). Vários estudos relatam que a liberação de íons Zn^{2+} em meios de crescimento são responsáveis pela morte das bactérias. Quanto menor as nanopartículas de ZnO, maior será a dissolução de íons de Zn^{2+} , maior é o efeito antimicrobiano (ZHANG et al., 2007).

Outra sugestão de mecanismo pode-se citar a ruptura que as nanopartículas de ZnO causam nas membranas celulares, resultado da sua internalização na bactéria, como ilustrado



na figura 12. Inicialmente, as nanopartículas de ZnO penetram nos orifícios da parede celular, ocorrendo uma ruptura da parede celular e extrusão do conteúdo citoplasmático. A internalização é controlada conforme o tamanho da partícula. Em seguida pode ocorrer a captação de íons metálicos nas células, depleção intracelular e interrupção da replicação do DNA, liberando íons metálicos e geração de espécies reativas de oxigênio, acumulação e dissolução das nanopartículas na membrana bacteriana (BARNALI, 2011).

Figura 12. **A)** As nanopartículas penetram através de orifícios, poços ou saliências na parede celular. **B)** Esquema representação da célula colapsada mostrando ruptura da parede celular e extrusão do conteúdo citoplasmático. **C)** Célula bacteriana mostrando importantes variações na composição do envelope (ligeiras invaginações e espessamento da parede celular) e extrusão de citoplasma. **D)** Prováveis mecanismos, envolve o seguinte: captação de íons metálicos nas células, depleção intracelular e interrupção da replicação do DNA, liberando íons metálicos e geração de ERO e a dissolução das nanopartículas na membrana bacteriana.



Fonte: adaptada e traduzida de (SIRELKHATIM et al., 2015).

Stoimenov et al. também propuseram um mecanismo diferente para a atividade bacteriana das nanopartículas de ZnO. O mecanismo consiste na interação eletrostática entre as nanopartículas e os bacilos da superfície celular. A inibição do crescimento ocorre devido



**MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
FUNDAÇÃO UNIVERSIDADE FEDERAL DA GRANDE
DOURADOS
FACULDADE DE CIÊNCIAS EXATAS E TECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA**

a geração de carga total negativa bacteriana, devido à formação cessante de grupos carboxila separados (STOIMENOV et al., 2002). Assim, a superfície celular é carregada negativamente. Em contrapartida, as nanopartículas de ZnO contém uma carga positiva em suspensão aquosa. Essas cargas reversas aumentam o efeito total criando forças eletrostáticas, que servem como uma forte ligação entre as nanopartículas e a superfície bacteriana, gerando a perturbação na membrana celular (ZHANG et al., 2008).

Na literatura é destacado testes de atividade antimicrobiana de nanopartículas de ZnO, na qual destacam ser possível obter melhores resultados para a atividade bacteriana para as Gram-positivas do que as Gram-negativas. Isto ocorre devido a parede celular da bactéria Gram-positiva ser mais simples e grossa, contendo principalmente camadas de peptidoglicanas, enquanto nas células bacterianas Gram-negativas, a parede é estruturalmente e quimicamente mais complexa (VIJAYAKUMAR et al., 2020).

Encontra-se na literatura diferentes metodologias para avaliação da atividade antimicrobiana (SIRELKHATIM et al., 2015). Neste trabalho será realizado a partir da técnica de microdiluição em caldo para a determinação da concentração inibitória mínima. Este método é realizado a partir de diluições em série do agente antimicrobiano, em diferentes culturas de bactérias que foram cultivadas em meio ágar apropriado e incubadas. O objetivo do experimento é a avaliação *in vitro* da atividade bacteriostática (PREMANATHAN et al., 2011).



4. PARTE EXPERIMENTAL

4.1. Síntese do ZnO

As sínteses do ZnO foram realizadas no Laboratório de Materiais Cerâmicos Avançados (LMCA), localizado na Universidade Federal da Grande Dourados. Os parâmetros empregados para o desenvolvimento da síntese foram determinados a partir de trabalhos realizados previamente pelo grupo de pesquisa.

4.1.1. Reagentes

Os reagentes utilizados para o processo de síntese do óxido de zinco, bem como sua fórmula e procedência estão apresentados na Tabela 1. Os reagentes foram utilizados na sua forma original, sem nenhum pré-tratamento realizado.

Tabela 1. Reagentes utilizados na síntese do óxido de zinco.

Reagentes	Fórmula	Massa molar (g mol ⁻¹)	Procedência
Nitrato de zinco hexahidratado 98%	Zn(NO ₃) ₂ .6H ₂ O	297,49	Dinâmica
Hidróxido de sódio 99%	NaOH	40	Vetec

Fonte: A autora.

4.1.2. Preparo dos reagentes e condições de síntese

O procedimento das sínteses do ZnO é destacado no fluxograma 1. O sal nitrato de zinco hexahidratado Zn(NO₃)₂.6H₂O foi utilizado como precursor da síntese. As concentrações dos precursores foram retiradas dos artigos de (HAO et al., 2019). Preparou-se uma solução 0,3 mol L⁻¹, límpida, incolor e com pH 1. A síntese do óxido de zinco baseou-se na reação química de precipitação, após a conversão do pH da solução precursora, para um meio básico. As reações de conversão do precipitado obtido na reação para sua forma de óxido de zinco, serão dirigidas a partir do banho ultrassônico (Ultronique, modelo Q1.8/40A,



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
FUNDAÇÃO UNIVERSIDADE FEDERAL DA GRANDE
DOURADOS
FACULDADE DE CIÊNCIAS EXATAS E TECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

40kHz), variando o tempo de síntese e a quantidade de hidróxido de sódio $0,125 \text{ mol L}^{-1}$ que foram adicionadas gota a gota em alíquotas de 2,5 mL da solução de nitrato de zinco $0,3 \text{ mol L}^{-1}$ conforme destacado na tabela 2.

Tabela 2. Parâmetros de sínteses.

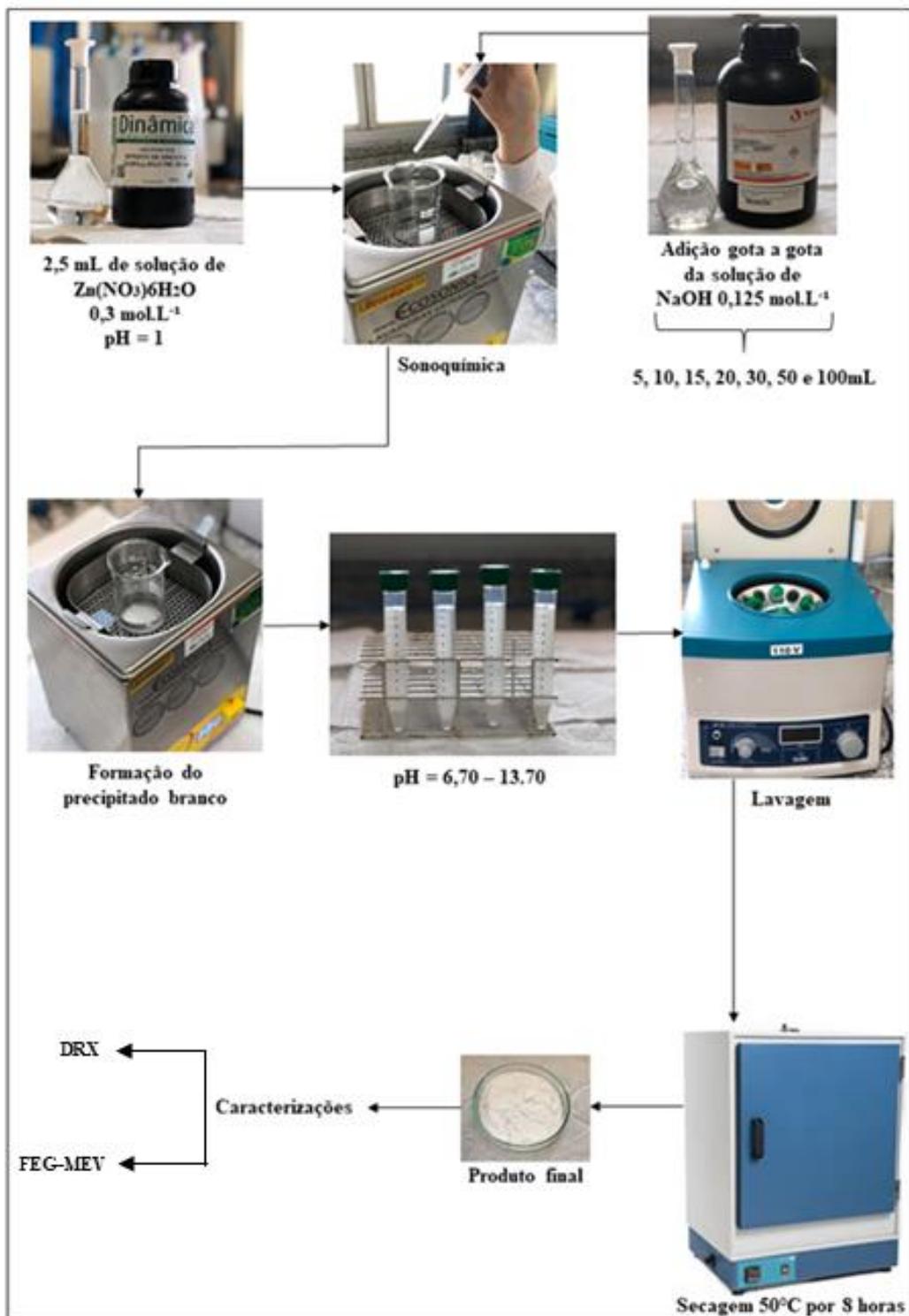
Amostras	Quantidade de solução de NaOH (mL)	Tempo (min)	pH	Nomenclatura
1	5	15	6.70	ZnO5
2	10	2	9.45	ZnO10
3	15	2	12.96	ZnO15
4	20	2	13.19	ZnO20
5	30	2	13.51	ZnO30
6	50	2	13.61	ZnO50
7	100	2	13.70	ZnO100

Fonte: A autora.

Os pós obtidos foram lavados com álcool etílico 99,5% (duas vezes) e água destilada (duas vezes), com o auxílio de uma centrífuga (Daiki – 80–2B display digital de 4000 rpm) por 10 minutos cada, para remoção de possíveis impurezas provenientes da síntese. O produto foi transferido para placas de Petri, e então secos em estufa a $50 \text{ }^\circ\text{C}$ por aproximadamente 8 horas. Após a secagem, o material foi resfriado à temperatura ambiente para armazenamento em microtubos.



Fluxograma 1. Procedimento da síntese do ZnO.



Fonte: A autora.



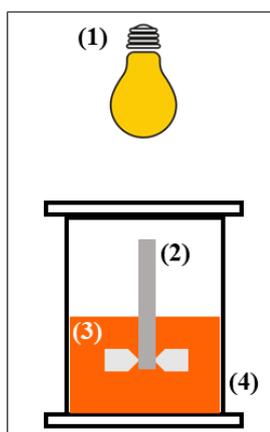
4.2. Caracterização do ZnO

Os pós obtidos após a secagem foram caracterizados por meio da difração de raios X em pó, utilizando um difratômetro Rigaku (DMax 2500PC), com radiação $\text{CuK}\alpha$ operando a 40 kV, na faixa 2θ de 10° a 110° e um passo de $0,02^\circ$ por segundo. Já a morfologia dos pós foi determinada utilizando a microscopia eletrônica de varredura por emissão de campo (FEG-MEV - microscópio Zeiss Supra 35VP).

4.3. Atividade fotocatalítica das nanopartículas de ZnO

As avaliações da atividade fotocatalítica das nanopartículas ZnO foram realizadas em reator de vidro com compartimento único como representado na figura 13. No reator foram adicionados 150 mL da solução do corante alaranjado de metila 100 mg L^{-1} e 0,1 g de ZnO. O experimento análogo foi realizado novamente em meio acidificado com adição de 1,5 mL de H_2SO_4 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$. O processo de degradação do corante ocorreu sob agitação mecânica e irradiação leve no escuro à temperatura ambiente usando lâmpada de mercúrio (125 W/m^2 de intensidade de luz).

Figura 13. Reator para degradação do corante alaranjado de metila. (1) lâmpada de mercúrio, (2) Agitador mecânico, (3) 150 mL de solução de alaranjado de metila 100 mg L^{-1} + 0,1 g de nanopartículas de ZnO + 1,5 mL de H_2SO_4 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (4) reator fotocatalítico.



Fonte: A autora.



Coletou-se uma amostra em branco (solução do corante com nanopartículas de ZnO) antes da exposição à radiação e centrifugou-se. As amostras foram retiradas em determinados intervalos de tempo (2,5, 5, 10, 20, 30, 60 e 120 min) e centrifugadas para remover as nanopartículas. A análise quantitativa, ou seja, a remoção de cor da solução do corante alaranjado de metila foi acompanhada usando o espectrofotômetro UV-VIS (Varian Cary-50) e determinada pela equação 6:

$$\text{Descoloramento (\%)} = \left[1 - \frac{\text{Abs}_{(\text{corante})t}}{\text{Abs}_{(\text{corante})0}} \right] \times 100 \quad 6$$

na qual a taxa de remoção da solução do corante (em que $\text{Abs}_{(\text{corante})0}$ e $\text{Abs}_{(\text{corante})t}$ são as concentrações dos corantes antes e após diferentes tempos de irradiação, respectivamente) foi acompanhada pela redução de seu pico de maior absorbância em 463 nm para pH neutro e 506 nm para pH ácido.

4.3 Atividade antimicrobiana

4.3.1. Preparo da amostra

Foi preparado uma solução padrão na concentração de $8600 \mu\text{g mL}^{-1}$ da amostra de nanopartículas de ZnO30 em água ultrapura, com homogeneização feita através do banho ultrassônico (Ultronique, modelo Q1.8/40A, 40kHz) até que a solução ficasse saturada e o composto em estudo não precipitasse nos micropoços da placa de análise.

4.3.2. Isolados bacterianos

Isolados bacterianos multidrogarresistentes previamente caracterizados com relação a sua resistência contra antibióticos pertencentes às classes dos betalactâmicos foram selecionadas para os ensaios *in vitro*, tais como: *Escherichia coli* ATCC 25922, *Klebsiella pneumoniae* produtora de OXA-48, *Klebsiella pneumoniae* produtora de KPC, *Klebsiella pneumoniae* com alteração no gene *mgrB*, *Acinetobacter baumannii* produtora de OXA-143, *Serratia marcescens* produtora de KPC e *Pseudomonas aeruginosa* produtora de GES.



Como controle negativo nos ensaios, utilizou-se uma estirpe de *Escherichia coli* ATCC 25922.

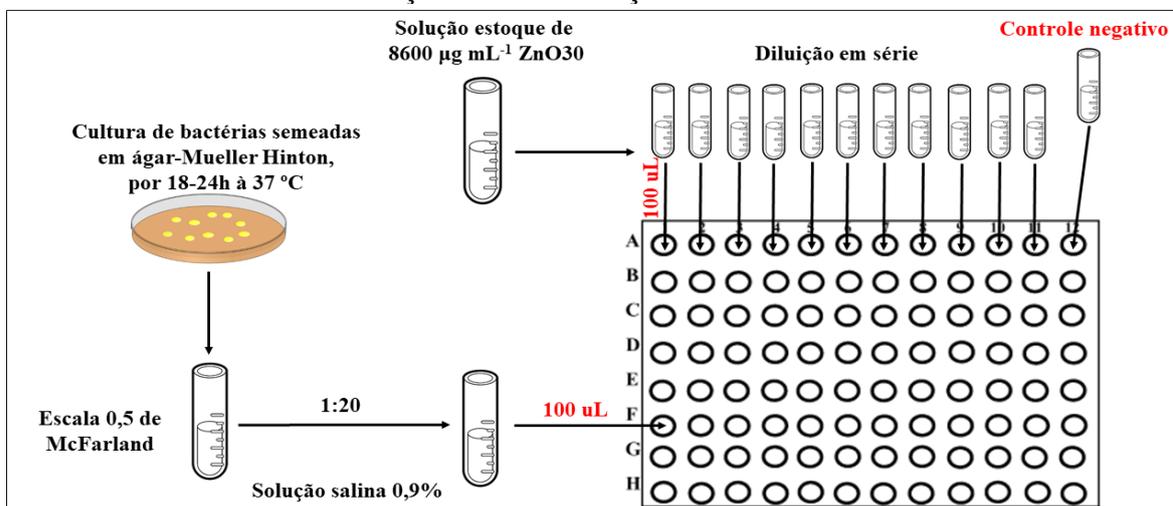
4.3.3. Concentração Inibitória Mínima (CIM)

A determinação das CMIs seguiu as normas estabelecidas no protocolo de ensaio de inibição por microdiluição em caldo, de acordo com as normas preconizadas no documento M07-A10 estabelecido pela *Clinical and Laboratory Standards Institute* – CLSI (2016), como representado no fluxograma 2. As amostras bacterianas foram, inicialmente, semeadas em ágar-Mueller Hinton, por 18-24 horas, a 37 °C. O crescimento microbiano foi então dissolvido em solução salina 0,9% para obtenção do padrão de turvação 0,5 da escala de McFarland ($\sim 1,5 \cdot 10^8$ UFC mL⁻¹). Em seguida, foi realizada uma diluição 1:20 (v/v) em solução salina 0,9%, até chegar à concentração de $5,0 \cdot 10^6$ UFC mL⁻¹.

As concentrações testadas das nanopartículas de ZnO30 variaram de 4300 a 33,5937 µg mL⁻¹. Os ensaios foram realizados em placa de microtitulação de 96 poços. Os poços foram inoculados com 100 µL de suspensão bacteriana preparada em caldo ágar-Mueller Hinton (concentração final $\pm 5,0 \cdot 10^5$ UFC mL⁻¹) e 100 µL de caldo ágar-Mueller Hinton contendo concentrações crescentes da nanopartícula (4300 - 33,5937 µg mL⁻¹). Posteriormente, as placas foram incubadas por 24 horas à 37 °C. As leituras do teste foram determinadas pelo ensaio colorimétrico com resazurina. As CIMs foram definidas como a menor concentração que foi capaz de inibir o crescimento microbiano após 24 horas de incubação à 37 °C.



Fluxograma 2. Representação Esquemática do Método de Microdiluição em Caldo para determinação da Concentração Inibitória Mínima.



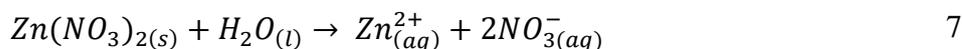
Fonte: A autora.



5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. Mecanismo

A solução de nitrato de zinco apresenta característica límpida e incolor. A dissociação do nitrato de zinco realizada no meio aquoso pode ser verificada pela equação 7.



Após a adição de hidróxido de sódio, observou-se uma alteração na mistura reacional com a formação de um precipitado de coloração branca.

Em geral, a síntese do ZnO consiste em duas etapas. Inicialmente, ocorre a reação entre Zn^{2+} (proveniente da solução de $\text{Zn}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$) e OH^- (solução precipitante de NaOH), formando o hidróxido de zinco (equação 8). Depois, com a propagação das ondas ultrassônicas, ocorre a quebra da ligação do hidróxido de zinco, formando a fase de ZnO (equação 9). Segue um provável mecanismo para as reações de formação do ZnO:



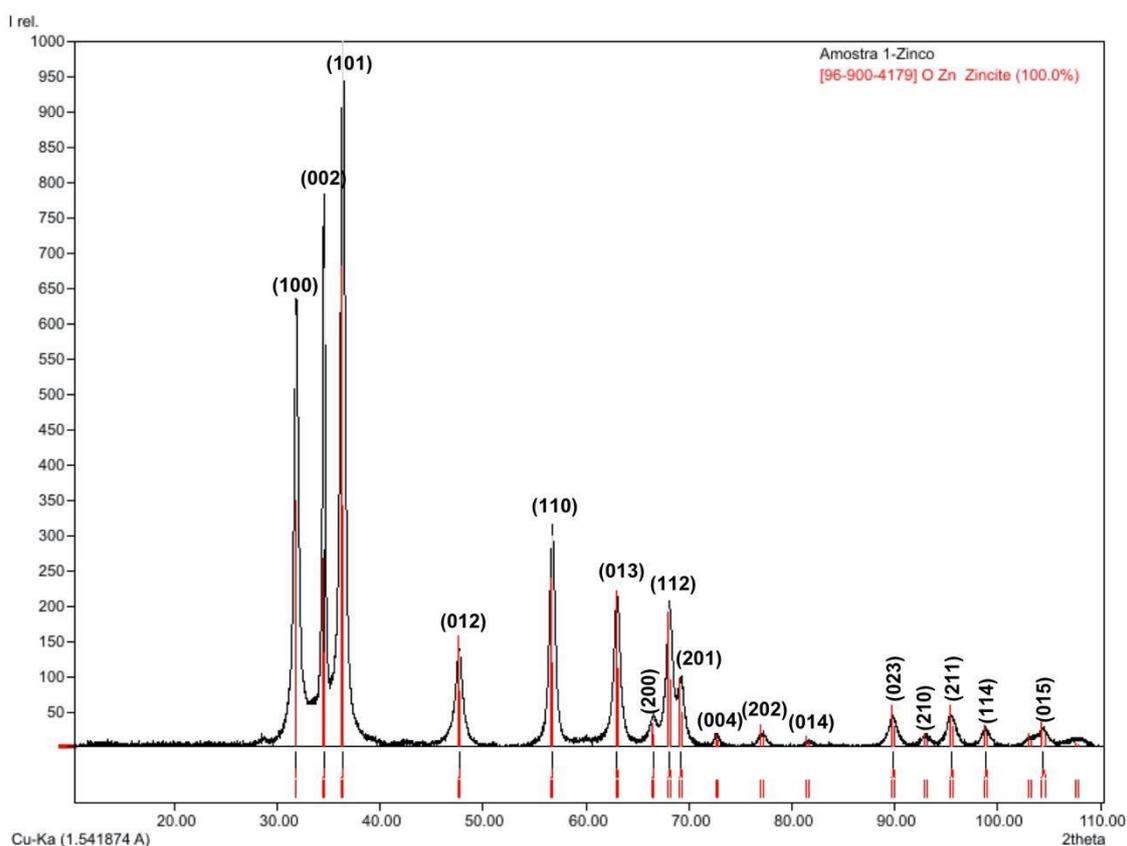
A seguir será apresentado no item 5.2. e 5.3. o resultado das caracterizações para uma amostra sintetizada pelo grupo de pesquisa em metodologia e condições semelhantes realizadas neste trabalho. Para esta amostra, utilizou-se cerca de 12 minutos de síntese por via sonoquímica. As outras variações de tempo deste trabalho ainda estão sendo caracterizadas. Mas pelos resultados prévios que já tivemos, a difração de raios X e a morfologia não são alterados com o tempo e a quantidade de NaOH adicionada por via sonoquímica, então acredita-se que nas demais amostras permaneça os mesmos resultados das caracterizações.



5.2. Difração de raios X (DRX)

A difração de raios X foi usada a fim de confirmar a formação da fase pura do ZnO. Conforme a figura 14, o material sintetizado apresenta apenas uma fase cristalina hexagonal.

Figura 14. Difração de raios X em pó do ZnO obtido por via sonoquímica.



Fonte: A autora.

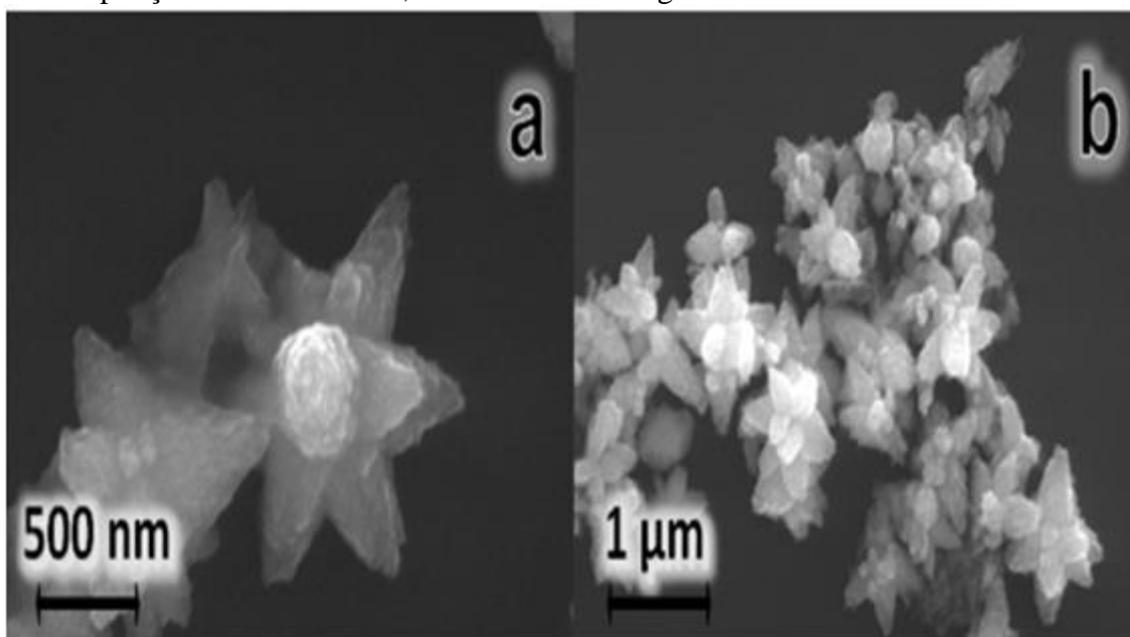
Comparou-se os picos de difração da amostra com o difratograma da carta cristalográfica PDF 96-900-4179. Observou-se que as intensidades dos picos levam para um material cristalino e as posições correspondem à estrutura cristalina hexagonal wurtzita. Os picos com maior intensidade foram observados no ângulo de difração 2θ igual a 31° , 34° e 36° correspondentes ao conjunto de planos (100), (002) e (101), respectivamente. Nenhum pico referente a qualquer impureza foi detectado.



5.3. Microscopia eletrônica de varredura por emissão de campo (FEG-MEV)

Com a técnica de microscopia eletrônica de varredura foi possível observar as informações morfológicas das nanopartículas. Nesse caso, as nanoestruturas de ZnO possuem o modelo estrelar com o tamanho médio em torno de 500 nm e possui distribuição uniforme, como observado na figura 15. Além disso, é possível notar que as estruturas estelares são formadas por um aglomerado de pequenas partículas que necessitam de uma microscopia de maior resolução, como por exemplo uma microscopia eletrônica de transição, para que seja determinado seu tamanho médio real.

Figura 15. Microscopia eletrônica de varredura por emissão de campo (FEG-MEV) do ZnO em morfologia de estrelas obtido por via sonoquímica. **(a)** Imagens de microscopia eletrônica de varredura com ampliação de 41 mil vezes, mostrando partículas com formato de estrelas de 500 nm em **(b)** Imagens de microscopia eletrônica de varredura com ampliação de 20 mil vezes, mostrando a homogeneidade do formato de estrelas.



Fonte: A autora.



5.4. Rendimentos

Os rendimentos obtidos nas sínteses de ZnO foram calculados pela fórmula 10:

$$\text{Rendimento (\%)} = \left(\frac{PE}{PT} \right) \times 100 \quad 10$$

onde PE é o peso experimental obtido de produto e PT é o peso teórico da amostra. Os rendimentos contidos na tabela 3 foram calculados baseando-se na transformação de 100% de nitrato de zinco em óxido de zinco.

Tabela 3. Rendimentos dos produtos obtidos.

Amostras	Rendimento (%)
ZnO5	69,88
ZnO10	72,83
ZnO15	66,78
ZnO20	65,30
ZnO30	64,65
ZnO50	62,19
ZnO100	57,28

Fonte: A autora.

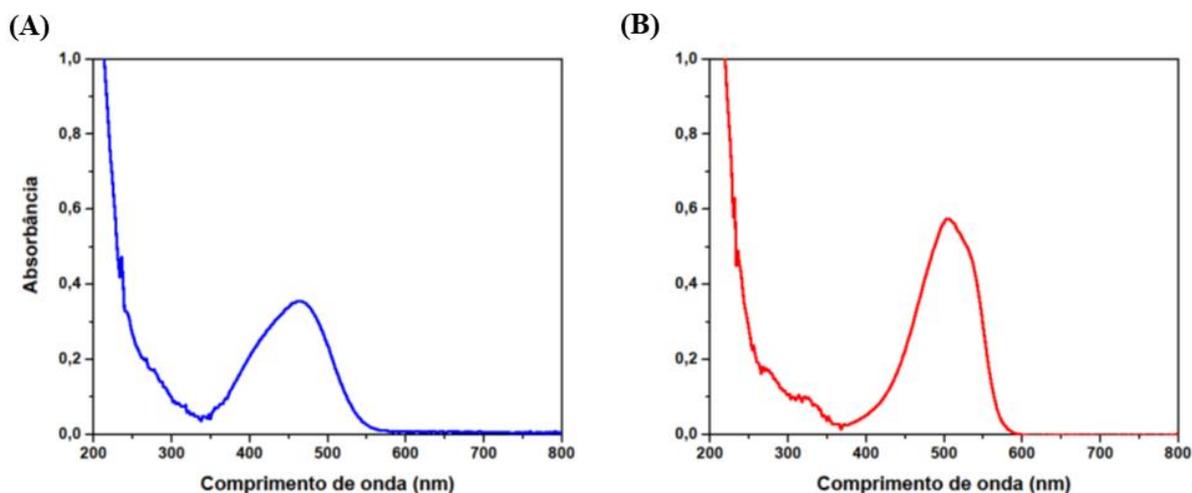
Observa-se regulares rendimentos dos produtos obtidos. Há fatores no decorrer do experimento que influenciam na diminuição do rendimento. Entre eles, pode-se citar as diversas lavagens, as raspagens das placas de Petri e as transferências de produto para os microtubos. Nota-se também a diminuição do rendimento com o acréscimo de hidróxido de sódio na reação.



5.5. Estudo da remoção de cor da solução do corante alaranjado de metila em meio ácido e neutro frente às nanopartículas de ZnO

O corante alaranjado de metila apresentou diferentes bandas de absorção máxima na região do UV-Vis de acordo com o pH do meio, apresentando 463 nm para pH 7 (figura 16A) e 506 nm para pH 3 (figura 16B).

Figura 16. Espectro UV-Vis para o alaranjado de metila. (A) Absorção máxima em 463 nm para a forma não protonada (pH 7) e em (B) 506 nm para a forma protonada (pH 3).



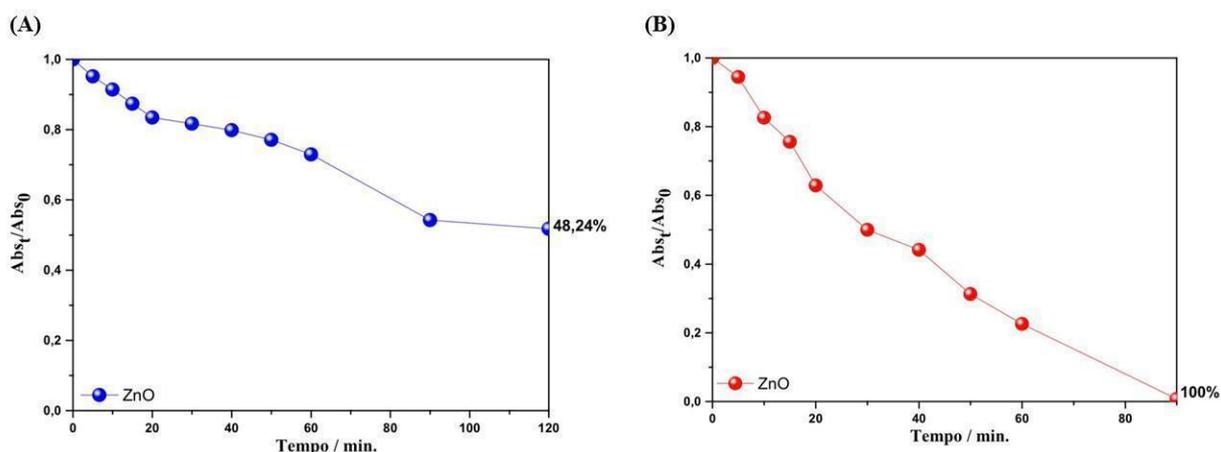
Fonte: A autora.

Após um tempo de reação, a coloração da solução de alaranjado de metila diminui gradativamente de intensidade com o tempo de exposição a luz, obtendo uma solução de coloração amarela, o que se atribui à ruptura da ligação azo.

A figura 17 representa a cinética do descoloramento da solução de alaranjado de metila tratados com ZnO5. Observa-se o decaimento da absorbância em função do aumento do tempo de irradiação das amostras para a descoloração do corante em pH 7 (figura 17A) e pH 3 (figura 17B). Os resultados sugeriram que a descoloração do alaranjado de metila é maior em pH 3 (~ 100%) em um tempo de aproximadamente 90 minutos. Quando comparado com o meio neutro, ocorreu menor descoloração do corante (~ 48,24%) em maior tempo de exposição (~ 120 minutos).

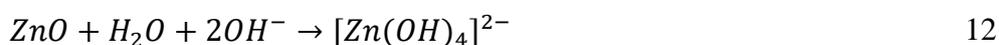


Figura 17. Decaimento da absorbância em função do tempo de reação para a descoloração da solução do corante alaranjado de metila em (A) pH 7 e (B) pH 3 utilizando ZnO5 como fotocatalisador.



Fonte: A autora.

Valores diferentes de pH, ou seja, a presença de íons H^+ ou OH^- na solução da reação pode efetivamente influenciar a eficiência fotocatalítica do ZnO. Neste experimento, ao adicionar a amostra de ZnO5 frente a solução de alaranjado de metila em pH 3, a amostra solubilizou-se na solução. Isto porque o ZnO é um óxido anfótero, ou seja, sofre a decomposição em ácidos fortemente ácidos ($pH < 4$) (equação 11) ou fortemente alcalino ($pH > 11$) (equação 12) (KUMAR; KUMAR; UMAR, 2014).



Portanto, a presença do íon Zn^{2+} favoreceu a taxa de 100% na degradação do alaranjado de metila no período de 90 minutos. Em meio levemente ácido, o radical livre perhidroxil ($HO_2\bullet$) pode formar peróxido de hidrogênio, que pode levar a formação do radical livre hidroxila ($\bullet OH$). Sob condição alcalina, o aumento da concentração de íons hidroxila (OH^-) pode induzir formação de radicais livres hidroxila ($\bullet OH$) (KUMAR; KUMAR; UMAR, 2014).



Já em pH neutro (aproximadamente 7), ao acrescentar a amostra de ZnO₅ na solução do corante, conseguia-se visualizar a amostra de ZnO no meio com o corante, indicando a presença do ZnO na sua fase sólida nas reações, obtendo 48% da descoloração da solução de alaranjado de metila em um período de 120 minutos.

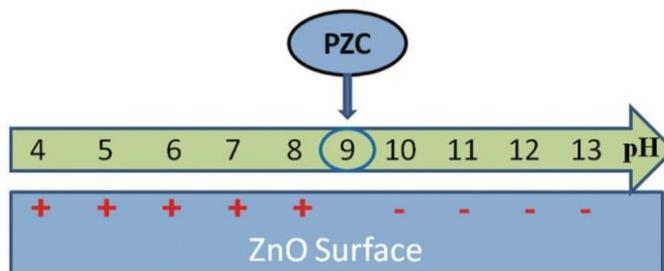
O processo fotocatalítico do ZnO é baseado na geração de pares elétron-buraco por meio de energia de *band gap*, na qual podem gerar reações redox com espécies adsorvidas na superfície do catalisador. Nestas reações, são formados os radicais livres hidroxila ($\bullet\text{OH}$) originados a partir da oxidação de OH^- ou H_2O com os pares elétron-buraco fotogenerados na presença de oxigênio. Geralmente, os radicais livres hidroxila ($\bullet\text{OH}$) são o responsável pela degradação dos corantes. Eles são fortes agentes oxidantes e podem oxidar os grupos responsáveis pela coloração dos corantes orgânicos, levando ao descoloramento (GHULE et al., 2011). Segue o provável mecanismo de formação de radicais livres de hidroxila no sistema contendo ZnO₅.



A interpretação exata é, no entanto, difícil porque afeta as interações eletrostáticas entre o corante e a superfície de ZnO e os radicais carregados ou neutros formados durante o processo de reação. A carga do ponto zero (denominada PZC) para ZnO é 9.0 ± 0.3 (como representado na figura 18) (KUMAR; KUMAR; UMAR, 2014).



Figura 18. As cargas superficiais das nanopartículas de ZnO em função do pH da solução de reação.



Fonte: (KUMAR; KUMAR; UMAR, 2014).

Quando o pH está abaixo de 9, a superfície de ZnO é carregada positivamente. Por outro lado, se o pH for menor que 5, a superfície do ZnO é coberta pelas moléculas do corante (GHULE et al., 2011; KUMAR; KUMAR; UMAR, 2014). Em pH acima de 9, a superfície do ZnO possui carga negativa, devido à adsorção de íons OH^- , o que favorece a formação do radical livre $\text{OH}\cdot$ e, portanto, o aprimoramento da eficiência fotocatalítica (GHULE et al., 2011). Neste experimento, comprovou-se que o ZnO pode atuar na descoloração da solução de corantes presentes em efluentes residuais independente do pH do meio tratado. Em pH muito ácido ou muito básico, ocorre a dissociação do ZnO, resultando em um processo de catálise homogêneo. Já em pH moderado (entre 5 e 10), o ZnO atua na sua forma sólida, formando assim um fotocatalisador heterogêneo.

5.6. Concentração Inibitória Mínima

O estudo da concentração inibitória mínima (CIM) é válido para a determinação da menor concentração de solução necessária que inibe o crescimento de microrganismos. Neste trabalho, a avaliação da capacidade antimicrobiana das nanopartículas de ZnO30 contra os isolados clínicos, apresentaram valores de CIMs variando de $4300 \mu\text{g mL}^{-1}$ a $268,75 \mu\text{g mL}^{-1}$ dependendo da cepa bacteriana analisada (bactérias Gram-negativas), conforme a tabela 1.



Tabela 4. Concentração inibitória mínima de ZnO30 frente a diferentes culturas bacterianas.

Culturas Bacterianas	Concentração Inibitória Mínima
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	2150 $\mu\text{g mL}^{-1}$
<i>Klebsiella pneumonia</i> produtora de OXA-48	268,75 $\mu\text{g mL}^{-1}$
<i>Klebsiella pneumonia</i> produtora de KPC	-----
<i>Klebsiella pneumoniae</i> com alteração no gene <i>mgrB</i>	4300 $\mu\text{g mL}^{-1}$
<i>Acinetobacter baumannii</i> produtora de OXA-143	268,75 $\mu\text{g mL}^{-1}$
<i>Serratia marcescens</i> produtora de KPC	1075 $\mu\text{g mL}^{-1}$
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> produtora de GES	-----

Fonte: A autora.

As menores CIMs observadas foram contra *Acinetobacter baumannii* produtora de OXA-143 (268,75 $\mu\text{g mL}^{-1}$) e *Klebsiella pneumonia* produtora de OXA-48 (268,75 $\mu\text{g mL}^{-1}$). Seguidos de *Serratia marcescens* produtora de KPC (1075 $\mu\text{g mL}^{-1}$), *Escherichia coli* ATCC 25922 (2150 $\mu\text{g mL}^{-1}$) e *Klebsiella pneumoniae* com alteração no gene *mgrB* (4300 $\mu\text{g mL}^{-1}$).

Na literatura encontram-se alguns mecanismos para explicar a ação do ZnO quanto as suas características bactericidas. Dentre os mecanismos de ação biológica do ZnO podemos citar a geração de espécies reativas de oxigênio (ERO) (SIRELKHATIM et al., 2015). Essas espécies reativas de oxigênio podem levar ao dano no DNA, proteínas, lipídeos e minerais, resultando em supressão do crescimento e, finalmente, morte celular (KRÓL et al., 2019). A produção das espécies reativas do oxigênio pode aumentar até quatro vezes nos meios contendo *Acinetobacter baumannii* com a presença das nanopartículas de ZnO, em comparação com a cultura não tratada. Este aumento na geração de espécies reativas de oxigênio leva há muitos efeitos nas bactérias, entre elas, pode-se citar a peroxidação lipídica. A estimativa mostrou que existem uma elevação na peroxidação lipídica após o tratamento com ZnO. Essa peroxidação lipídica afeta a integridade das membranas das bactérias.



Outro mecanismo proposto leva em consideração a liberação de íons Zn^{2+} na membrana celular, o que inibe o crescimento bacteriano (PRASAD et al., 2020). O lançamento de íons de Zn^{2+} tem efeito significativo na inibição ativa do transporte, bem como no metabolismo de aminoácidos e no sistema enzimático (YANG et al., 2009)

As nanopartículas de ZnO também podem causar a ruptura das membranas celulares, quando as nanopartículas de ZnO penetram na bactéria. A internalização é controlada conforme o tamanho da partícula. Outra possibilidade para a atividade bacteriana das nanopartículas de ZnO consiste na interação eletrostática entre as nanopartículas e os bacilos da superfície celular. A inibição do crescimento ocorre devido a geração de carga total negativa bacteriana, devido à formação cessante de grupos carboxila separados (STOIMENOV et al., 2002).

Para a bactéria *Escherichia coli*, a CIM está entre as mais elevadas. No estudo de Mohr et al. (MOHR et al., 2019), utilizando a técnica de microdiluição em caldo, não ocorreu inibição de células microbianas em nenhuma das concentrações estudadas (até $3133,3 \mu\text{g mL}^{-1}$) frente as nanopartículas de ZnO. O resultado obtido em nosso trabalho torna-se ainda mais interessante, pois atingimos a CIM de ZnO para a *Escherichia coli* na concentração de $2150 \mu\text{g mL}^{-1}$.

Nas concentrações avaliadas neste estudo, as nanopartículas de ZnO30 não apresentaram resultados inibitórios contra os isolados de *Klebsiella pneumoniae* produtora de KPC e *Pseudomonas aeruginosa* produtora de GES. Porém, não é possível afirmar que as nanopartículas de ZnO não apresentam atividade antimicrobiana em concentrações maiores para essas bactérias, portanto, propõe-se que a concentração inibitória pode ser maior que $4300 \mu\text{g mL}^{-1}$. Entretanto, os resultados destacados nas pesquisas (REYES-TORRES et al., 2019; VIJAYAKUMAR et al., 2020) corroboram com os resultados do estudo apresentado para *Pseudomonas aeruginosa*, visto que as mesmas frente as nanopartículas de ZnO também não apresentaram atividade bactericida.



6. CONCLUSÃO

A síntese de nanopartículas via sonoquímica apresenta uma metodologia de fácil aplicabilidade e baixo custo, visto que houve a eliminação da necessidade de solventes caros e de alta pureza, assim como a utilização de instrumentação simplificada. A síntese via sonoquímica das nanopartículas de ZnO apresentaram tempo reduzido (entre 2 e 15 minutos) quando comparado com demais metodologias apresentadas na literatura, devido a diminuição do número de etapas de síntese. Nesta metodologia de síntese não se utilizou tratamento térmico. Obteve-se maior rendimento para a amostra ZnO10 com a taxa de 72,83% e o menor para a amostra ZnO100 57,28%.

A partir do trabalho realizado por este grupo de pesquisa, as caracterizações do DRX sugerem a formação de um material puro e homogêneo. Com os resultados obtidos da técnica do FEG-MEV observou-se a formação de nanopartículas em formato de estrelas.

A técnica de difração de raios X para confirmação da pureza e da fase formada de ZnO, a microscopia eletrônica de varredura por emissão de campo para visualização da morfologia e a análise termogravimétrica para verificar o comportamento térmico dos pós obtidos estão sendo realizados na Universidade Federal de São Carlos (UFSCar), visto a .

A atividade fotocatalítica das nanopartículas de ZnO5 frente a solução do corante alaranjado de metila foi comprovada, na qual obteve-se 100% da descoloração quando o meio estava em pH 3, com tempo de aproximadamente 90 minutos. Já em meio neutro ocorreu apenas 48,24% da diminuição da descoloração da solução, e em maior tempo de exposição, aproximadamente 120 minutos.

A atividade bacteriostática das nanopartículas de ZnO30, ou seja, a inibição da multiplicação foi confirmada para cinco diferentes culturas bacterianas neste estudo. As nanopartículas de ZnO apresentaram valores de CIMs variando de 4300 $\mu\text{g mL}^{-1}$ a 268,75 $\mu\text{g mL}^{-1}$, dependendo da cultura bacteriana analisada. As menores CIMs observadas foram de 268,75 $\mu\text{g mL}^{-1}$ contra *Acinetobacter baumannii* produtora de OXA-143 e *Klebsiella pneumonia* produtora de OXA-48.



REFERÊNCIAS

- ACQUA, N. D. Preparação e Caracterização de Filmes Nanoestruturados Suportados em Membrana de Celulose contendo Nanopartículas de Au e TiO₂ para Produção de H₂. **Dissertação de Mestrado em Engenharia e Ciência dos Materiais. Universidade de Caxias do Sul, RS**, 2013.
- AHMADIPOUR, M. et al. Effects of deposition time on properties of CaCu₃Ti₄O₁₂ thin film deposited on ITO substrate by RF magnetron sputtering at ambient temperature. **Ceramics International**, v. 44, n. 15, p. 18817–18820, 2018.
- ALBUQUERQUE, A. K. C. DE. Síntese de Nanoestruturas de ZnO e TiO₂ Via Método Sol-Gel Proteico e Reação de Combustão para Aplicação em Fotoproteção. **Trabalho de Conclusão de Curso em Engenharia de Materiais. Universidade Federal de Paraíba. João Pessoa, PB**, 2018.
- ALCÂNTARA, I. L.; SIMÕES, M. J. S.; FARACHE FILHO, A. Variação Da Concentração De Bactérias Indicadoras De Contaminação Fecal Nas Diversas Fases Do Processo De Tratamento De Água De Abastecimento Público Da Cidade De Araraquara - São Paulo. **Holos Environment**, v. 1, n. 2, p. 214–227, 2001.
- ALHASSANI, H. A.; RAUF, M. A.; ASHRAF, S. S. Efficient microbial degradation of Toluidine Blue dye by *Brevibacillus* sp. **Dyes and Pigments**, v. 75, n. 2, p. 395–400, 2007.
- AMORIM, C. C. DE; LEÃO, M. M. D.; MOREIRA, R. DE F. P. M. Comparação entre diferentes processos oxidativos avançados para degradação de corante azo. **Engenharia Sanitaria e Ambiental**, v. 14, n. 4, p. 543–550, 2009.
- BALBANI, A. P. S.; BUTUGAN, O. Contaminação biológica de alimentos. **Pediatria**, v. 23, n. 4, p. 320–328, 2001.
- BARNALI, A. A Detail investigation to observe the effect of zinc oxide and Silver nanoparticles in biological system. **M.Sc. (Roll NO-607bm004), National Institute of Technology**, 2011.
- BEHNAJADY, M. A.; MODIRSHAHLA, N.; HAMZAVI, R. Kinetic study on photocatalytic degradation of C.I. Acid Yellow 23 by ZnO photocatalyst. **Journal of Hazardous Materials**, v. 133, n. 1–3, p. 226–232, 2006.
- BONA, M. D. Infecção por *Shigella/Escherichia coli* Enteroinvasiva, Genes de Virulência e Copatógenos em Crianças de Estudo Caso-Controlle no Semiárido Brasileiro.



Dissertação de Mestrado em Ciências Médicas. Universidade Federal do Ceará. Fortaleza, CE, 2018.

BORTOLINI, B. L. Síntese e Caracterização de Óxido de Zinco Nanoparticulado, Preparado Via Método Sol-Gel, Aplicado como Catalisador na Degradação de Cloridrato de Ciprofloxacino. **Dissertação de Mestrado em Ciências Ambientais. Universidade Estadual do Oeste do Paraná. Toledo, PR, 2017.**

BU, I. Y. Y. Sol-gel synthesis of p-type zinc oxide using potassium permanganate. **Optik**, v. 179, p. 259–265, 2018.

CADORIN, B. M. Degradação do Corante Alaranjado de Metila por Plasma Frio de Descarga Corona. **Universidade Federal de Santa Catarina. Florianópolis, SC, 2009.**

CÂMARA, A. M. Corantes Azo: Características Gerais, Aplicações e Toxicidade.

Trabalho de Conclusão de Curso em Nutrição. Universidade Federal do Rio Grande do Norte. Natal, 2017.

CAUDURO, A. L. F. Síntese, Fotoluminescência e Caracterização Elétrica de Nanoestruturas de ZnO. **Dissertação de Mestrado em Microeletrônica. Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre, RS, 2012.**

CHATEL, G. Sonochemistry in nanocatalysis: The use of ultrasound from the catalyst synthesis to the catalytic reaction. **Current Opinion in Green and Sustainable Chemistry**, v. 15, p. 1–6, 2019.

CHEGENI, M.; POUR, S. K.; DIZAJI, B. F. Synthesis and characterization of novel antibacterial Sol-gel derived TiO₂/Zn₂TiO₄/Ag nanocomposite as an active agent in Sunscreens. **Ceramics International**, v. 45, n. 18, p. 24413–24418, 2019.

CHILITI, T. et al. Síntese de Óxido de Zinco pelo Método dos Precursores Poliméricos e Avaliação de Parâmetros de Síntese no Controle de Formação de Fase. **Embrapa Instrumentação. São Carlos, SP, p. 551–554, 2017.**

CHU, J. H. et al. Antimicrobial characteristics in Cu-containing Zr-based thin film metallic glass. **Surface and Coatings Technology**, v. 259, p. 87–93, 2014.

CORTESE, S.; BERNARDINA, B. D.; MOUREN, M.-C. Detection Of Active Oxygen Generated From Ceramic Powders Having Antibacterial Activity. **Nutrition Reviews**, v. 29, n. 4, p. 627–633, 1996.

COSTA, A. C. F. et al. Avaliação do tamanho da partícula do ZnO obtido pelo método



- Pechini. **Revista Eletrônica de Materiais e Processos**, v. 2, n. 3, p. 14–19, 2007.
- COSTA, B. C. Processamento Sonoquímico de Materiais Mesoestruturados de Óxido de Zinco Dopados com Terras-Raras. **Dissertação de Mestrado em Ciência e Tecnologia de Materiais. Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho. Bauro, SP, 2014.**
- CRUZ, L. R. et al. Propriedades de filmes finos de ZnO:Al depositados sobre substratos de poliimida à temperatura ambiente para aplicações em dispositivos optoeletrônicos flexíveis. **Cerâmica**, v. 63, p. 162–168, 2017.
- DADI, R. et al. Antibacterial activity of ZnO and CuO nanoparticles against gram positive and gram negative strains. **Materials Science and Engineering C**, v. 104, n. 109968, 2019.
- DUTRA, L. G. B. et al. Prevalência de contaminação bacteriana em estetoscópios. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, v. 72, n. 2, p. 155, 2013.
- FATTOBENE, A. L. E. Aplicação de ZnO nanoestruturado na agricultura. **Dissertação de mestrado em Química. Universidade Federal de São Carlos. São Carlos, SP, 2011.**
- FISCHER, D. C. H. Contaminação Microbiana em Medicamentos Fitoterápicos sob a Forma Sólida. **Dissertação de Mestrado em Fármaco e Medicamentos. Universidade de São Paulo. São Paulo, SP, 1992.**
- FORGACS, E.; CSERHÁTI, T.; OROS, G. Removal of synthetic dyes from wastewaters: A review. **Environment International**, v. 30, n. 7, p. 953–971, 2004.
- FU, Y. Q. et al. Recent developments on ZnO films for acoustic wave based bio-sensing and microfluidic applications: a review. **Sensors and Actuators**, v. 143, n. 2, p. 606–619, 2010.
- GHULE, L. A. et al. Photocatalytic degradation of methyl orange using ZnO nanorods. **Toxicological and Environmental Chemistry**, v. 93, n. 4, p. 623–634, 2011.
- GIRALDI, T. R. et al. Utilização de partículas de ZnO:Mn para a degradação do azul de metileno por processo de fotocatalise. **Cerâmica**, v. 62, n. 364, p. 345–350, 2016.
- GUNALAN, S.; SIVARAJ, R.; RAJENDRAN, V. Green synthesized ZnO nanoparticles against bacterial and fungal pathogens. **Progress in Natural Science: Materials International**, v. 22, n. 6, p. 693–700, 2013.
- HAN, X. et al. Properties of nanocrystalline zinc oxide thin films prepared by thermal decomposition of electrodeposited zinc peroxide. **Thin Solid Films**, v. 516, n. 12, p. 4025–



4029, 2008.

HAO, N. et al. Microfluidics-enabled rational design of ZnO micro-/nanoparticles with enhanced photocatalysis, cytotoxicity, and piezoelectric properties. **Chemical Engineering Journal**, v. 378, p. 122222, 2019.

HASNIDAWANI, J. N. et al. Synthesis of ZnO Nanostructures Using Sol-Gel Method. **Acta Physica Polonica A**, v. 19, p. 211–216, 2016.

HIRATSUKA, R. S.; SANTILLI, C. V.; PULCINELLI, S. H. O Processo Sol-gel: Uma Visão Físico-Química. **Química Nova**, v. 18, n. 2, p. 171–180, 1995.

JULSON, A. J.; OLLIS, D. F. Kinetics of dye decolorization in an air-solid system. **Applied Catalysis B: Environmental**, v. 65, n. 3–4, p. 315–325, 2006.

KONAN, F. K. et al. Influence of the precursor concentration on the morphological and structural properties of zinc oxide (ZnO). **Materials Chemistry and Physics**, 2018.

KRÓL, A. et al. Phytochemical investigation of *Medicago sativa* L. extract and its potential as a safe source for the synthesis of ZnO nanoparticles: The proposed mechanism of formation and antimicrobial activity. **Phytochemistry Letters**, v. 31, p. 170–180, 2019.

KUMAR, R.; KUMAR, G.; UMAR, A. Zinc oxide nanomaterials for photocatalytic degradation of methyl orange: A review. **Nanoscience and Nanotechnology Letters**, v. 6, n. 8, p. 631–650, 2014.

LAHMAR, H. et al. On the electrochemical synthesis and characterization of p-Cu₂O/n-ZnO heterojunction. **Journal of Alloys and Compounds**, v. 718, p. 36–45, 2017.

LIANG, S. et al. Synthesis of morphology-controlled ZnO microstructures via a microwave-assisted hydrothermal method and their gas-sensing property. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 21, n. 4, p. 1335–1342, 2014.

LONGO, E.; PORTA, F. DE A. LA. Recent Advances in Complex Functional Materials. **Springer International**, 2017.

MASSAD, E.; ROZMAN, M. Avaliação da contaminação bacteriana em desinfetantes de uso domiciliar. **Revista de Saúde Pública Journal of Public Health**, v. 34, n. 5, p. 444–448, 2000.

MAYRINCK, C. et al. Síntese, propriedades e aplicações de óxido de zinco nanoestruturado. **Revista Virtual de Química**, v. 6, n. 5, p. 1185–1204, 2014.

MCCLURE, E. L.; HUBBARD, S. M. The effects of silicon substrate thickness and



- annealing temperature on surface coverage for aluminum-induced crystallization of germanium films. **Materials Science in Semiconductor Processing**, v. 94, p. 22–27, 2019.
- MIRZA, E. H. et al. Polyoctanediol citrate-zinc oxide nano-composite multifunctional tissue engineering scaffolds with anti-bacterial properties. **Digest Journal of Nanomaterials and Biostructures**, v. 10, n. 2, p. 415–428, 2015.
- MOHR, L. C. et al. Efeito antimicrobiano de nanopartículas de ZnO E TiO₂ frente as bactérias *S. aureus* e *E. coli*. **Revista do Congresso Sul Brasileiro de Engenharia de Alimentos**, v. 3, n. 1, p. 01–10, 2019.
- MOTA, R. A. et al. Utilização indiscriminada de antimicrobianos e sua contribuição a multirresistência bacteriana. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science. São Paulo**, v. 42, n. 6, p. 465–470, 2005.
- MOURÃO, H. A. J. L. et al. Nanoestruturas em Fotocatálise: Uma Revisão Sobre Estratégias de Síntese de Fotocatalisadores em Escala Nanométrica. **Química Nova**, v. 32, n. 8, p. 2181–2190, 2009.
- MOUSAVI-KAMAZANI, M. Facile sonochemical-assisted synthesis of Cu/ZnO/Al₂O₃ nanocomposites under vacuum: Optical and photocatalytic studies. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 58, p. 104636, 2019.
- NARDI, A. F.; BROCCHI, E. A.; SIQUEIRA, R. N. C. Obtenção de filmes de níquel em substratos de alumínio. **Sensors and Actuators**, v. 143, n. 2, p. 606–619, 2010.
- NING, Z.; DEQING, C. Fabrication of flower-like hierarchical ZnO nanostructures with enhanced photocatalytic activity. **Surfaces and Interfaces journal**, v. 14, n. 399, p. 251–255, 2019.
- OLIVEIRA, A. C.; DAMASCENO, Q. S. Superfícies do ambiente hospitalar como possíveis reservatórios de bactérias resistentes: Uma revisão. **Revista da Escola de Enfermagem**, v. 44, n. 4, p. 1118–1123, 2010.
- PACHECO, Y. V. Influência da Temperatura e da Pressão de Tratamento Térmico na Fotoluminescência do ZnO. **Dissertação de Mestrado em Engenharia e Ciências dos Materiais. Universidade Estadual de Ponta Grossa. Ponta Grossa, PR**, 2019.
- PANDURANGAN, M.; KIM, D. H. In vitro toxicity of zinc oxide nanoparticles: a review. **Journal of Nanoparticle Research**, v. 17, n. 3, 2015.



- PECHINI, M. P. Barium Titanium Citrate, Barium Titanate and Processes for Producing Same. **United States Patent Office**, 1966.
- PRASAD, A. R. et al. Investigation on Bovine Serum Albumin (BSA) binding efficiency and antibacterial activity of ZnO nanoparticles. **Materials Chemistry and Physics**, v. 240, n. 122115, 2020.
- PREMANATHAN, M. et al. Selective toxicity of ZnO nanoparticles toward Gram-positive bacteria and cancer cells by apoptosis through lipid peroxidation. **Nanomedicine: Nanotechnology, Biology, and Medicine**, v. 7, n. 2, p. 184–192, 2011.
- RAGHUPATHI, K. R.; KOODALI, R. T.; MANNA, A. C. Size-dependent bacterial growth inhibition and mechanism of antibacterial activity of zinc oxide nanoparticles. **Langmuir**, v. 27, n. 7, p. 4020–4028, 2011.
- REYES-TORRES, M. A. et al. Synthesis of CuO and ZnO nanoparticles by a novel green route: Antimicrobial activity, cytotoxic effects and their synergism with ampicillin. **Ceramics International**, v. 45, n. 18, p. 24461–24468, 2019.
- SABINO, M. E. L. Desenvolvimento de filmes finos de óxidos condutores e transparentes de ZnO para aplicação em células solares. **Dissertação de Mestrado em Engenharia de Materiais. Universidade Federal de Ouro Preto. Ouro Preto, MG**, 2007.
- SANTOS DE QUEIROZ, N. A Resistência Bacteriana no Contexto da Infecção Hospitalar. **Texto & Contexto Enfermagem**, v. 13, p. 64–70, 2004.
- SEO, J.; SON, J. Y.; KIM, W. H. Piezoelectric and ferroelectric characteristics of P(VDF-TrFE) thin films on Pt and ITO substrates. **Materials Letters**, v. 238, p. 237–240, 2019.
- SEQUINEL, T. Determinação das Propriedades Mecânicas e Caracterização de Filme Fino Produzido por Impregnação Forçada. **Dissertação de Mestrado em Engenharia e Ciências de Materiais. Universidade Estadual de Ponta Grossa. Ponta Grossa, PR**, p. 153–164, 2008.
- SERPONE, N.; COLARUSSO, P. Sonochemistry I. Effects of Ultrasound on Heterogeneous Chemical Reactions - A Useful Tool to Generate Radicals and to Examine Reaction Mechanisms. **Res. Chem. Intermed Vol.**, v. 20, n. 6, p. 635–679, 1994.
- SHEN, Y. et al. Improvement of diagnostic techniques and electrical circuit in azo dye degradation by high voltage electrical discharge. **Energy Conversion and Management**, v. 49, n. 8, p. 2254–2263, 2008.



- SHOKRY HASSAN, H. et al. Synthesis, characterization and fabrication of gas sensor devices using ZnO and ZnO:In nanomaterials. **Beni-Suef University Journal of Basic and Applied Sciences**, v. 3, n. 3, p. 216–221, 2014.
- SIRELKHATIM, A. et al. Review on zinc oxide nanoparticles: Antibacterial activity and toxicity mechanism. **Nano-Micro Letters**, v. 7, n. 3, p. 219–242, 2015.
- SOTO, F. R. M. et al. Contaminação bacteriana e fúngica de canudos de refrigerantes e seus recipientes em lanchonetes de município do interior de São Paulo. **Revista de Nutricao. Campinas**, v. 22, n. 6, p. 887–894, 2009.
- STANCHIK, A. V. et al. Effects of selenization time and temperature on the growth of Cu₂ZnSnSe₄ thin films on a metal substrate for flexible solar cells. **Solar Energy**, v. 178, n. 2019, p. 142–149, 2019.
- STARÁ, Z. et al. Organic dye decomposition by DC diaphragm discharge in water: Effect of solution properties on dye removal. **Desalination**, v. 239, n. 1–3, p. 283–294, 2009.
- STOIMENOV, P. K. et al. Metal oxide nanoparticles as bactericidal agents. **Langmuir**, v. 18, p. 6679–6686, 2002.
- THOMPSON, L. H.; DORAISWAMY, L. K. Sonochemistry: Science and Engineering. **Industrial e Engineering Chemistry**, v. 38, p. 1215–1249, 1999.
- TIWARI, V. et al. Mechanism of anti-bacterial activity of zinc oxide nanoparticle against Carbapenem-Resistant *Acinetobacter baumannii*. **Frontiers in Microbiology**, v. 9, p. 1–10, 2018.
- TORTORA, G. J.; FUNKE, B. R.; CASE, C. L. Microbiologia. **Porto Alegre: Artmed**, p. 894, 2005.
- VALENÇA, C. P. V. Caracterização De Nanofilmes De Óxido De Zinco Para Detecção De Feixe De Raios X Diagnóstico. **Dissertação de Mestrado em Ciências. Universidade Federal de Pernambuco. Recife, PE**, 2013.
- VAUGHN, N. Investigação de Métodos de Síntese de Nanobastões de ZnO para Aplicação em Dispositivos Piezoelétricos. **Dissertação de Mestrado em Química. Universidade Estadual de Campinas. Campinas, SP**, 2012.
- VIDHYA, E. et al. Green way biosynthesis: Characterization, antimicrobial and anticancer activity of ZnO nanoparticles. **Gene Reports**, v. 20, n. 20, 2020.
- VIEIRA, M. S. Desenvolvimento de Sensores de Gases Tóxicos com Filme de ZnO



Usando o Método de Implantação Iônica por Imersão em Plasma e Deposição. **Tese de Doutorado em Engenharia e Tecnologia Espaciais / Ciência e Tecnologia de Materiais e Sensores. Instituto Nacional de Pesquisas Espaciais. São José dos Campos, 2015.**

VIJAYAKUMAR, S. et al. Acalypha fruticosa L. leaf extract mediated synthesis of ZnO nanoparticles: Characterization and antimicrobial activities. **Materials Today: Proceedings**, v. 23, p. 73–80, 2020.

WARBURG, O. On the origin of cancer cells. **Science**, v. 123, n. 3191, p. 309–314, 1956.

WOOD, LEE, B. A parametric review of sonochemistry: Control and augmentation of sonochemical activity in aqueous solutions. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 38, p. 351–370, 2017.

XIE, Y. et al. Antibacterial activity and mechanism of action of zinc oxide nanoparticles against *Campylobacter jejuni*. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 77, n. 7, p. 2325–2331, 2011.

YANG, H. et al. Comparative study of cytotoxicity, oxidative stress and genotoxicity induced by four typical nanomaterials: The role of particle size, shape and composition. **Journal of Applied Toxicology**, v. 29, n. 1, p. 69–78, 2009.

YOSHIMURA, M.; BYRAPPA, K. Hydrothermal processing of materials: Past, present and future. **Journal of Materials Science**, v. 43, n. 7, p. 2085–2103, 2007.

ZANOTTO, G. Propriedades Ópticas E Estruturais De Óxido de Zinco Contendo Enxofre. **Dissertação de Mestrado em Química. Universidade Estadual De Campinas. Campinas, SP, 2012.**

ZHANG, H. et al. P25-Graphene Composite as a High Performance Photocatalyst. **ACSNANO**, v. 4, n. 1, p. 224, 2010.

ZHANG, L. et al. Investigation into the antibacterial behaviour of suspensions of ZnO nanoparticles (ZnO nanofluids). **Journal of Nanoparticle Research**, v. 9, n. 3, p. 479–489, 2007.

ZHANG, L. et al. ZnO nanofluids-A potential antibacterial agent. **Progress in Natural Science**, v. 18, n. 8, p. 939–944, 2008.

ZHANG, S. et al. Residual stress and warpage of AMB ceramic substrate studied by finite element simulations. **Microelectronics Reliability**, v. 98, n. 2019, p. 49–55, 2019.



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
FUNDAÇÃO UNIVERSIDADE FEDERAL DA GRANDE
DOURADOS
FACULDADE DE CIÊNCIAS EXATAS E TECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
FUNDAÇÃO UNIVERSIDADE FEDERAL DA GRANDE DOURADOS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA / FACET
ATA DA DEFESA DE DISSERTAÇÃO DE MESTRADO APRESENTADA POR
GRAZIELE WEIRICH AKUCEVICIUS, ALUNA DO PROGRAMA DE PÓS-
GRADUAÇÃO EM QUÍMICA.

Aos vinte e quatro dias do mês de junho de dois mil e vinte e um, às 19 horas, em sessão remota, realizou-se a Defesa de Dissertação de Mestrado intitulada “Síntese de ZnO via reação de precipitação química acelerada pela sonoquímica, e sua aplicação em filmes finos” apresentada pela mestranda **Graziele Weirich Akucevicius**, do Programa de Pós-Graduação em Química, à Banca Examinadora constituída pelos membros: Prof. Dr. Thiago Sequinel/UFGD (presidente/orientador), Prof. Dr. Tiago André Denck Colman/UFGD, Profa. Dra. Luciana Nuñez/UFGD. Iniciados os trabalhos, a presidência deu a conhecer à candidata e aos integrantes da Banca as normas a serem observadas na apresentação da Dissertação. Após a candidata ter apresentado a sua Dissertação, os componentes da Banca Examinadora fizeram suas arguições. Terminada a Defesa, a Banca Examinadora, em sessão secreta, passou aos trabalhos de julgamento, tendo sido a candidata considerada APROVADA, fazendo jus ao título de MESTRE EM QUÍMICA. Após a avaliação o título da dissertação foi modificado passando a ser “**Síntese de ZnO via reação de precipitação química acelerada pela sonoquímica e sua aplicação fotocatalítica e antimicrobiana**” conforme julgamento da Banca Examinadora. Os membros da banca abaixo citados atestam que participaram de forma remota desta defesa de dissertação, considerando a candidata APROVADA, conforme declaração anexa.

Dourados, 24 de junho de 2021.

Prof. Dr. Thiago Sequinel (participação remota síncrona)

Prof. Dr. Tiago André Denck Colman (participação remota síncrona)

Profa. Dra. Luciana Nuñez (participação remota síncrona)

ATA HOMOLOGADA EM: __/__/__, PELA PRÓ-REITORIA DE ENSINO DE PÓS-
GRADUAÇÃO E PESQUISA / UFGD.

Pró-Reitoria de Ensino de Pós-Graduação e Pesquisa

Assinatura e Carimbo



**MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
FUNDAÇÃO UNIVERSIDADE FEDERAL DA GRANDE
DOURADOS
FACULDADE DE CIÊNCIAS EXATAS E TECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA**
