

**UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ**

**CEDRIC VINICIUS FERREIRA SILVA**

**AVALIAÇÃO DE NANOPARTÍCULAS DE ZnO, CuO E Cu<sub>2</sub>O COMO AGENTE  
ANTIMICROBIANO**

**PONTA GROSSA**

**2022**

**CEDRIC VINICIUS FERREIRA SILVA**

**AVALIAÇÃO DE NANOPARTÍCULAS DE ZnO, CuO E Cu<sub>2</sub>O COMO AGENTE  
ANTIMICROBIANO**

Trabalho de conclusão de curso de graduação apresentado como requisito para obtenção do título de Bacharel em Engenharia Química da Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR).

Orientador: Prof. Dr. Sergio Mazurek Tebcherani.

Coorientadora: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Maria Carolina de Oliveira Ribeiro.

**PONTA GROSSA**

**2022**



[4.0 Internacional](https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/)

Esta licença permite remixe, adaptação e criação a partir do trabalho, para fins não comerciais, desde que sejam atribuídos créditos ao(s) autor(es) e que licenciem as novas criações sob termos idênticos. Conteúdos elaborados por terceiros, citados e referenciados nesta obra não são cobertos pela licença.

**CEDRIC VINICIUS FERREIRA SILVA**

**AVALIAÇÃO DE NANOPARTÍCULAS DE ZNO, CUO E CU<sub>2</sub>O COMO AGENTE  
ANTIMICROBIANO**

Trabalho de Conclusão de Curso de  
Graduação apresentado como requisito para obtenção  
do título de Bacharel em Engenharia Química da  
Universidade Tecnológica Federal do Paraná  
(UTFPR).

Data de aprovação: Dia/mês por extenso/ano

---

Sérgio Mazurek Tebcherani

Doutorado

Universidade Tecnológica Federal do Paraná

---

Juliana Vitória Messias Bittencourt

Doutorado

Universidade Tecnológica Federal do Paraná

---

Simone Delezuk Inglez

Doutorado

Universidade Tecnológica Federal do Paraná

**PONTA GROSSA**

**2022**

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço primeiramente a toda minha a família, em especial meus pais, Delazir e Solange, por todo suporte e apoio e me deram durante toda a minha graduação e que não pouparam esforços para me proporcionar as melhores condições para que eu pudesse seguir por toda a graduação.

Aos meus orientadores Sergio Mazurek Tebcherani e Maria Carolina de Oliveira Ribeiro, por me acolherem como aluno, pela paciência, pelos ensinamentos, pela confiança em mim e por toda a oportunidade que me proporcionaram para a realização deste trabalho.

A minha namorada, Mayana, por toda cumplicidade, companheirismo, carinho e suporte no momento finais da minha graduação.

A todos meus companheiros de universidade, em especial, Emanuelle Iaroczinski e Lara Krause, que me deram todo o suporte e apoio, e que proporcionaram momentos únicos de companheirismo e alegria durante todo meu período na graduação.

Aos colegas do laboratório de microbiologia, especialmente, Leticia Cabral e Maria Fernanda, que me proporcionaram diversos conhecimentos e auxílios.

A todos aqueles que contribuíram, de alguma forma, para a realização deste trabalho e finalização da minha graduação.

Escrever é talvez a maior das invenções humanas, unindo pessoas, cidadãos de épocas distantes, que nunca se conheceram. Os livros quebram os grilhões do tempo - prova de que os humanos podem trabalhar com magia.  
(Carl Sagan)

## RESUMO

O avanço tecnológico através de estudos e pesquisas nos proporcionou fazer descobertas cada vez mais influentes nas menores dimensões físicas. É o caso da nanotecnologia, que tem um rol imenso de aplicações, dentre elas, o desenvolvimento de nanopartículas revestidas com antibióticos. Mediante a isso e com base em estudos, acredita-se que as nanopartículas de óxido de zinco (ZnO), óxido de cobre II (CuO) e óxido de cobre I (Cu<sub>2</sub>O) possam servir como antibióticos alternativos, uma vez que, cresce o número de relatos envolvendo bactérias que desenvolveram maior resistências a antibióticos comumente usados atualmente. Por esse motivo, tem-se o intuito de sintetizar, utilizando o método de Pechini adaptado, as nanopartículas de ZnO, CuO e Cu<sub>2</sub>O e avaliar seu comportamento antimicrobiano. A investigação da influência destas nanopartículas no crescimento microbiano das bactérias *Staphylococcus epidermidis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella spp.* e *Escherichia coli*, foi feita através do método de difusão em ágar, amplamente utilizado para análises envolvendo crescimento microbiológico. Com isso, foi possível encontrar resultados que comprovem a eficiência dos nano-óxidos metálicos como agentes antimicrobianos contra as bactérias patogênicas, e no caso da *S. epidermidis* em particular, a não influência da nanopartícula de ZnO na bactéria.

**Palavras-chave:** Nano-óxido. Aplicação. Antibiótico. Bactéria. Investigação.

## ABSTRACT

The technological advanced through studies and researches allowed us to make increasingly influential discoveries in the smallest physical dimensions. It is the case of nanotechnology, which has a huge list of applications, between then, the development of nanoparticles coated with antibiotics. Through that and based on studies, it is believed that zinc oxide (ZnO) nanoparticles, copper oxide II (CuO) nanoparticles and copper oxide I (Cu<sub>2</sub>O) nanoparticles could serve as alternative antibiotics, once that, the number of reports involving bacteria which development higher resistance to the antibiotics commonly used nowadays is increasing. For this reason, it is intended synthesise, using the adapted Pechini method, the ZnO, CuO and Cu<sub>2</sub>O nanoparticles, and avaliate their antimicrobial behavior. The investigation regarding these nanoparticles in the microbial growth of bacteria *Staphylococcus epidermidis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella spp.* e *Escherichia coli*, was made through the agar diffusion method. Therefore, it was possible to find results that proves the efficiency of the metallic nano-oxides as antimicrobial agents against pathogenic bacteria, and, in the case of *S. epidermidis* in particular, the non-influence of the nanoparticle in the bacteria.

**Keywords:** Nano-oxide. Application. Antibiotic. Bacteria. Investigation.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Estrutura de uma célula procariótica. Sendo as estruturas marcadas em vermelho presentes em todas as bactérias.....	13
Figura 2 - Morfologia da parede celular de células Gram-positivas.....	14
Figura 3 - Morfologia da parede celular de células Gram-negativas. ....	15
Figura 4 - Representação de uma escala de comprimento para ilustração do mundo nanométrico.....	18
Figura 5 - Estruturas cristalinas do ZnO, (a) Sal-gema, (b) Esfalerita e (c) Wurtzita. ....	20
Figura 6 - Possíveis mecanismos da atividade antimicrobiana das nanopartículas de ZnO na bactéria.....	21
Figura 7 - Estrutura cristalina do CuO. ....	23
Figura 8 – Estrutura cristalina do Cu <sub>2</sub> O.....	23
Figura 9 - Interação entre a nanopartícula e célula bacteriana. ....	25
Figura 10 – Mecanismos de reação do método de Pechini adaptado.....	29
Figura 11: Resultado da poliesterificação, onde M é o metal para formação do óxido e L o íon dopante. ....	30
Figura 12: Fluxograma do processo de síntese pelo método Pechini adaptado. ....	31
Figura 13 – Representação do teste de difusão em ágar.....	32
Figura 14: Halos de inibição causado pela nanopartícula de ZnO sem tratamento de pressão. ....	35
Figura 15: Halos de inibição causado pela nanopartícula de ZnO com tratamento de pressão. ....	36
Figura 16: Halos de inibição causado pela nanopartícula de CuO sem tratamento de pressão. ....	38
Figura 17: Halos de inibição causado pela nanopartícula de CuO com tratamento de pressão. ....	39
Figura 18: Halos de inibição causado pela nanopartícula de Cu <sub>2</sub> O sem tratamento de pressão. ....	41
Figura 19: Halos de inibição causado pela nanopartícula de Cu <sub>2</sub> O com tratamento de pressão .....	42



## LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Diâmetros de halos de inibição para a nanopartícula de ZnO .....	36
Tabela 2: Diâmetros de halos de inibição para a nanopartícula de CuO .....	39
Tabela 3: Diâmetros de halos de inibição para a nanopartícula de Cu <sub>2</sub> O .....	42
Tabela 4: Diâmetros de halos de inibição para as três nanopartículas do trabalho. .	43

## LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E ACRÔNIMOS

BHI	<i>Brain Heart Infusion</i>
CO <sub>2</sub>	Gás carbônico
CuO	Óxido de cobre II
Cu <sub>2</sub> O	Óxido de cobre I
DNA	Ácido desoxirribonucleico
ERO	Espécies reativas de oxigênio
eV	Elétron-volt
h	Horas
mg	Miligramas
mm	Milímetro
mL	Milílitro
nm	Nanômetro
pH	Potencial hidrogeniônico
UTI	Unidade de terapia intensiva
UV	Ultravioleta
ZnO	Óxido de zinco
µm	Micrômetro
µL	Microlitro

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO .....</b>	<b>9</b>
1.1 CONTEXTUALIZAÇÃO.....	9
1.2 OBJETIVOS.....	11
1.2.1 Objetivo Geral.....	11
1.2.2 Objetivos Específicos.....	11
1.3 JUSTIFICATIVA.....	11
<b>2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA .....</b>	<b>12</b>
2.1 BACTÉRIAS.....	12
2.1.1 Staphylococcus epidermidis.....	15
2.1.2 Pseudomonas aeruginosa .....	16
2.1.3 <i>Salmonella spp.</i> .....	16
2.1.4 Escherichia coli .....	17
2.2 NANOTECNOLOGIA E NANOPARTÍCULA .....	18
2.2.1 Óxido De Zinco .....	19
2.2.2 Óxido de Cobre.....	22
2.3 APLICAÇÕES BACTERIOLÓGICAS .....	24
<b>3 MATERIAIS E MÉTODOS.....</b>	<b>28</b>
3.1 ROTA DE SÍNTESE DAS NANOPARTÍCULAS.....	28
3.2 ATIVIDADE MICROBIANA .....	31
3.2.1 Teste de Difusão em Ágar .....	31
<b>4 RESULTADOS E DISCUSSÕES .....</b>	<b>34</b>
4.1 ATIVIDADE ANTIMICROBIANA .....	34
4.1.1 Nanopartículas de ZnO .....	34
4.1.2 Nanopartículas de CuO .....	37
4.1.3 Nanopartículas de Cu <sub>2</sub> O .....	40
<b>5 CONCLUSÃO.....</b>	<b>43</b>
<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>45</b>

# 1 INTRODUÇÃO

## 1.1 CONTEXTUALIZAÇÃO

No decorrer das eras, tem se observado cada vez mais o avanço tecnológico vivido pela sociedade. Com isso, novas necessidades surgem, bem como a melhora no estudo e aplicação da tecnologia em geral. Assim, vê-se a nanotecnologia, que teve seu conceito discutido cientificamente pela primeira vez, através do modo de manipulação atômica, em 1959, por Richard Feynman em sua palestra intitulada “*There’s plenty of room at the bottom*” (“Há imenso espaço no fundo”), proferida em um dos encontros da *American Physical Society* (MARCONE, 2016). A partir deste evento, o conceito “nano” começou a ser empregado amplamente na tecnologia. Este prefixo “nano” refere-se a uma escala de medida física que equivale a um bilionésimo do metro,  $10^{-9}$  m, denominada nanômetro (nm) (TOMA, 2016). Assim, a nanotecnologia está diretamente ligada a criação de materiais ou sistemas que tenham uma funcionalidade atribuída, a partir de propriedades nanométricas (ARAÚJO, 2011).

O tamanho reduzido de uma partícula em escala nanométrica, chamada nanopartícula, apresenta uma grande área de superfície e uma alta relação superfície/volume. Isto faz aumentar a energia de superfície, quando comparado com materiais de tamanhos convencionais (LEAL, 2011). A alta relação superfície/volume, junto com tamanho, cristalinidade e morfologia, gera o efeito *quantum* para as nanopartículas, proporcionando-as diferentes propriedades (química, eletrônica, óptica, magnética e mecânica), podendo ter aplicações em vários campos como biosensores, biomedicina, nanomedicina e nanobiotecnologia.

Estas características adquiridas pela partícula na sua escala nanométrica possibilitam uma interação biomolecular única com células, além de facilitar a transferência física das nanopartículas para o interior da célula. Materiais nanoestruturados tem uma alta porcentagem de átomos ao longo da sua superfície, levando a uma alta reatividade de superfície (SIRELKHATIM et al., 2015).

A utilização de nanopartículas no que diz respeito a exploração de suas propriedades antibacterianas vem emergindo bastante devido ao grande potencial biológico que alguns óxidos metálicos nanoestruturados têm apresentado. Desta forma, já é possível encontrar na literatura estudos promissores referentes ao

potencial antimicrobiano destes materiais a base de óxidos de zinco (ZnO) (LIU et al., 2009), óxido de cobre II (CuO) e óxido de cobre I (Cu<sub>2</sub>O) (ARAB et al., 2017). A utilização destas nanopartículas como agente antibacteriano apresenta uma alternativa no que tange aos bactericidas utilizados tradicionalmente à base de organoclorados e derivados de arsênio (NOGUEIRA et al., 2016). Compostos estes que apresentam um grande risco tóxico à saúde do organismo humano. Além disso, os compostos nanoparticulados de ZnO em particular, vem demonstrando um potencial promissor de aplicação em fotoprotetores inorgânicos, por apresentarem uma alta absorção de radiação UV, protegendo mais a pele humana (ALBUQUERQUE, 2018). Outra área de aplicação promissora para a nanopartícula de ZnO está na indústria alimentícia, tanto na construção de embalagens contendo nanopartículas com potencial antimicrobiano, quanto aplicação direta na própria superfície do alimento, com intuito de se evitar a proliferação de bactérias (SIRELKHATIM et al., 2015). Além disso, a utilização de nanopartículas de CuO em superfícies e roupas de cama de ambientes hospitalares vem se mostrando altamente promissoras para evitar a proliferação de bactérias (GRIGORE et al., 2016).

As formas de síntese de nanopartículas têm uma gama enorme em relação a metodologia, podendo elas serem construídas a partir de métodos químicos (construção a partir de átomos) e métodos físicos (diminuição de tamanho de micropartículas para nanopartículas). Assim, as principais sínteses envolvendo dispersão líquida ou partículas secas são: co-precipitação, técnicas hidrotermais, condensação de gás inerte, pulverização catódica, microemulsão, micro-ondas assistido, ablação laser, sol-gel, ultrassom e descarga de faísca (BHAGYARAJ et al., 2018). Além do método Pechini, o qual será utilizada neste trabalho de forma adaptada.

Desta forma, através da aplicação de nanopartículas sintetizadas, procura-se encontrar métodos menos danosos e mais eficientes de combater bactérias patogênicas as quais os humanos estão expostos diariamente, como *Pseudomonas aeruginosa*, comumente encontrada em ambientes hospitalares e ambientes úmidos, *Escherichia coli* e *Salmonella sp.*, presente em alimentos e águas contaminadas por coliformes fecais. Além disso, deseja-se observar o efeito que os nano-óxidos tem na bactéria *Staphylococcus epidermidis*, presente naturalmente na microbiota da pele, procurando avaliar a sua influência nesta bactéria, de forma que seja viável sua aplicação em relação a fotoproteção da pele (TORTORA; FUNKE; CASE, 2017).

## 1.2 OBJETIVOS

### 1.2.1 Objetivo Geral

Avaliar o potencial antimicrobiano dos óxidos metálicos nanoparticulados de zinco (ZnO), cobre II (CuO) e cobre I (Cu<sub>2</sub>O) frente a algumas bactérias.

### 1.2.2 Objetivos Específicos

- Obter com e sem o tratamento de pressão, as nanopartículas de óxidos a partir do método Pechini adaptado.
- Analisar, a partir do teste de difusão em ágar, a atividade antimicrobiana das nanopartículas sintetizadas, com e sem o tratamento de pressão, frente as bactérias *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella sp* e *Staphylococcus epidermidis*.

## 1.3 JUSTIFICATIVA

Este trabalho busca encontrar aplicações para as nanopartículas metálicas que ofereçam vantagens para a sociedade em termos de atividade antimicrobiana, uma vez que se tem observado uma crescente resistência de determinadas bactérias em relação aos antibióticos empregados atualmente. Com este fim, busca-se reduzir custos e aumentar a efetividade de aplicações de compostos antimicrobianos através da implementação das nanopartículas que serão investigadas, bem como apresentar alternativas de agentes antimicrobianos e fotoprotetores inorgânicos que sejam menos danosos à saúde humana e mais eficientes. Além disso, o estudo busca servir como base e referencial teórico para futuros trabalhos envolvendo aplicabilidade de alguns nano-óxidos em determinadas culturas microbiológicas.

## 2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

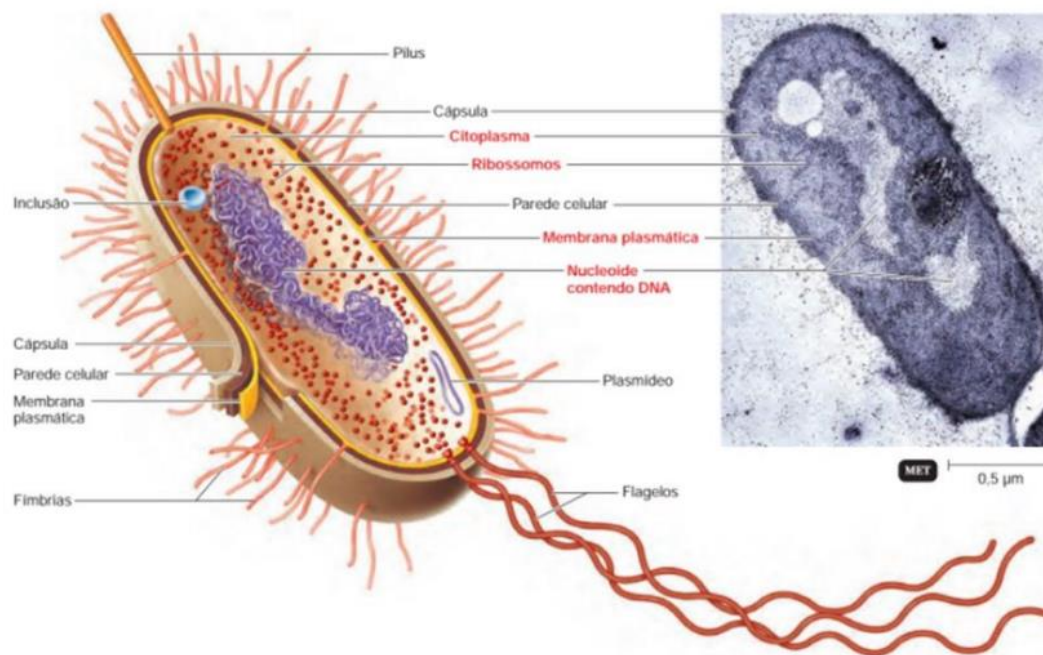
### 2.1 BACTÉRIAS

As bactérias são consideradas procariotas, grupos de organismos simples e unicelulares, o qual tem seu material genético (DNA) arranjado em um cromossomo simples e circular, não sendo envolto por uma membrana celular. Estas bactérias normalmente estão aderidas em superfícies sólidas, podendo apresentar várias formas, sendo as mais comuns os cocos (esféricos ou ovoides), espirilos, bacilos (em forma de bastões) (TRABULSI; ALTERTHUM, 2009; TORTORA; FUNKE; CASE, 2017).

A reprodução destes organismos se dá normalmente pela fissão binária, de forma que ela seja dividida em duas células iguais, a qual o DNA é copiado. Além disso, a nutrição das bactérias pode ser por produção do seu próprio alimento, através da fotossíntese, ou obtidas a partir de compostos orgânicos ou inorgânicos (TRABULSI; ALTERTHUM, 2009; TORTORA; FUNKE; CASE, 2017).

A estrutura morfológica geral de quase todas as bactérias se caracteriza pela presença de citoplasma, ribossomos, uma membrana plasmática, um nucleóide (onde está o material genético) e uma parede celular. Esta morfologia de estruturas pode ser observada na Figura 1, além de algumas outras estruturas que variam entre os microrganismos procariontes (TRABULSI; ALTERTHUM, 2009; TORTORA; FUNKE; CASE, 2017).

**Figura 1 - Estrutura de uma célula procariótica. Sendo as estruturas marcadas em vermelho presentes em todas as bactérias.**



**Fonte: Tortora, Funke e Case (2005)**

A parede celular da célula bacteriana é uma estrutura complexa e semirrígida, responsável pela forma da célula. Além disso, esta parede, que circunda a frágil membrana plasmática, tem como função proteger tanto a própria membrana plasmática, quanto o interior da célula de alterações no meio externo, impedindo a ruptura das células bacterianas (MADIGAN et al., 2004; TRABULSI; ALTERTHUM, 2009; TORTORA; FUNKE; CASE, 2017).

A membrana plasmática é formada por uma camada dupla de fosfolípido, mantendo o material citoplasmático no interior da célula, bem como, permitindo ou bloqueando a passagem de moléculas e íons, atuando como uma espécie de barreira seletiva (ESPITIA, 2012; TORTORA; FUNKE; CASE, 2017).

Algumas estruturas são responsáveis por funções específicas em relação ao comportamento da bactéria, como caso da cápsula, que dá a característica de virulência bacteriana (capacidade de causar doenças), os flagelos, que auxiliam na identificação bacteriana, e a parede celular, responsável pela identificação bacteriana, por causar doenças em alguns casos, além de ser alvo de alguns agentes antimicrobianos (TORTORA; FUNKE; CASE, 2017; ESPITIA, 2012).

Por conta das diferenças referentes a parede celular, as células procariontes podem ser classificadas de dois modos, sendo elas gram-positivas, como é o caso da

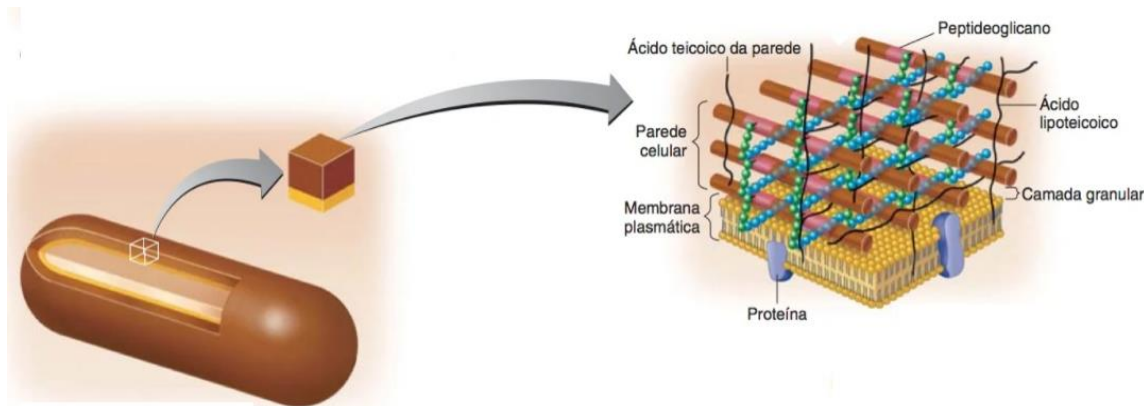


bactéria *Staphylococcus epidermidis*, e gram-negativas, como é o caso das bactérias *Escherichia Coli*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Salmonella sp.*, entre outras (MADIGAN et al., 2004; ESPITIA, 2012; TORTORA; FUNKE; CASE, 2017).

Tanto as bactérias Gram-positivas, quanto Gram-negativas possuem semelhanças em sua parede celular, apresentando ao menos uma camada de peptidoglicano, o qual consiste em um dissacarídeo repetitivo, composto por monossacarídeos (N-acetilglicosamina e N-acetilmurâmico) unidos por polipeptídeos, formando uma rede que envolve a célula (MADIGAN et al., 2004; TORTORA; FUNKE; CASE, 2017).

No caso das bactérias Gram-positivas, a parede celular é composta por muitas camadas de peptidoglicanos, formando uma estrutura rígida e espessa, como se observa na Figura 2. Estas paredes celulares possuem em sua composição química o ácido teicóico, o qual é consistida em um álcool e um fosfato, e tem participação no crescimento celular, impedindo a ruptura extensa da parede celular e possível lise celular (TORTORA; FUNKE; CASE, 2017; ESPITIA, 2012).

**Figura 2 - Morfologia da parede celular de células Gram-positivas.**

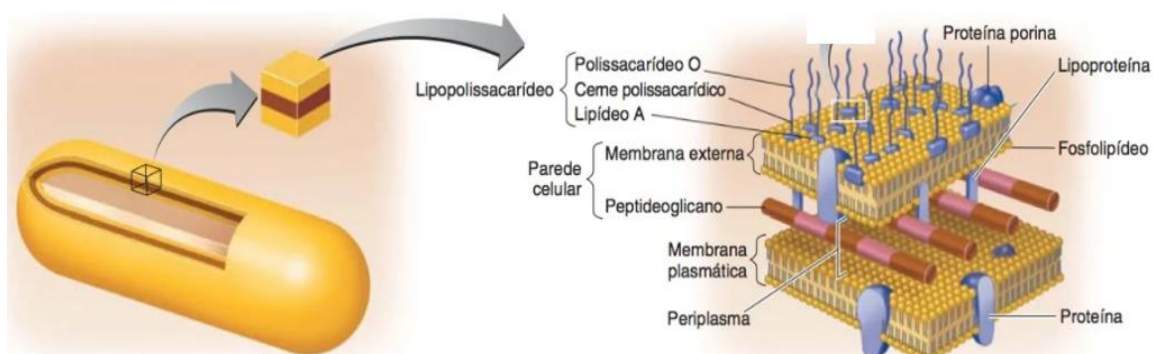


**Fonte: Tortora, Funke e Case (2017)**

As bactérias gram-negativas possuem em sua estrutura paredes celulares com uma ou poucas camadas de peptidoglicano e uma membrana externa, como é observado na Figura 3. Esta membrana externa, constituída de fosfolípidos internamente e por lipossomosacarídeos (LPS) e proteínas externamente, tem sua principal função relacionada à estrutura, entretanto, ela também atua como uma barreira seletiva, impedindo a passagem de alguns componentes tóxicos à célula, como antibióticos, metais pesados, detergentes, entre outros. Além disso, o fato de as

paredes celulares possuírem apenas uma pequena quantidade de peptideoglicano, resulta em uma célula mais suscetível a rompimentos mecânicos (ESPITIA, 2012; TORTORA; FUNKE; CASE, 2017).

**Figura 3 - Morfologia da parede celular de células Gram-negativas.**



**Fonte: Tortora, Funke e Case (2017)**

### 2.1.1 *Staphylococcus epidermidis*

A *Staphylococcus epidermidis* se apresenta como uma bactéria gram-positiva, anaeróbia facultativa, catalase positiva e não esporulada (NAMVAR et al., 2014). Esta bactéria se encontra na microbiota da pele, principalmente na região das axilas, cabeça e narinas (DODOU, 2017).

A *S. epidermidis* possui duas formas de agir no corpo humano, sendo elas a comensal ou a patogênica. Na forma comensal, a bactéria age de forma probiótica, promovendo a proteção da pele como uma forma de barreira, tendo uma ação antimicrobiana e impedindo que o hospedeiro seja colonizado por outro patógenos mais virulentos (DODOU, 2017; PODGORSKA; KEDZIA, 2018). Já na sua forma patogênica, normalmente encontrada em ambientes hospitalares, a *S. epidermidis*, que através da formação de biofilmes na pele, é capaz de causar infecções nosocomiais (infecções após internação), infecções relacionadas a implantes, bacteremias, osteomielites, entre outros (DODOU, 2017; PODGORSKA; KEDZIA, 2018; BRARTFICH, 2005).

O combate da colonização por *S. epidermidis* se dá principalmente pelo uso de antibióticos, sendo alguns deles, peptídeos antimicrobianos, vancomicina, rifampicina e eritromicina (AGARWAL et al., 2015; THEISEN, 2010). Entretanto, essa inibição do crescimento da bactéria só se faz necessário em casos em que a mesma

desenvolva comportamentos virulentos. Uma vez que, em condições normais, eliminar a presença da *S. epidermidis* da pele, pode levar ao enfraquecimento e desequilíbrio da barreira protetora formada pela bactéria na microbiota cutânea, deixando o hospedeiro mais suscetível a ataques de bactérias patogênicas.

### 2.1.2 *Pseudomonas aeruginosa*

Pertencente à família Pseudomonadaceae, a *Pseudomonas aeruginosa* é uma bactéria gram-negativa, aeróbia estrita e não esporulada que pode ser visualizada em forma de célula isolada, aos pares ou em cadeias curtas (OZEN et al., 2013; STARADUMSKYTE, 2014).

A *P. aeruginosa* é comumente encontrada em solo, água e vegetal, em que são mais propensas a colonizar regiões úmidas da pele, como axilas, regiões anogenital e ouvidos externos, embora raramente colonize seres humanos. Entretanto, em ambientes hospitalares apresenta grande grau de colonização em pacientes hospitalizados, podendo gerar graves infecções nosocomiais, dano tecidual, disseminação sistêmica, septicemia, pneumonia, bacteremias, entre outros. Estão sujeitos a estes quadros clínicos principalmente pacientes com sistema imunológico comprometido, pacientes queimados, pessoas com fibrose cística e usuários de Unidade de Terapia Intensiva (UTI) (LOPES et al, 2019;).

As formas de se combater a patogenicidade da *P. aeruginosa* se dá, na maioria dos casos, a partir da utilização de antibióticos. Dentre os principais antibióticos usados para eliminar a bactéria estão os  $\beta$ -lactâmicos, aminoglicosídeos, polimixinas, cefalosporinas fluoroquinolonas (SILVA, 2015; TORTAS,2009).

### 2.1.3 *Salmonella spp.*

*Salmonella* é um gênero pertencente à família das Enterobacteriaceae, uma bactéria com bastonetes Gram-negativos, não esporulada, anaeróbio facultativo e oxidase negativos. Sua temperatura de crescimento varia de 5 a 45 °C, com temperatura ótima de 37 °C (TORTORA; FUNKE; CASE, 2017).

A *Salmonella* em geral tem seu habitat normal no trato intestinal de seres humanos e em muitos animais, sendo mais frequente em aves domésticas, gado e suínos. Este tipo de bactéria, o qual em sua grande variedade são potencialmente patogênicos, podem causar diversas doenças, conforme seu sorotipo, como a febre tifóide, causada pela *Salmonella typhi*, febres entéricas, causadas pela *Salmonella*

*paratyphi* e a salmoneloses, causadas ocasionalmente pelos demais sorotipos da *Salmonella*. A principal forma de contaminação por *Salmonella* se dá pela ingestão de alimentos contaminados por material fecal humano e animal (CARDOSO, 2006; TORTORA; FUNKE; CASE, 2017).

O controle de crescimento das cepas de *Salmonella* em geral pode ser feito com o emprego de antibióticos como fluoroquinolonas, cefalosporinas, ciprofloxacina, entre outros. Este controle também pode ser feito a partir do controle de temperatura, sendo a bactéria sensível a elevadas temperaturas e geralmente destruída por aquecimento a 60 °C, além de serem destruídas facilmente pela temperatura de pasteurização. Outros fatores que podem influenciar no crescimento da *Salmonella* é a presença de água no meio com um pH entre 4,5 e 9,6 (MENDES; CARMINATTI; PINHEIRO, 2016; CARDOSO, 2006).

#### 2.1.4 *Escherichia coli*

A bactéria *Escherichia coli*, pertencente da família Enterobacteriaceae, é um dos habitantes mais comuns da microbiota intestinal de seres humanos e animais. Sendo uma bactéria bacilar Gram-negativa, anaeróbia facultativa e não esporulada, a presença da *E. coli* em águas e alimentos indica contaminação fecal, e caso ingeridas, podem causar infecções do trato urinário e provocar diarreias, além de poder afetar a corrente sanguínea e sistema nervoso central (TORTORA; FUNKE; CASE, 2017).

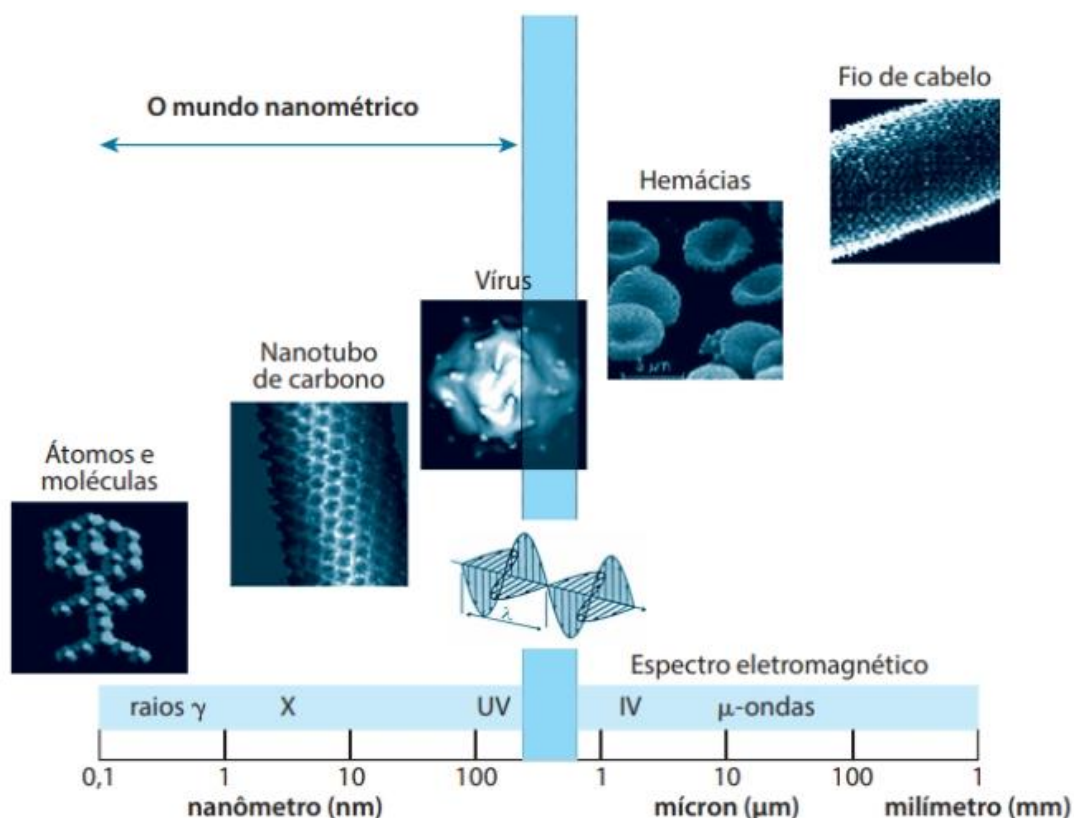
Os casos mais graves por contaminação de *E. coli* se dão por alguns de seus patótipos, sendo os mais patogênicos: *E. coli* enteropatogênica (EPEC), *E. coli* enteroinvasiva (EIEC), *E. coli* enteroagregativa (EAEC), *E. coli* entero-hemorrágica (EHEC), *E. coli* produtora de toxina Shiga e *E. coli* necrotoxigênica (COURA; LAGE; HEINEMANN, 2014).

Tendo uma temperatura ótima de crescimento a 37 °C, variando entre 18 °C e 44 °C, o crescimento da *E. coli* pode ser combatido justamente fazendo a manutenção destas temperaturas através do tratamento térmico (pasteurização), das condições químicas do meio como pH e quantidade de água, além de se empregar inibidores de crescimento, como antibióticos, sendo alguns deles derivados de sulfonamidas, quinolonas, cefalosporinas, entre outros. A bactéria em questão pode também ser eliminada por irradiação UV, sendo a presença de oxigênio no meio um potencializador deste efeito (CARVALHO, 2010; TORTORA; FUNKE; CASE, 2017; OLIVEIRA et al., 2014).

## 2.2 NANOTECNOLOGIA E NANOPARTÍCULA

A definição de nanotecnologia gira em torno dos estudos, controles e/ou manipulações referentes a partículas ou interfaces de escala nanométrica, escala essa que corresponde a faixa/dimensão de 1 a 100 nanômetros (equivalente a um bilionésimo do metro) em pelo menos em uma direção. Assim, nanotecnologia é baseada em projetos, caracterizações, produções e aplicações de sistemas e componentes em escala nanométrica (USKOKOVIĆ, 2007). A faixa que se encontram essas nanopartículas é a mesma que a de algumas moléculas, e está em uma escala inferior a dimensões celulares como hemácias e bactérias (Figura 4). Estruturas nessa escala apresentam novas propriedades e papéis funcionais únicos não encontrados na escala macro, possibilitando potenciais aplicações inovadoras em vários setores tecnológicos, como energia, produtos químicos e materiais, eletrônica, saúde e biotecnologia (TOMA, 2016).

**Figura 4 - Representação de uma escala de comprimento para ilustração do mundo nanométrico.**



Fonte: Toma (2016)

Com os estudos mais aprofundados no mundo nanométrico, foi possível encontrar aplicações específicas, extremamente pertinentes, que fazem proveito do tamanho reduzido das nanopartículas, bem como a maior proporção de átomos na superfície do material (relação superfície/volume). Uma destas aplicações é referente a utilização de nanopartículas como agente antimicrobiano, a qual teve uma crescente necessidade devido ao aumento de resistência das bactérias à antibióticos amplamente empregados. Assim, se vê nas nanopartículas, um alto potencial para geração de novos agentes antimicrobianos, devido a vantagens relacionadas à redução de toxicidade aguda, superação da resistência e baixo custo, em relação a antibióticos convencionais (CIOFFI; RAI, 2012; HUH; KWON, 2011; MARAMBIO-JONES; HOEK, 2010).

Dentre as nanopartículas utilizadas para ação antimicrobiana, destacam-se os óxidos metálicos, por conta de sua estabilidade química e física, além de uma maior relação superfície/volume, que proporciona uma alta reatividade biológica e capacidade de estabelecer conexões elétricas (CIOFFI; RAI, 2012). Por conta destas propriedades, estas nanopartículas têm a capacidade de prejudicar o comportamento das bactérias, perturbando a permeabilidade e respiração da membrana celular, além de influenciar a replicação do DNA da célula (ALBUQUERQUE, 2018).

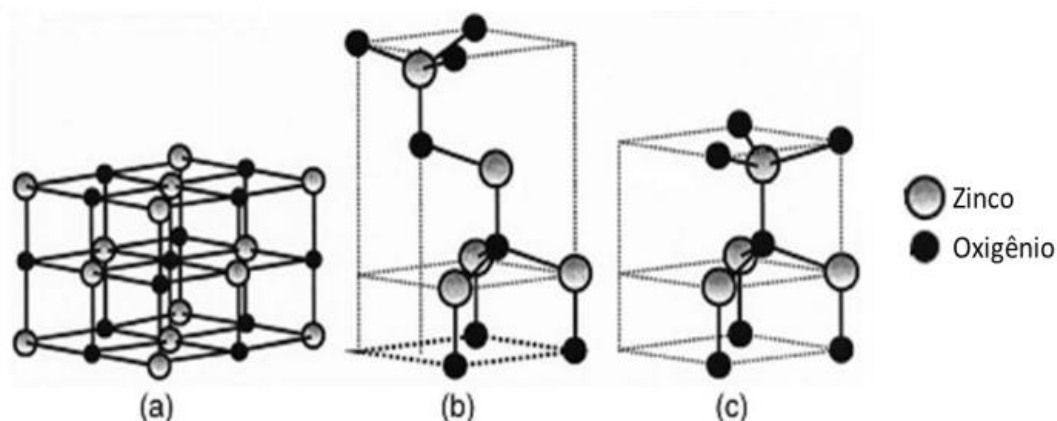
Assim, encontra-se em óxidos metálicos nanoparticulados, como ZnO, CuO e Cu<sub>2</sub>O, um potencial de aplicação na área da saúde e medicina relacionado ao combate bacteriano, levando em conta a interação única entre biomoléculas celulares da bactéria e nanopartículas (RASMUSSEN et al., 2010).

### 2.2.1 Óxido De Zinco

O ZnO é um composto, inorgânico, semicondutor cristalino da família II-VI, apresentando um “gap” de energia entre 3,2 e 3,7 eV (WANG, 2004). Este composto apresenta propriedades interessantes como, estabilidade química, baixa constante dielétricas, alta fotossensibilidade, além de propriedades catalíticas e antibacterianas únicas (SIRELKHATIM, 2015).

O ZnO pode apresentar três formas distintas de cristalização na natureza, sendo elas, a sal-gema (*rocksalt*), esfalerita (*zinc blende*) e a wurtzita (*wurtzite*), como apresentado na Figura 5, sendo a última a mais comum (OZGUR et al., 2005).

Figura 5 - Estruturas cristalinas do ZnO, (a) Sal-gema, (b) Esfalerita e (c) Wurtzita.



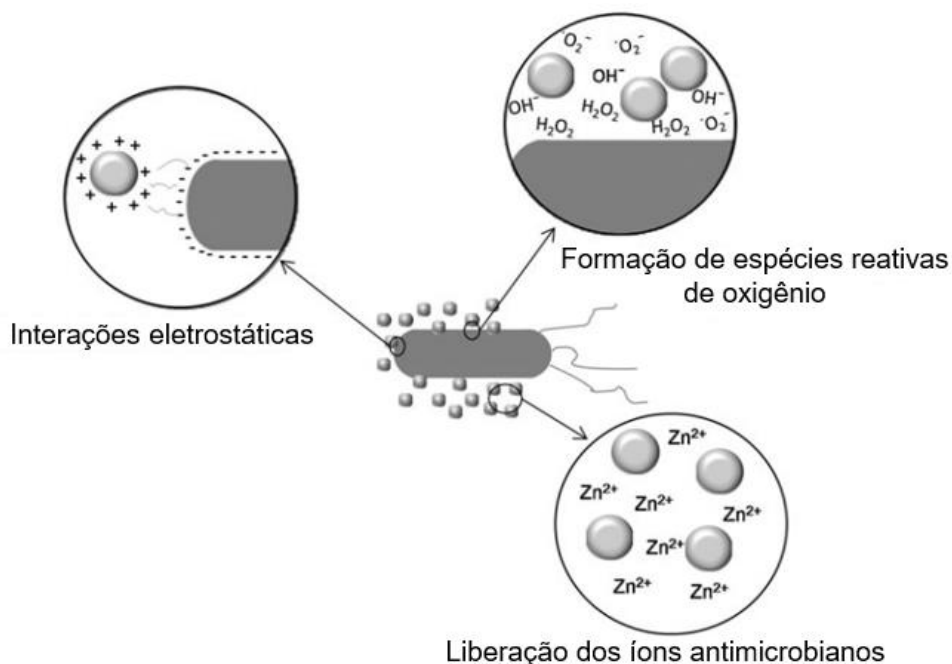
Fonte: Ozgur et al. (2005)

Na forma de wurtzita, cada átomo de zinco presente no tetraedro está cercado por quatro átomos de oxigênio e vice-versa, formando um empilhamento como célula unitária hexagonal. Em condições ambiente de pressão e temperatura, esta estrutura apresenta maior estabilidade termodinâmica, sendo a forma mais comum de ZnO encontrada na natureza (SIRELKHATIM, 2015).

Por conta desta estabilidade frente a temperatura e pressão, a estrutura wurtzita é a mais estudada quando se refere a inibição de microrganismos (ESPITIA, 2012).

Por mais que se tenha muitos estudos relacionados à aplicação de nanopartículas de ZnO em bactérias, não se sabe exatamente qual é o mecanismo de ação destas nanopartículas frente a estes microrganismos. Porém, algumas literaturas sugerem diversos mecanismos que podem estar justificando o comportamento antimicrobiano das nanopartículas (Figura 6) (ESPITIA, 2012).

**Figura 6 - Possíveis mecanismos da atividade antimicrobiana das nanopartículas de ZnO na bactéria.**



Fonte: Adaptado de Espitia (2012)

Alguns dos mecanismos que podem estar relacionados a destruição celular das bactérias ou inibição do seu crescimento devido a presença de nanopartículas de ZnO, que são:

**Liberação dos íons de zinco ( $Zn^{+2}$ ):** A solubilização de  $Zn^{+2}$  a determinadas concentrações (se muito baixas, podem tornar a bactéria mais tolerante) no meio contendo nanopartículas de ZnO e bactéria, pode inibir o transporte ativo da bactéria, bem como o metabolismo de seus aminoácidos e perturbação do seu sistema enzimático, conferindo a característica tóxica do ZnO em relação a microrganismos (SIRELKHATIM, 2015; KASEMETES et al., 2009).

**Influência do tamanho e concentração da partícula de ZnO:** A atividade microbiana das nanopartículas de ZnO podem ser potencializadas a partir da redução do tamanho da partícula bem como o aumento de sua concentração. A redução de tamanho, além de aumentar a área de superfície que entra em contato com a bactéria, também facilita a penetração das nanopartículas para dentro das membranas bacterianas, aumentando a reatividade do ZnO e a bactéria devido ao aumento da dissolução de  $Zn^{+2}$ , responsável pela toxicidade da nanopartícula. A concentração elevada faz com que mais partículas de ZnO entrem em contato com a superfície da



bactéria, aumentando também a superfície de contato partícula-bactéria e inibindo seu crescimento (PADMAVATHY; VIJAYARAGHAVAN, 2008).

**Geração de Espécies Reativas de Oxigênio (ERO):** A presença de espécies reativas de oxigênio, produzidas pela suspensão aquosa de nanopartículas de ZnO, trazem uma maior toxicidade da nanopartícula frente a bactéria devido a sua reatividade e propriedades de oxidação. Espécies como ânion superóxido ( $O_2^-$ ), radical hidroxila ( $OH^\cdot$ ) e peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ) são responsáveis por causar destruição de componentes celulares como lipídios, DNA e proteínas, uma vez que elas adentram na membrana celular da bactéria (SIRELKHATIM, 2015).

**Efeito de iluminação UV:** O ZnO possui uma alta capacidade de absorver luz ultravioleta, que a partir desta energia absorvida, tem sua interação com a bactéria aumentada. Este efeito faz com que suas atividades antibacterianas sejam intensificadas, o que conseqüentemente aumenta a geração de ERO no meio (SIRELKHATIM, 2015).

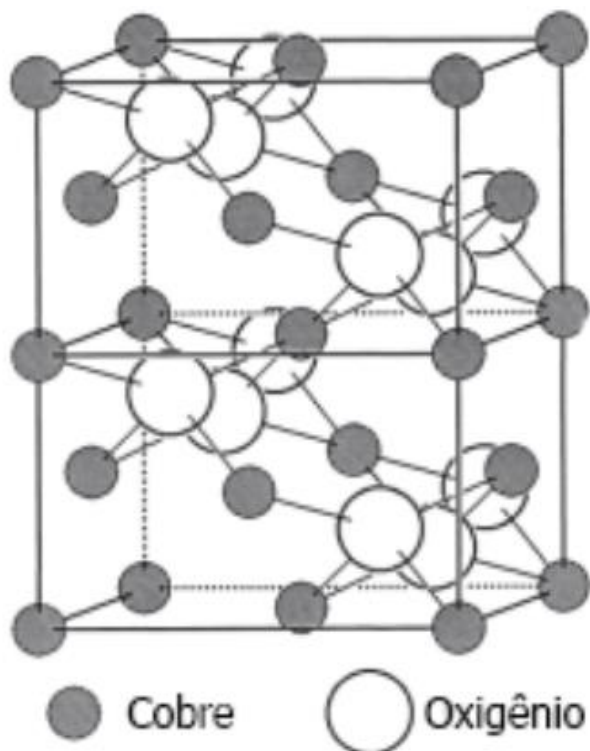
### 2.2.2 Óxido de Cobre

O cobre pode se oxidar na natureza de duas formas distintas, sendo elas óxido de cobre I ( $Cu_2O$ ) ou óxido de cobre II ( $CuO$ ) (FILIPÍČ; CVELBAR, 2012). O óxido de cobre na forma de  $CuO$  é composto semicondutor de estrutura monoclinica, sendo o mais simples composto de cobre. Considerado um dos materiais mais baratos dentre os óxidos metálicos, o óxido de cobre apresenta propriedades químicas e físicas promissoras, tendo aplicações no campo da catálise, sensor de gases, conversão de energia solar, além de atividade antimicrobiana, principalmente quando na forma de nanopartícula, devido a sua grande área de superfície (REN et al., 2009; ANANTH, 2014; PHIWDANG, 2013).

Assim como o  $CuO$ , o óxido de cobre I é muito investigado por suas propriedades elétricas e óticas, tendo aplicações potenciais em spintrônica, catalises e células solares (CONFESSOR; SILVA, 2013)

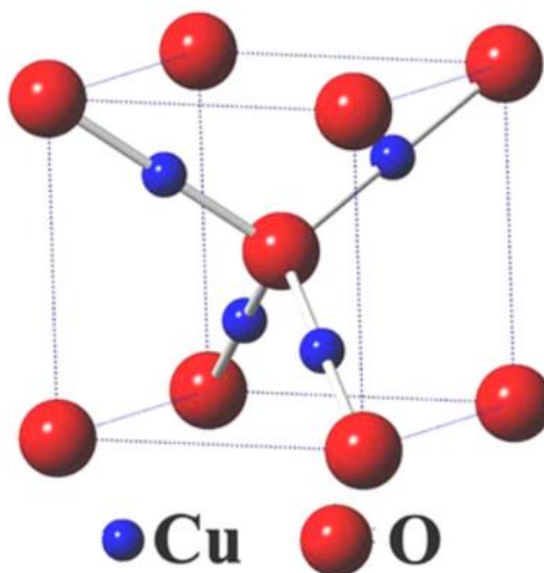
O modo de como o  $CuO$  se apresenta estruturalmente na natureza é na forma de mineral tenorita, sendo está a forma mais estável do composto. Essa disposição estrutural se dá com átomos de cobre (II) rodeados por quatro átomos de oxigênio com geometria quadrado planar, como se observa na Figura 7 (WOLD; DWIGHT, 1993), enquanto que o  $Cu_2O$  se apresenta estavelmente na forma de estrutura cristalina cúbica, como aponta a Figura 8 (GAO, et al., 2015).

Figura 7 - Estrutura cristalina do CuO.



Fonte: Wold e Dwight (1993)

Figura 8 – Estrutura cristalina do Cu<sub>2</sub>O



Fonte: Gao et al., (2015)

Esta estrutura de óxido apresenta forte potencial como agente antimicrobiano por apresentar maior estabilidade em relação aos compostos orgânicos

antimicrobianos (MORITZ; GESZKE-MORITZ, 2013). Além disso, a toxicidade apresentada pelas nanopartículas de óxido de cobre faz delas eficazes agentes antibacterianos (RUBILAR et al., 2013; BOOSHEHRI et al., 2015).

Os mecanismos de interação entre a célula bacteriana e o  $\text{Cu}_2\text{O}$  ou  $\text{CuO}$  estão normalmente relacionados à liberação dos íons  $\text{Cu}^{+1}$  ou  $\text{Cu}^{+2}$ , que acontece através da dissolução dos metais da superfície das nanopartículas. Estes íons liberados agem danificando a membrana celular bacteriana, por meio de interações eletrostáticas e alterações químicas. Esta ação facilita a entrada das nanopartículas, que interrompem a atividade enzimática e causam a morte das bactérias. (DIZAJ et al., 2014; REN et al., 2009; PANDIYARAJAN et al., 2013).

Outro mecanismo relacionado à ação das nanopartículas de  $\text{Cu}_2\text{O}$  e  $\text{CuO}$  está nas reações de oxidação provocadas pela geração de ERO's nas superfícies das nanopartículas (DIZAJ et al., 2014).

Existem algumas propriedades as quais podem influenciar na efetividade da ação antibacteriana das nanopartículas de óxido de cobre nas bactérias. Tamanhos reduzidos de nanopartículas faz com elas atravessem com mais facilidade a parede celular da bactéria. Além disso, altas concentrações causam um aumento da área superficial que entra em contato com parede celular, aumentando também a frequência com que as nanopartículas entram na célula (DIZAJ et al., 2014; NAZ et al., 2019).

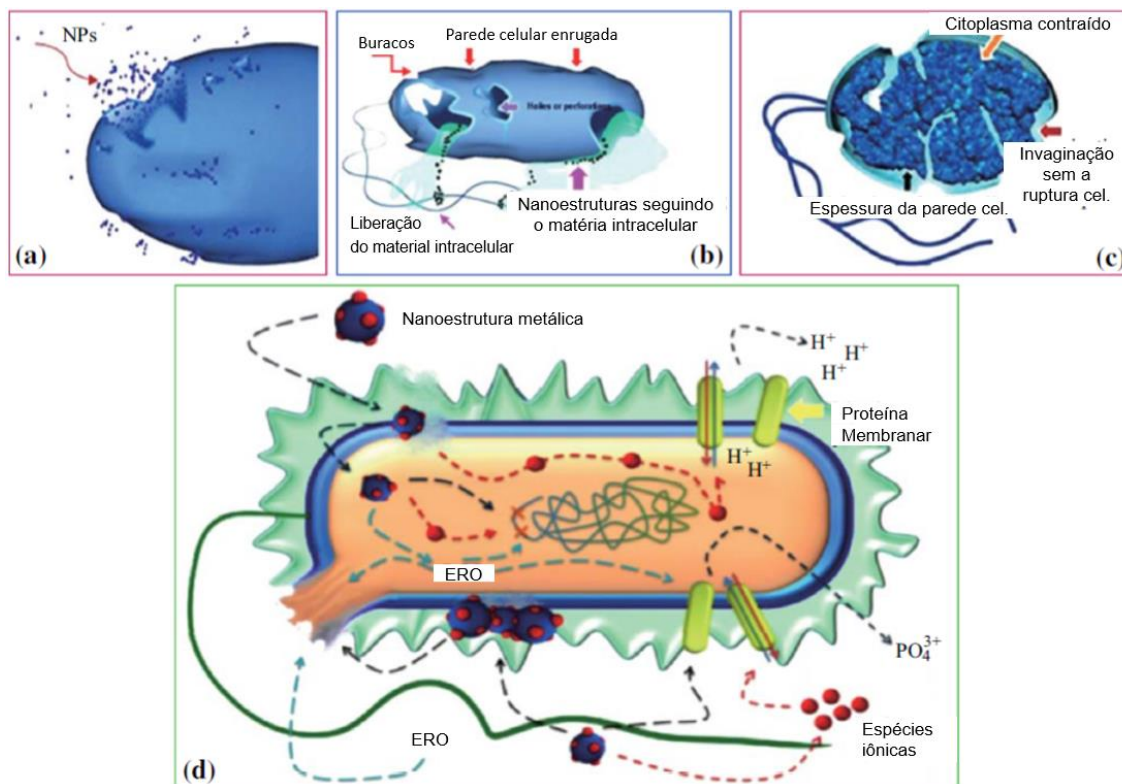
### 2.3 APLICAÇÕES BACTERIOLÓGICAS

Um problema cada vez mais recorrente no combate às bactérias patogênicas atualmente, envolve a resistência que estes microrganismos vêm desenvolvendo contra antibióticos devido ao seu uso indiscriminado na medicina (antibioticoterapia) e na alimentação animal de forma profilática. Por conta disso, a comunidade científica vem realizando cada vez mais estudos relacionados a agentes bactericidas alternativos aos empregados atualmente.

Vários estudos já indicaram que alguns metais e óxidos metálicos nanoparticulados apresentam bom comportamento antimicrobiano, muito por conta de seu tamanho reduzido e da toxicidade que partículas metálicas possuem naturalmente.

Acredita-se que o mecanismo de interação entre a nanopartícula e a célula bacteriana ocorra conforme a Figura 9 explícita.

**Figura 9 - Interação entre a nanopartícula e célula bacteriana.**



**Fonte: Adaptado de Sirelkhatim (2015)**

Na Figura 9 (a) tem-se a penetração da nanopartícula através de buracos, poças ou protusões na parede celular. Na (b) se encontra a representação esquemática da célula colapsada mostrando ruptura da parede celular e extrusão dos conteúdos do citoplasma. Na (c) observa-se importantes variações na composição da célula da bactéria (ligeiras invaginações e espessamento da parede celular) e extrusão do citoplasma. Na (d) é abordado o provável mecanismo da célula com a nanopartícula, em que se tem a absorção dos íons metálicos na célula, depleção intracelular e interrupção da replicação do DNA, liberando íons metálicos, gerando ERO's, causando a acumulação e dissolução das nanopartículas na membrana bacteriana (SIRELKHATIM, 2015).

Por conta destes mecanismos, existe o interesse de confirmar o caráter bactericida de alguns nano-óxidos metálicos a partir da aplicação direta em determinadas bactérias.

A nanopartícula de ZnO é um dos compostos mais estudados para as mais diversas aplicações bacteriológicas. Já se tem estudos analisando as propriedades antimicrobianas da nanopartícula de ZnO em bactérias como *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Salmonella typhi*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus subtilis*, *Lactobacillus plantarum*, *Serratia marcescens*, *Proteus mirabilis*, *Citrobacter freundii*, *Mycobacterium tuberculosis*, além de fungos como *Aspergillus flavus*, *Aspergillus nidulans*, *Trichoderma harzianum* e *Rhizopus stolonifer* (GUNALAN; SIVARAJ; RAJENDRAN., 2012; ESPITIA, 2012; DOBRUCKA; DŁUGASZEWSKA, 2015; PRASHANTH et al., 2015; BASHA et al., 2016; TARANATH; PATIL, 2016; MURALI et al., 2017).

Os compostos CuO e Cu<sub>2</sub>O nanoparticulados também se mostram muito promissores como agentes antibacterianos, devido a suas altas toxicidades em relação ao seu baixo custo. Desta forma, já se aplica estudos envolvendo as nanopartículas de CuO e Cu<sub>2</sub>O frente a algumas bactérias como *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Bacillus subtilis*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Pseudomonas putida*, *Pseudomonas fluorescens*, *Micrococcus luteus* e fungos como *Candida albicans*, *Aspergillus flavus* e *Aspergillus niger* (REN et al., 2009; RAMYDEVI et al., 2012; SIVARAJ et al., 2014; ROY et al., 2016; IJAZ et al., 2017).

A partir da eficácia das nanopartículas á inibição de uma ampla gama de microrganismos, se tem conhecimento de aplicações de alta relevância no universo da nanotecnologia.

Uma das aplicações estudadas é baseada na implementação de nanopartículas de ZnO para a preservação de alimentos, como mapeou ESPITIA (2012), a partir da incorporação de ZnO nanoparticulados em matrizes poliméricas a fim de acrescentar ou aumentar atividade antimicrobiana no material de embalagens de alimentos.

A implementação de nanopartículas de CuO em superfícies, tecidos e vestuários de ambientes hospitalares já é implementado atualmente em pequena escala. Existem estudos reportando a redução nas ocorrências de infecções hospitalares, de forma que a quantidade de bactérias gram-positivas e gram-negativas aderidas nas superfícies diminui drasticamente com a implementação de nanopartículas antimicrobianas, tornando o ambiente menos propenso ao crescimento de patógenos (GRIGORE, 2016).

Outra aplicação bastante estudada está baseada na implementação de nanopartículas de ZnO e TiO<sub>2</sub> em formulações antissolares, uma vez que estes dois compostos possuem boas propriedades de absorção de raios UV, além de não apresentarem potencial risco ao bem estar da pele (SILVA & MONTEIRO, 2016)

### 3 MATERIAIS E MÉTODOS

#### 3.1 ROTA DE SÍNTESE DAS NANOPARTÍCULAS

O método de síntese utilizado para a obtenção das nanopartículas de ZnO, CuO e Cu<sub>2</sub>O foram por meio da mesma rota, se baseando na metodologia Pechini de forma adaptada.

O processo Pechini (BESSO, 1965) consiste na formação de espécies de compostos orgânicos ligados a íons metálicos, denominadas quelatos. A formação destes quelatos ocorre a partir da interação entre cátions metálicos, dissolvidos com sais em solução aquosa, e ácido carboxílico, normalmente sendo o ácido cítrico.

Diversos sais podem ser usados para a formação destes quelatos, como cloretos, carbonatos, hidróxidos, isopropóxidos e nitratos. A solução do sal e do ácido cítrico é misturada a um álcool hidroxilado ou polihidroxilado (etilenoglicol) e depois agitada sob aquecimento entre 80 e 110 °C, até que seja formada uma solução clara. O aumento da temperatura da solução para 130-140 °C, faz com que ocorra a reação de condensação entre o álcool e o quelato ácido, tendo a formação de um poliéster.

O ácido cítrico é adicionado à solução de etilenoglicol e quelato ácido, com o intuito de possibilitar um aumento de tamanho na estrutura do éster, tornando possível a formação de um polímero ou poliéster de cadeia longa.

Após a decomposição térmica do polímero, é observável um escurecimento da solução, que a partir de um aquecimento de 200 °C, se tem um aumento na densidade da solução, com a estrutura sendo mantida e não causando a migração dos cátions, evitando a segregação e a heterogeneidade da mistura.

Com um aquecimento em temperaturas mais elevadas, entre 300 a 500 °C, é possível eliminar a parte orgânica da mistura, tendo a formação do composto inorgânico com estrutura garantida, uma vez que a razão inicial de cátions em solução permaneceu a mesma desde o polímero sólido até o pó final.

O método de síntese utilizado para a obtenção das nanopartículas de ZnO, CuO e Cu<sub>2</sub>O foram por meio da mesma rota, se baseando na metodologia Pechini de forma adaptada, a qual realizou-se uma alteração na estequiometria do método original, focando na obtenção dos óxidos puros, ao invés de óxidos dopados. Assim, a proporção utilizada no trabalho foi de 1:2:3 em relação ao etilenoglicol: ácido cítrico: íon metálico precursor dos óxidos, respectivamente.

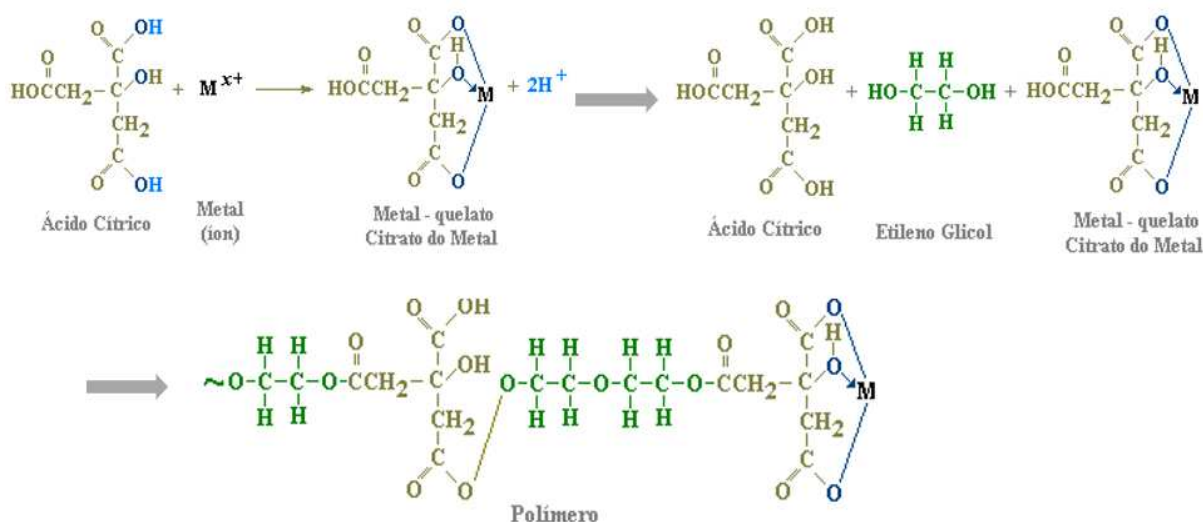
Com a adaptação feita no método Pechini, foi possível obter óxidos puros e de dimensões reduzidas, resultando em uma geração reduzida de CO<sub>2</sub> para o meio ambiente. Essa liberação de CO<sub>2</sub> ocorre durante o processo de queima para a eliminação da matéria orgânica.

Para a síntese de Pechini modificada, método utilizado neste trabalho para obtenção das nanopartículas de ZnO, CuO e Cu<sub>2</sub>O, partiu-se da mistura da proporção de 1 mol de etilenoglicol (Synth), com 2 mol de ácido Cítrico (Synth) e 3 mol de íons Cu<sup>2+</sup> (CuSO<sub>4</sub>.5H<sub>2</sub>O – Synth) ou Zn<sup>2+</sup> (Zn (NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> – ACS)

Após pesados e misturados em água, a solução de sulfato de cobre e nitrato de zinco foi aquecida até 170 °C para a formação do poliéster. Em seguida, foi realizada a queima em forno tipo mufla (EDG FI-IV) a 400 °C por 4 horas para obtenção do óxido e, seguido de calcinação a 500 °C por 15 horas para o óxido de cobre com fluxo de ar para obtenção do Cu<sub>2</sub>O e calcinação a 800 °C por 4 horas com fluxo de ar para obtenção do CuO e ZnO.

Na Figura 10 está evidenciado a reação de polimerização do método Pechini adaptado, enquanto na Figura 11 é mostrado o resultado da poliesterificação do quelato (aquecimento da polimerização), realizada para redistribuir os cátions através da estrutura polimérica, quando misturado ao etilenoglicol.

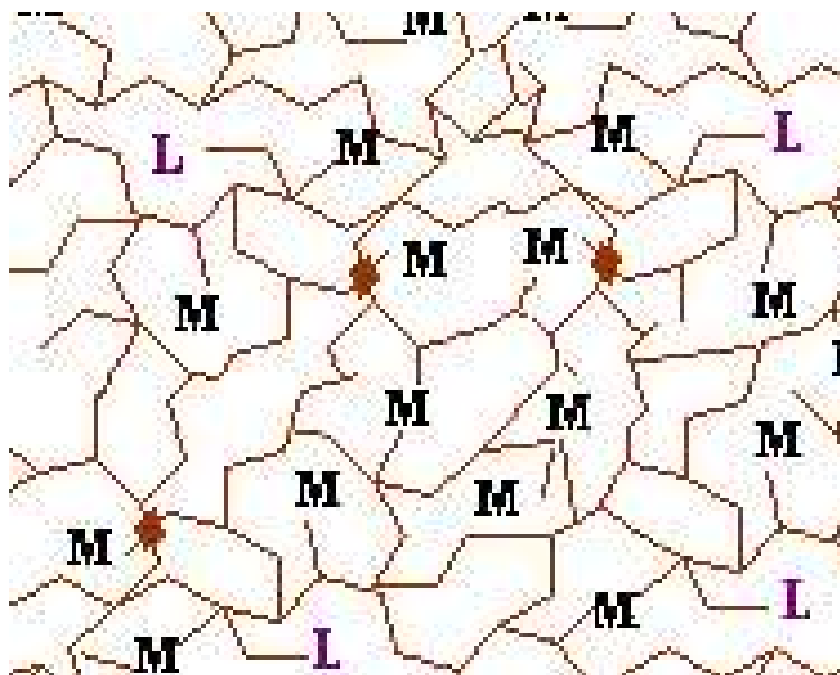
**Figura 10 – Mecanismos de reação do método de Pechini adaptado.**



Fonte: Autoria própria



Figura 11: Resultado da poliesterificação, onde M é o metal para formação do óxido e L o íon dopante.



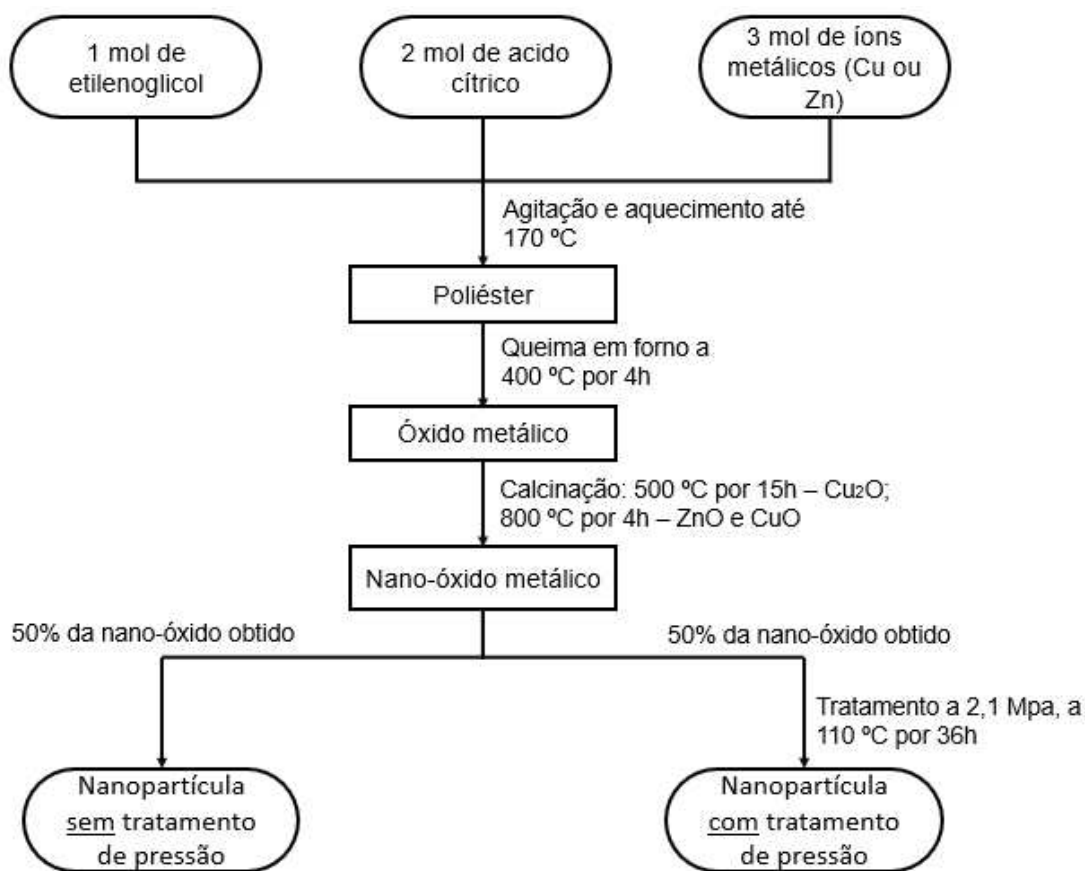
Fonte: Autoria própria

Após a obtenção de nanopartículas de óxido pela síntese adaptada do método Pechini, foi separada uma parcela dos compostos ZnO, CuO e Cu<sub>2</sub>O e realizado um tratamento de pressão a 2,1 Mpa, a 110 °C por 36 horas.

Este pós tratamento modifica a estrutura do composto, fazendo com que a quantidade de cargas negativas seja aumentada no material através da modificação de vacâncias de oxigênio (buracos gerados por saídas dos oxigênios durante o processo de obtenção dos óxidos). Além disso, pode-se criar um pequeno desvio angular nas estruturas geométricas (ex. tetraédrica, piramidal e etc.), o qual gera uma tensão na estrutura, modificando as distâncias dos elétrons das camadas mais externas do átomo, ou interferindo nos processos de absorção de luz.

Na Figura 12, se encontra o fluxograma simplificado do processo de obtenção das nanopartículas a partir do método Pechini adaptado.

Figura 12: Fluxograma do processo de síntese pelo método Pechini adaptado.



Fonte: Autoria própria

## 3.2 ATIVIDADE MICROBIANA

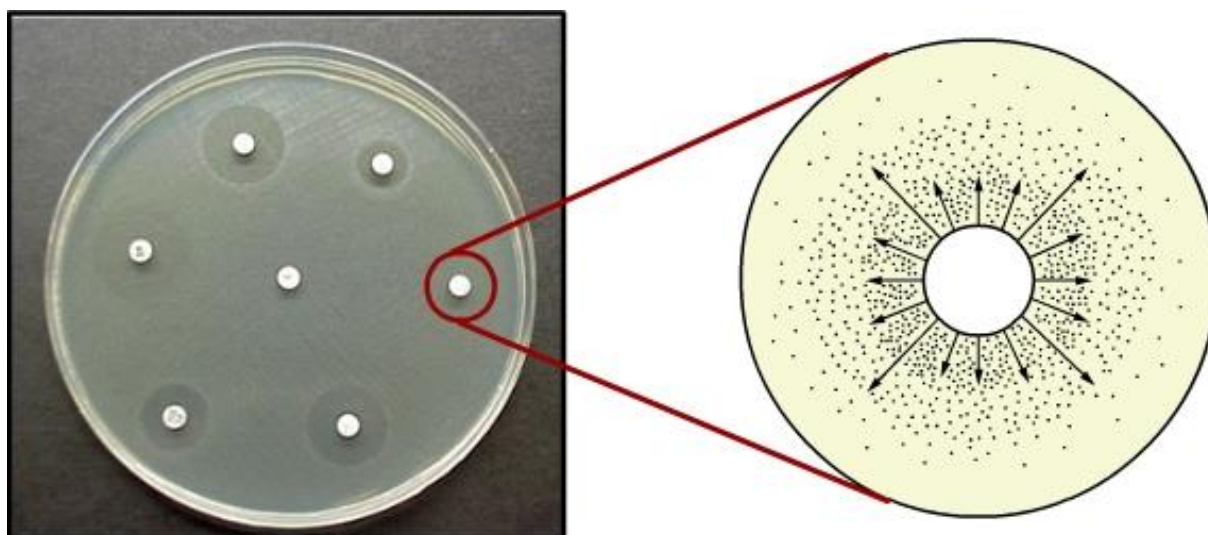
Com a obtenção das nanopartículas desejadas, bem como sua avaliação morfológica e estrutural, é necessário em seguida avaliar como a presença de nanopartículas no meio influenciam as atividades bacterianas das bactérias selecionadas neste trabalho.

### 3.2.1 Teste de Difusão em Ágar

O teste de difusão em ágar (Figura 12) foi feito com o intuito de avaliar qualitativamente o potencial antimicrobiano das nanopartículas de ZnO, CuO e Cu<sub>2</sub>O sobre as cepas de *E. coli* (CMIB), *P. aeruginosa* (CMIB), *Salmonella sp.* (CMIB) e *S.*

*epidermidis* (ATCC). O método é baseado na difusão de um antimicrobiano adicionado a superfície de um meio possuindo microrganismos inoculados. A partir desta mistura, surgem halos de inibição na região onde houve a difusão do antimicrobiano. Com esse fenômeno, é possível então classificar a amostra bacteriana como suscetível, intermediária ou resistente ao antimicrobiano. Normalmente essa classificação é feita com base no diâmetro do halo que surge no poço, sendo que o diâmetro de 2 mm ou menor indica resistente, entre 2 a 3 mm, intermediário, e de 3 mm acima, suscetíveis (SEJAS et al.,2003; OSTROSKY et al., 2007).

**Figura 13 – Representação do teste de difusão em ágar**



**Fonte (Machado & Gales, 2008)**

Para a execução do método de difusão em ágar, todo o material utilizado foi previamente esterilizado seguindo os procedimentos padrões de esterilização em autoclave, o qual todos os materiais foram autoclavados por 15 minutos, a uma temperatura de 120 °C e uma pressão de 1 atm.

Inicialmente foi preparado o meio de cultura BHI (*Brain Heart Infusion*), o qual foi aquecido até sua homogeneização e autoclavado. Em seguida foi depositado o BHI em todas as placas de Petri que seriam utilizadas para o teste. Após a solidificação do ágar na placa, foram repicadas, com o auxílio de alças descartáveis, cepas das quatro bactérias (*E. coli*, *P. aeruginosa*, *Salmonella sp.* e *S. epidermidis*) em placas distintas. Após 24h de crescimento dos microrganismos em uma estufa a 37 °C, com o auxílio da alça de platina, as bactérias foram inoculadas em tubos de ensaio

contendo solução salina 0,85%. A concentração de células bacterianas no inóculo foi ajustada conforme a escala McFarland 0,5 ( $1,5 \times 10^8$  células/mL).

Em seguida, 100  $\mu$ L dos inóculos diluídos foram colocadas na superfície do ágar BHI nas placas, e espalhadas com o auxílio da alça de Drigalski.

Após a secagem da solução de inóculo na placa contendo BHI, as nanopartículas, tanto com tratamento de pressão, quanto sem, foram depositadas, com auxílio de uma espátula. Todos os pontos foram feitos em triplicata, sendo depositadas em cada placa, 3 pontos de cada nanopartícula, contendo 15mg. Esse procedimento foi realizado para cada uma das bactérias.

Em seguida, as placas foram incubadas na estufa a 37 °C, por um período de aproximadamente 48 horas em aerobiose. Após este período, foi possível observar os resultados da inibição a partir da formação de halos, sendo feita a medição do diâmetro destes halos.

## 4 RESULTADOS E DISCUSSÕES

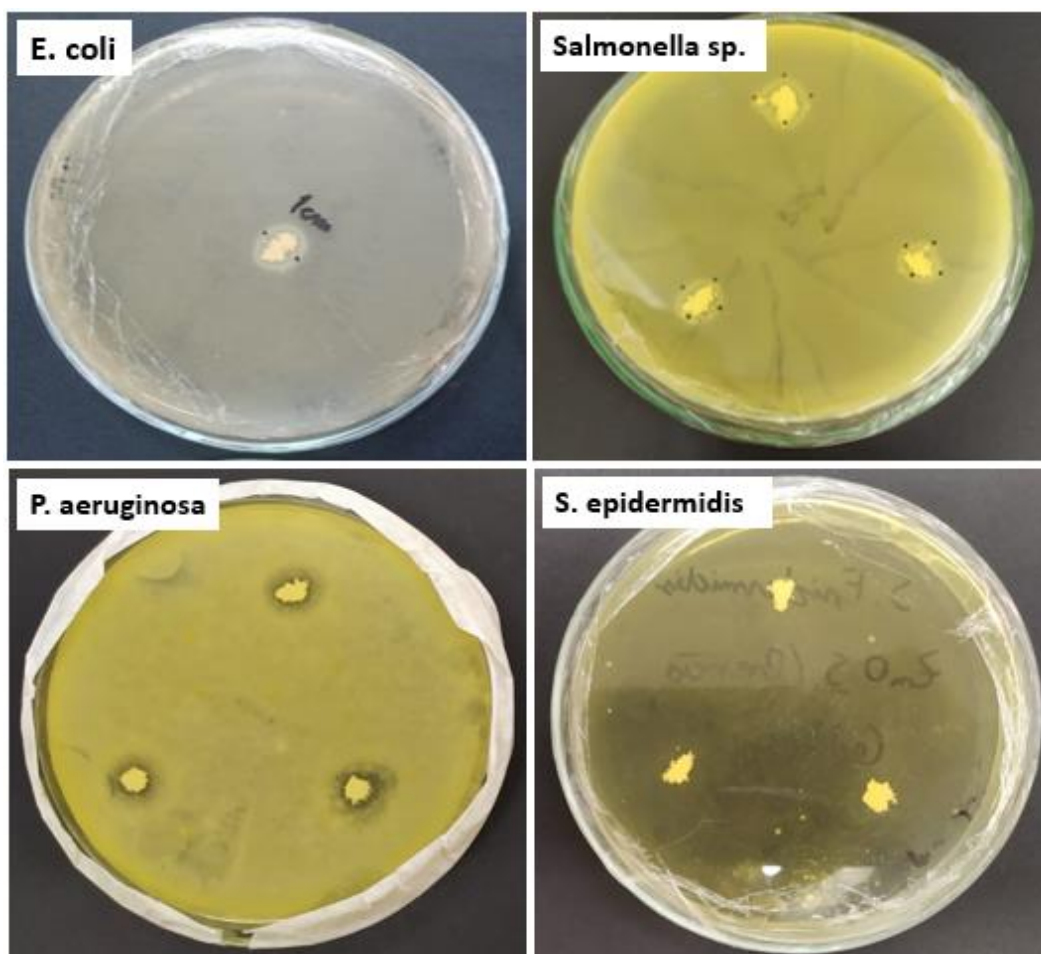
### 4.1 ATIVIDADE ANTIMICROBIANA

Como comentado anteriormente, foram avaliados o potencial antimicrobiano das nanopartículas de ZnO, CuO e Cu<sub>2</sub>O, sintetizadas com e sem o tratamento de pressão a 1 atm a 220 °C, para as bactérias *E. coli*, *Salmonella sp*, *P. aeruginosa* e *S. epidermidis*. Para isso foi realizado o teste de difusão em ágar com todas as amostras de nanopartículas e observados se houve ou não formação de halos de inibição nos meios de cultura contendo as bactérias, sendo feita a medição do diâmetro em caso de formação destes halos. Nas figuras ao longo deste tópico, as imagens são das placas após serem incubadas a 37 °C por um período de aproximadamente 48 horas.

#### 4.1.1 Nanopartículas de ZnO

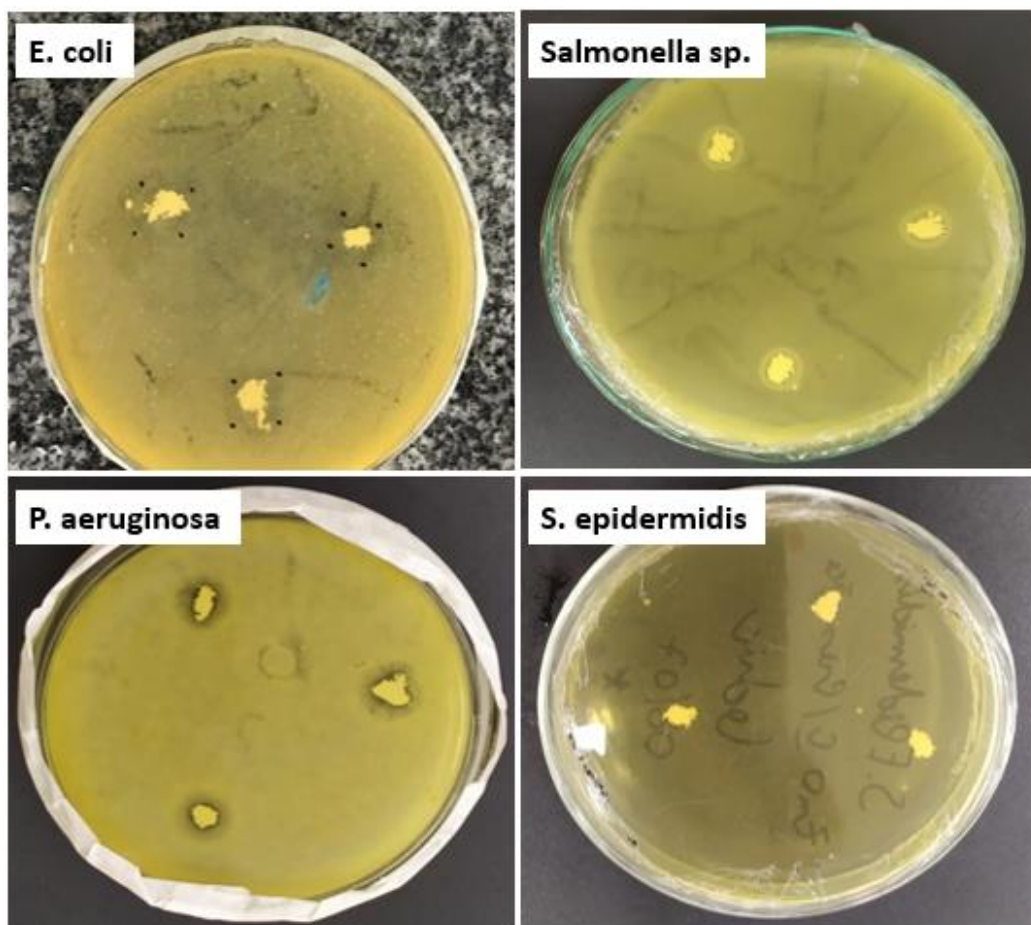
A partir da síntese pelo método de Pechini adaptado, as nanopartículas, tanto as sintetizadas com pressão quanto sem pressão, apresentaram inibição nas bactérias *E. coli*, *Salmonella sp* e *P. aeruginosa*, sendo a *S. epidermidis*, a única a apresentar resistência contra as nanopartículas de ZnO, não formando halos de inibição, como é mostrado nas Figura 13 e 14, (sem e com tratamento respectivamente).

Figura 14: Halos de inibição causado pela nanopartícula de ZnO sem tratamento de pressão.



Fonte: Autoria própria

Figura 15: Halos de inibição causado pela nanopartícula de ZnO com tratamento de pressão.



Fonte: Autoria própria

A bactéria mais suscetível a inibição por nanopartícula de ZnO, foi a *E. coli*, que apresentou um halo de inibição média de 13,5 mm para o tratamento com pressão.

A inibição de crescimento das bactérias utilizadas foi maior para as nanopartículas de ZnO com o tratamento de pressão, apresentando uma média de halos de inibição maior do que as nanopartículas de ZnO sem o tratamento de pressão para as bactérias *E. coli* e *Salmonella sp.*, como é mostrado na Tabela 1.

Tabela 1: Diâmetros de halos de inibição para a nanopartícula de ZnO

Nanopartículas	<i>E. coli</i>	<i>Salmonella sp.</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>S. epidermidis</i>
ZnO s/ pressão	9,3 mm	8,8 mm	8,2 mm	-
ZnO c/ pressão	13,5 mm	9,7 mm	8,2 mm	-

Fonte: Autoria própria

Esta diferença na toxicidade das nanopartículas em relação ao tratamento pode ser por conta da maior geração de carga negativas ou ERO's, que o tratamento com pressão causa nos compostos nanoparticulados, podendo afetar as estruturas internas das células bacterianas com maior agressividade, como pressupõe Sirelkhatim (2015).

Outra possível causa para esta variação seria devido ao aumento na absorção de luz que o tratamento com pressão pode causar na nanopartícula, que a partir desta maior energia absorvida, pode ocasionar em um aumento na interação com a bactéria, intensificando as atividades antibacterianas da nanopartícula, segundo Sirelkhatim (2015).

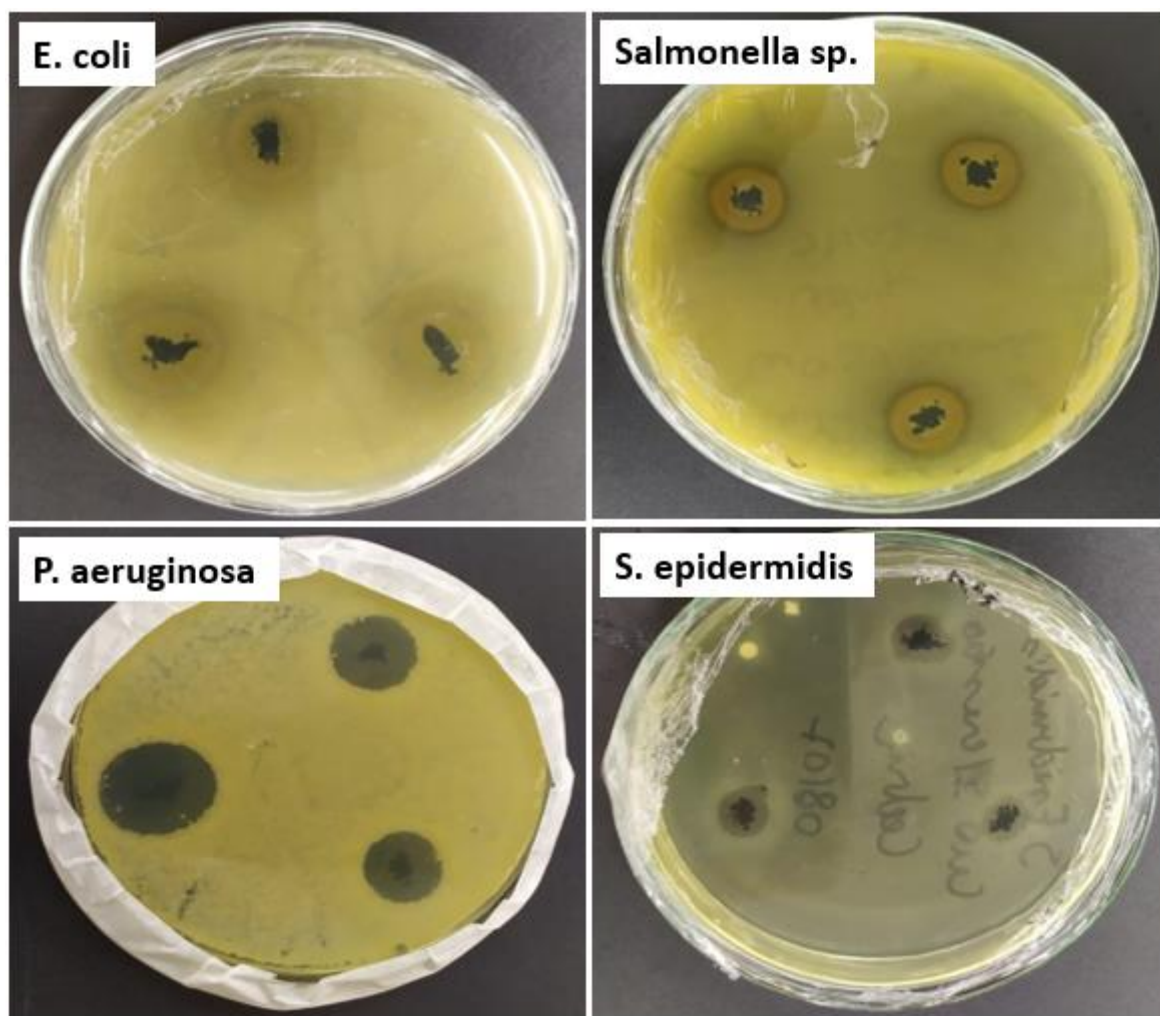
Para a interação entre nanopartículas de ZnO e a bactéria *P. aeruginosa*, os fenômenos citados acima não foram preponderantes no que tange o tratamento de pressão.

#### 4.1.2 Nanopartículas de CuO

Para as nanopartículas de CuO, tanto com tratamento de pressão quanto sem, a inibição foi percebida de forma mais intensa do que para as nanopartículas de ZnO, indicando que o CuO apresenta certo grau de toxicidade para as quatro bactérias do trabalho em questão, como mostra as Figura 15 e 16.

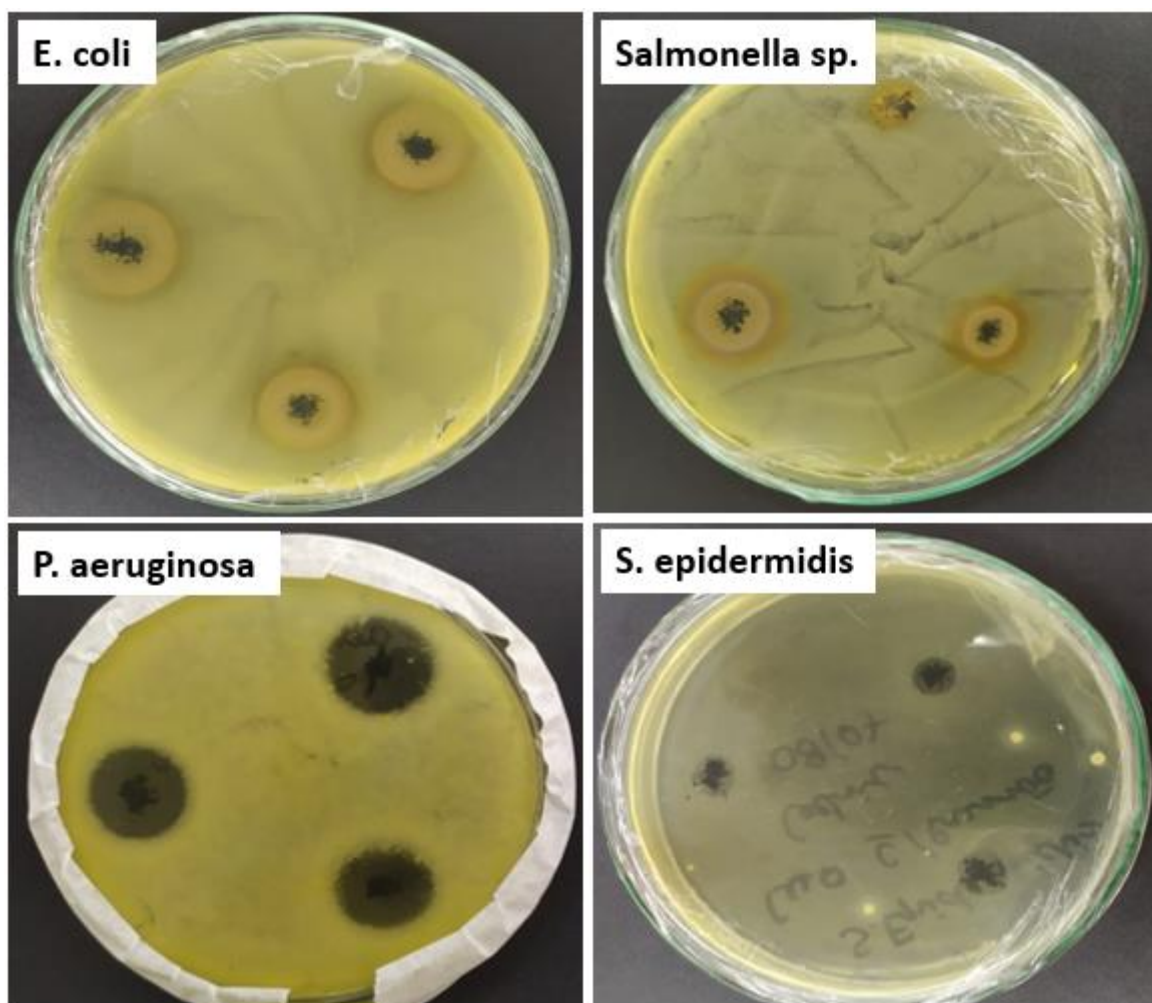


Figura 16: Halos de inibição causado pela nanopartícula de CuO sem tratamento de pressão.



Fonte: Autoria própria

Figura 17: Halos de inibição causado pela nanopartícula de CuO com tratamento de pressão.



Fonte: Autoria própria

Em relação ao tratamento de pressão, houve uma variação significativa no diâmetro dos halos de inibição para as nanopartículas de CuO sintetizadas com e sem o tratamento, levando a crer que os fatores de absorção de luz e geração ERO's tem influencias na interação entre CuO e as bactérias *E. coli*, *Salmonella sp.* e *P. aeruginosa*.

Com base nos valores da tabela 2, é possível observar que a bactéria com maiois sensibilidade a CuO foi a *E.coli*, com um diâmetro médio de inibição de 18,8 mm.

Tabela 2: Diâmetros de halos de inibição para a nanopartícula de CuO

Nanopartículas	<i>E. coli</i>	<i>Salmonella sp.</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>S. epidermidis</i>
CuO s/ pressão	18,0 mm	13,3 mm	15,8 mm	9,7 mm
CuO c/ pressão	18,8 mm	16,0 mm	18,1 mm	9,7 mm

Fonte: Autoria própria

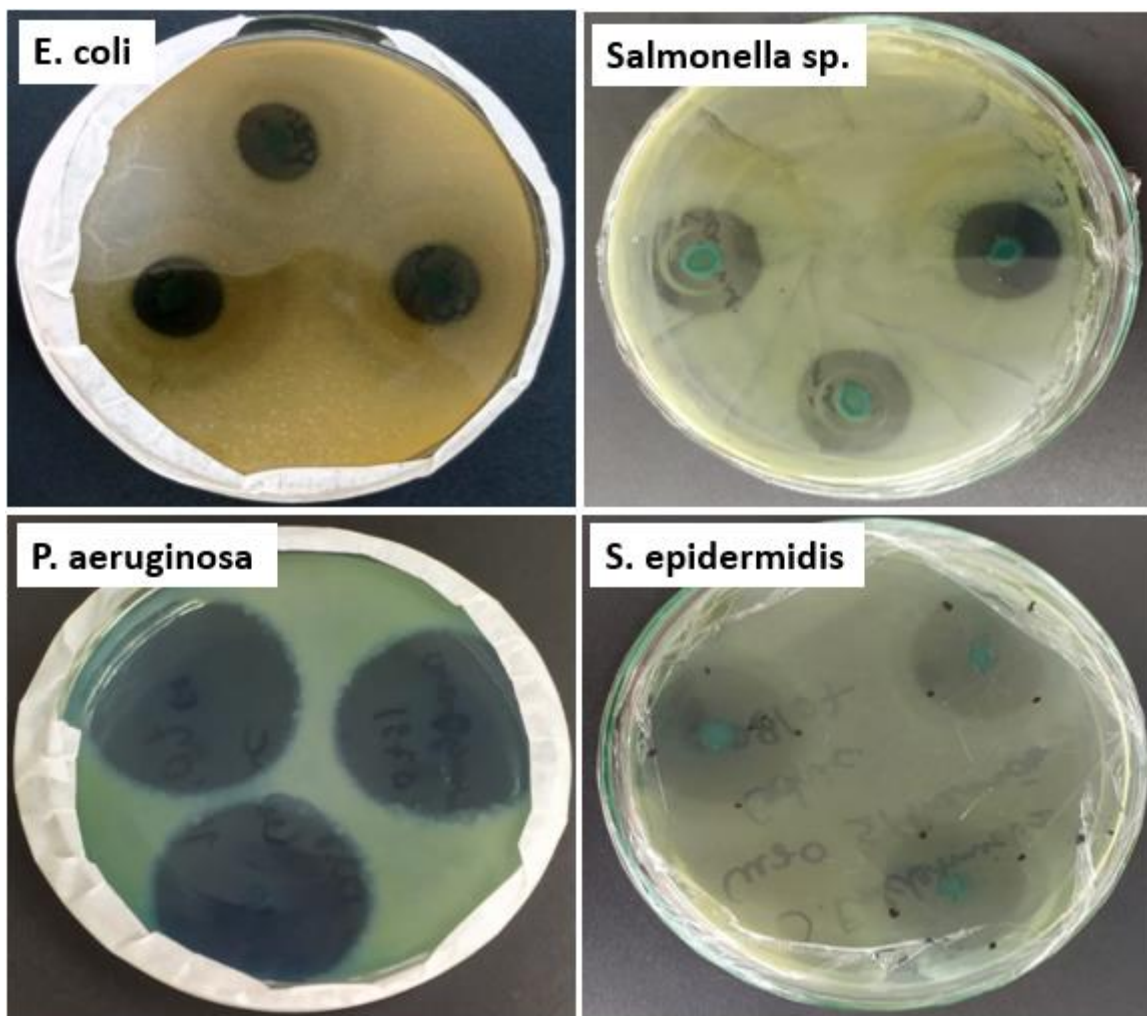
Para a interação entre a bactéria *S. epidermidis* e nanopartícula de CuO, não foi observado influência dos efeitos oriundos do tratamento de pressão.

#### 4.1.3 Nanopartículas de Cu<sub>2</sub>O

Assim como foi o caso do CuO, as nanopartículas de Cu<sub>2</sub>O, tanto sem o tratamento de pressão quanto com, apresentaram forte inibição ao crescimento de todas as quatro bactérias estudadas no trabalho, sendo as nanopartículas que apresentaram maior diâmetro nos halos de inibição nas bactérias *Salmonella sp*, *P. aeruginosa* e *S. epidermidis*, como é possível observar nas Figuras 17 e 18.

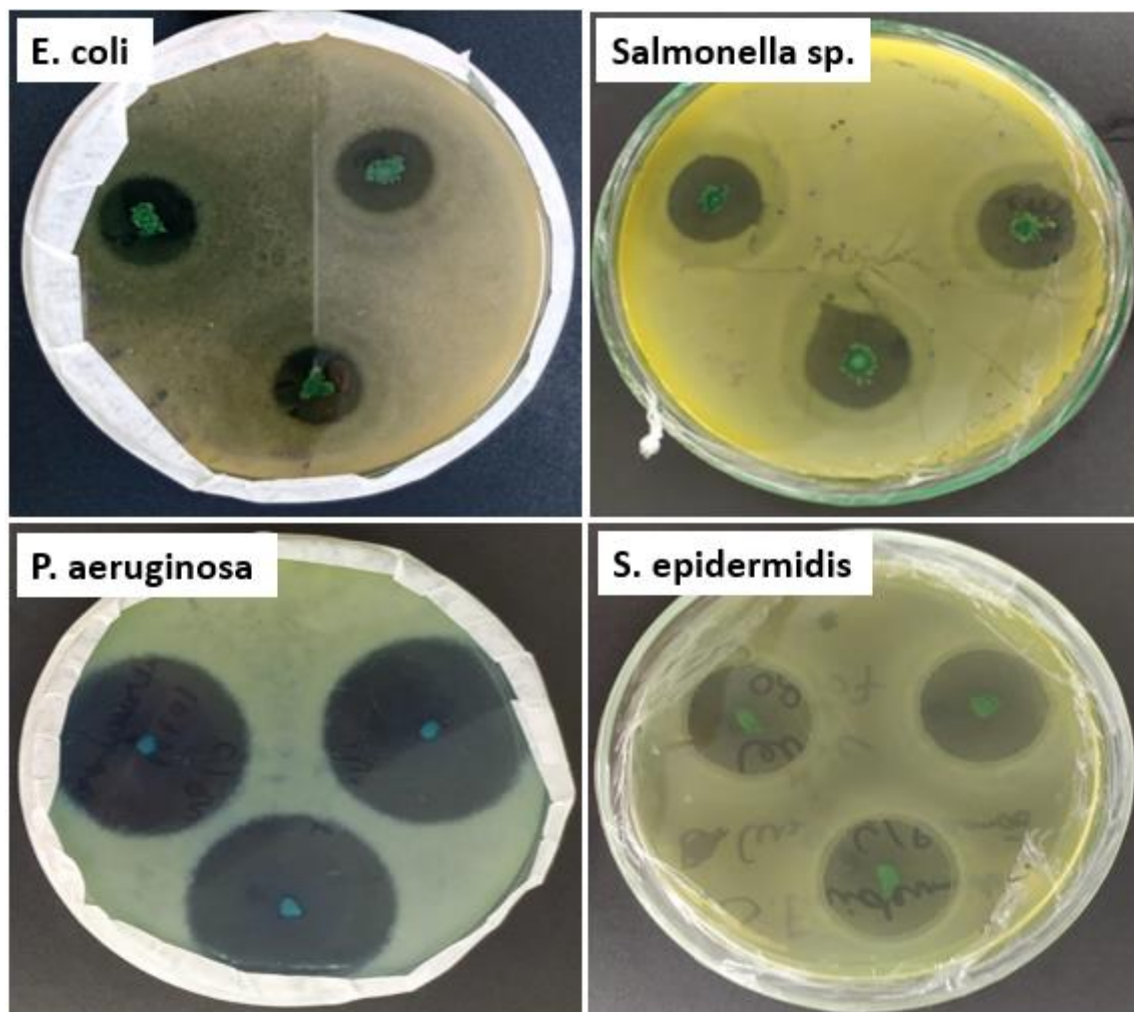
Um dos fatores que poderia explicar esse aumento nas propriedades antimicrobianas do Cu<sub>2</sub>O é o fato do composto apresentar maior concentração de íons metálicos em sua estrutura, podendo, segundo Sirelkhatim (2015), conferir características mais tóxicas às nanopartículas em relação aos microrganismos.

Figura 18: Halos de inibição causado pela nanopartícula de  $\text{Cu}_2\text{O}$  sem tratamento de pressão.



Fonte: Autoria própria

Figura 19: Halos de inibição causado pela nanopartícula de  $\text{Cu}_2\text{O}$  com tratamento de pressão



Fonte: Autoria própria

Entretanto, ao se avaliar a influência que tratamento de pressão na nanopartícula de  $\text{Cu}_2\text{O}$  tem frente as bactérias, só é perceptível o aumento nos halos de inibição na *P. aeruginosa*, não sendo possível observar impacto direto nas outras bactérias, como é mostrado na Tabela 3.

Tabela 3: Diâmetros de halos de inibição para a nanopartícula de  $\text{Cu}_2\text{O}$

Nanopartículas	<i>E. coli</i>	<i>Salmonella sp.</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>S. epidermes</i>
$\text{Cu}_2\text{O}$ s/ pressão	17,8 mm	20,1 mm	37,7 mm	26,3 mm
$\text{Cu}_2\text{O}$ c/ pressão	16,5 mm	18,2 mm	39,3 mm	25,0 mm

Fonte: Autoria própria



A bactéria com maior sensibilidade a nanopartícula de  $\text{Cu}_2\text{O}$  foi a *P. aeruginosa*, que apresentou um valor médio de 39,3 mm de diâmetro em seu halo de inibição.

Na tabela 4, encontram-se a medição de halos de todas as nanopartículas frente a todas as bactérias propostas no trabalho, a qual, olhando agora de forma comparativa, reforça a conclusão a respeito da maior toxicidade que as nanopartículas de  $\text{Cu}_2\text{O}$  tem frente a maioria das bactérias estudadas, assim como, a influencia que o tratamento de pressão tem na inibição de crescimento de algumas bactérias em frente a determinadas nanopartículas.

**Tabela 4: Diâmetros de halos de inibição para as três nanopartículas do trabalho.**

Nanopartículas	<i>E. coli</i>	<i>Salmonella sp.</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>S. epidermidis</i>
ZnO s/ pressão	9,3 mm	8,8 mm	8,2 mm	-
ZnO c/ pressão	13,5 mm	9,7 mm	8,2 mm	-
CuO s/ pressão	18,0 mm	13,3 mm	15,8 mm	9,7 mm
CuO c/ pressão	18,8 mm	16,0 mm	18,1 mm	9,7 mm
$\text{Cu}_2\text{O}$ s/ pressão	17,8 mm	20,1 mm	37,7 mm	26,3 mm
$\text{Cu}_2\text{O}$ c/ pressão	16,5 mm	18,2 mm	39,3 mm	25,0 mm

Fonte: Autoria própria

## 5 CONCLUSÃO

Avaliando os resultados encontrados neste trabalho, é possível confirmar a eficiência do método de Pechini adaptado para a síntese das nanopartículas de ZnO, CuO e  $\text{Cu}_2\text{O}$ , sendo inclusive um método com menor queima de  $\text{CO}_2$  em relação ao método original, apresentando grande potencial para a realização de síntese de nanopartículas em geral. Além disso, o método apresentou bom desempenho para conferir características antimicrobianas às nanopartículas.

Em relação ao potencial antimicrobiano das nanopartículas de ZnO, CuO e  $\text{Cu}_2\text{O}$ , é possível concluir que em sua grande maioria, todas apresentaram inibição ao crescimento das bactérias *E. coli*, *Salmonella sp.* e *P. aeruginosa*. A exceção está na *S. epidermidis*, que não apresentou inibição em relação a nanopartícula de ZnO,

sendo algo buscado no trabalho, uma vez que a bactéria *S. epidermidis* está presente naturalmente na pele humana, ou seja, baseado nos resultados do trabalho, a nanopartícula de ZnO não é prejudicial ao bem estar da pele humana.

As nanopartículas apresentaram toxicidades distintas para determinadas bactérias, sendo a *E.coli* a bactéria mais sensível às nanopartículas de ZnO e CuO, enquanto que a *P. aeruginosa* apresentou mais sensibilidade a nanopartícula de Cu<sub>2</sub>O.

Além disso, o tratamento de pressão feito nas nanopartículas apresentou, em alguns casos, maior efetividade na inibição do crescimento das bactérias *E.coli*, *Salmonella sp.* e *P. aeruginosa*. Suspeitasse que este fator se dê por conta do aumento da geração de ERO's e aumento da absorção de luz, o qual o pós tratamento de pressão pode proporcionar às nanoestruturas dos compostos, fatores estes mapeados por Sirelkhatim (2015).

Outro fator proposto por Sirelkhatim (2015), perceptível nas propriedades antimicrobianas, foram em relação a maior concentração de íons metálicos no composto, uma vez que a nanopartícula de Cu<sub>2</sub>O foi a que apresentou maior diâmetro nos halos de inibição nas bactérias *Salmonella sp.*, *P. aeruginosa* e *S. epidermidis*.

Com os resultados obtidos, é possível confirmar que as nanopartículas estudadas no trabalho apresentaram inibição às bactérias patogênicas propostas, cumprindo o objetivo proposto do trabalho. Porém, a interação entre nanopartícula e bactéria é um assunto que requer mais estudo, uma vez que cada nano-óxido tem uma interação diferente com cada bactéria, justificando a variação dos resultados obtidos no trabalho.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGARWAL, S. et al. Antimicrobial Peptides as Anti-Infectives against *Staphylococcus epidermidis*. **Medical Principles and Practice**, v. 25, n. 4, p. 301–308, 2016.

ALBUQUERQUE, A. K. C. DE. **Síntese de nanoestruturas de ZnO e TiO<sub>2</sub> via método sol-gel proteico e reação de combustão para aplicação em fotoproteção**. 2018. 53f. Trabalho de Conclusão de Curso em Engenharia de Materiais. Universidade Federal de Paraíba. João Pessoa, Paraíba, 2018.

ALBUQUERQUE, A. V. DE. A. **Desenvolvimento e avaliação antimicrobiana de revestimentos para madeira plástica a base de pmds com nanopartículas de prata e de óxido de zinco utilizado solution blow spraying (SBSp)**. 2017. 72f. Dissertação de Mestrado em Engenharia dos Materiais. Universidade Federal da Paraíba. João Pessoa, Paraíba, 2017.

ANANTH, A. et al. Copper oxide nanomaterials: Synthesis, characterization and structure-specific antibacterial performance. **Chemical Engineering Journal**, v. 262, p. 179-188, out. 2014.

ARAB, F. E. **Avaliação da atividade antimicrobiana de nanopartículas de óxido de zinco, óxido de cobre e prata em bactérias Gram-positivas e Gram-negativas**. 2018. 95f. Dissertação de Mestrado em Biotecnologia. Universidade Federal de São Carlos. São Carlos, São Paulo, 2018.

ARAÚJO, D. R. **Síntese e caracterização de óxido de magnésio obtido por diferentes técnicas e sua aplicação na produção de Biodiesel**. 2011. 118f. Dissertação de Mestrado em Química, Instituto de Química, Universidade de Brasília. Brasília, Distrito Federal. 2011.

BASHA, S. K.; LAKSHMI, K. V.; KUMARI, V. S. Ammonia sensor and antibacterial activities of green zinc oxide nanoparticles. **Sensing and Bio-Sensing Research**, v. 10, p. 34–40, 2016.



BESSO, M.M. **Tin salts of citric acid and method of preparation**. US Patent no 3123120, 19/10/1965.

BHAGYARAJ, S. M.; OLUWAFEMI, O. S.; KALARIKKAL, N. K.; THOMAS, S. **Synthesis of inorganic nanomaterial: Advances and key technologies**. 1ª edição. Elsevier Science. 2018.

BOOSHEHRI, A. Y.; WANG, R.; XU, R. Simple method of deposition of CuO nanoparticles on a cellulose paper and its antibacterial activity. **Chemical Engineering Journal**, v. 262, p. 999-1008, 2015.

BRATFICH, O. J. **Epidemiologia molecular de *Staphylococcus epidermidis* isolados de infecções de corrente sanguínea em pacientes do hospital das clínicas da unicamp**. 2005. 133f. Tese de Doutorado em Ciências Básicas. Faculdade de Ciências Médicas, Universidade Estadual de Campinas. Campinas, São Paulo, 2005.

CALLISTER Jr., Willian; RETHWISCH, David G. **Fundamentos da Ciência e Engenharia dos Materiais: Uma Abordagem Integrada**. Rio de Janeiro: LTC,2006

CAMACHO, C. S.; **Produção por plasma de nanotubos alinhados e suas aplicações em sensores de gases**. 2009, 100f. Tese de Doutorado em Física. Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2009.

CARDOSO, T.G.; CARVALHO, V. M. DE. Toxinfecção alimentar por *Salmonella* spp. **Revista do Instituto de Ciências da Saúde**. v. 24, n. 2, p. 95-101, 2006.

CARVALHO, I. T. **Microbiologia dos alimentos**. Recife: EDUFRPE, 2010.

CIOFFI, N., RAI, M. **Nano-Antimicrobials: Progress and Prospects**. 1 ed., Vol. 1. London: Springer. 2012

CONFESSOR, J. J.; SILVA, T. S. **Família do cobre**. [S.l]: Instituto Federal de Educação, Ciências e Tecnologia, 2013

COURA, F. M., LAGE, A. P., HEINEMANN, M. B. Patotipos de *Escherichia coli* causadores de diarreia em bezerros: uma atualização. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 34, n. 9, p. 811–818. 2014.

DEDAVID, B. A.; GOMES, C. I.; MACHADO, G. Microscopia eletrônica de varredura - aplicações e preparação de amostras - Materiais Poliméricos, metálicos e semicondutores. Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP) p. 1–30, 2007.

DHARMARAJ, D. et al. Antibacterial and cytotoxicity activities of biosynthesized silver oxide ( $\text{Ag}_2\text{O}$ ) nanoparticles using *Bacillus paramycoides*. **Journal of Drug Delivery Science and Technology**, v. 61, n. Out. 2020, p. 102 - 111, 2021.

DOBRUCKA, R.; DŁUGASZEWSKA, J. Biosynthesis and antibacterial activity of ZnO nanoparticles using *Trifolium pratense* flower extract. **Saudi Journal of Biological Sciences**, v. 23, n. 4, p. 517–523, 2016.

DODOU, H. V. **Atividade antimicrobiana da violaceína sobre *staphylococcus epidermidis***. 2017. 95f. Dissertação de Mestrado em Ciências Farmacêusticas. Faculdade de Farmácia, Odontologia e Enfermagem, Universidade Federal do Ceará. Fortaleza, Ceará. 2017.

DRIDI, S. et al. One-step spray of  $\text{Cu}_2\text{NiSnS}_4$  thin films as absorber materials for photovoltaic applications. **Journal of Materials Science: Materials in Electronics**, v. 31, n. 9, p. 7193–7199, 2020.

ESPITIA, P. J. P. et al. Zinc Oxide Nanoparticles: Synthesis, Antimicrobial Activity and Food Packaging Applications. **Food and Bioprocess Technology**, v. 5, n. 5, p. 1447–1464, 2012.

FILIPICĀ, G., CVELBAR, U. Copper oxide nanowires: a review of growth. **Nanotechnology**, v. 23, n. 19, p. 194001, 2012.

GAO, L. et al. Synthesis of Hierarchical Nanoporous Microstructures via the Kirkendall Effect in Chemical Reduction Process. **Scientific Reports**, v. 5, n. 1, 10 nov. 2015

GELATTI, L. C., BONAMIGO, R. R., BECKER, A. P.; d' AZEVEDO, P. A. *Staphylococcus aureus* resistentes à metilina: disseminaçāo emergente na comunidade. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, v. 84, n. 5, p. 501–506, 2009.

GRIGORE, M. et al. Methods of Synthesis, Properties and Biomedical Applications of CuO Nanoparticles. **Pharmaceuticals**, [S.L.], v. 9, n. 4, p. 75, 30 nov. 2016.

GUIMARĀES, D. O., MOMESSO, L. DA S., & PUPO, M. T. Antibióticos: importāncia terapēutica e perspectivas para a descoberta e desenvolvimento de novos agentes. **Química Nova**, v. 33, n. 3, p. 667–679. 2010.

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, 2012.

HENNEKINNE, J. A., BUYSER M. L., DRAGACCI S. *Staphylococcus aureus* and its food poisoning toxins: characterization and outbreak investigation. **FEMS**. v. 36, p. 815-836. 2012.

HUH, A. J., KWON, Y. J. "Nanoantibiotics": A new paradigm for treating infectious diseases using nanomaterials in the antibiotics resistant era. **Journal of Controlled Release**, v. 156, p. 128-145, 2011.

IJAZ, F.; SHAHID, S.; KHAN, S. A.; AHMAD, W.; ZAMAN, S. Green synthesis of copper oxide nanoparticles using *Abutilon indicum* leaf extract: Antimicrobial,

antioxidant and photocatalytic dye degradation activitie. **Tropical Journal of Pharmaceutical Research**, v. 16, n. 4, p. 743, 2017.

KASEMETS, K., IVASK, A., DUBOURGUIER, H.C., KAHRU, A. Toxicity of nanoparticles of ZnO, CuO and TiO<sub>2</sub> to yeast *Saccharomyces cerevisiae*. **Toxicology In Vitro**, v. 23, n. 6, p. 1116–1122, 2009.

LEAL, C. M. B. **Influência da rugosidade e energia livre de superfície de materiais para próteses removíveis a base de polimetilmetacrilato nas propriedades do biofilme de *Candida albicans***. 2011. 52f. Faculdade de Odontologia de Piracicaba, Universidade Estadual de Campinas, Piracicaba, São Paulo. 2011.

LI, R. et al. Biosynthesis of silver oxide nanoparticles and their photocatalytic and antimicrobial activity evaluation for wound healing applications in nursing care. **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology**, v. 199, n. 661, p. 111593, 2019.

LI, D. et al. The interaction of Ag<sub>2</sub>O nanoparticles with *Escherichia coli*: inhibition–sterilization process. **Scientific Reports**, v. 11, n. 1, p. 1–9, 2021.

LIMA, M. F. P. et al. *Staphylococcus aureus* e as infecções hospitalares – Revisão de literatura. **Revista UNINGÁ Review**, v. 21, n. 1, p. 32–39, 2015.

LIN, P.-C.; LIN, S.; WANG, P. C.; SRIDHAR, R. Techniques for physicochemical characterization of nanomaterials. **Biotechnology advances**, v. 32, n. 4, p. 711-726, 2014.

LIU, Y. et al. Antibacterial activities of zinc oxide nanoparticles against *Escherichia coli* O157:H7. **Journal of Applied Microbiology**, v. 107, n. 4, p. 1193–1201, 2009.

LOPES, A. C. C. et al. Fatores de risco para infecção por pseudomonas aeruginosa em relação a infecções hospitalares. **Brazilian Journal of Development**, v. 6, n. 1, p. 2121–2130, 2020.

MACHADO, A. M. O; GALES, A. C. Interpretação de Dados Microbiológicos. **Anvisa**, 2008. Disponível em: <  
[https://www.anvisa.gov.br/servicosaude/controlere/rede\\_rm/cursos/atm\\_racional/modulo2/introducao.htm](https://www.anvisa.gov.br/servicosaude/controlere/rede_rm/cursos/atm_racional/modulo2/introducao.htm) >. Acesso em: 11 de ago. de 2022.

MADIGAN, M.T.; MARTINKO, J.M.; DUNLAP, P.V.; CLARK, D.P. **Microbiologia de Brock**. 12. ed., Porto Alegre: Artmed, 2010. 1160 p.

MARAMBIO-JONES, C.; HOEK, E. M. V. A review of the antibacterial effects of silver nanomaterials and potential implications for human health and the environment. **Journal of Nanoparticles Research**, v. 12. p. 1531 – 1551, 2010.

MARCONE, G. P. DE S. Nanotecnologia e Nanociência: Aspectos gerais, aplicações e perspectivas no contexto do Brasil. **Perspectivas da Ciência e Tecnologia**, v. 7, p. 1–24, 2015.

MENDES, M. M.; CARMINATTI, M.; PINHEIRO, H. S. Severe sepsis from a Ciprofloxacin resistant salmonellosis in a kidney transplant recipient. **Jornal brasileiro de nefrologia: órgão oficial de Sociedades Brasileira e Latino-Americana de Nefrologia**, v. 39, n. 1, p. 82–85, 2017.

MORITZ, M.; GESZKE-MORITZ, M. The newest achievements in synthesis, immobilization and practical applications of antibacterial nanoparticles. **Chemical Engineering Journal**, v. 228, p. 596-613, 2013.

MURALI, M. et al. Antibacterial and antioxidant properties of biosynthesized zinc oxide nanoparticles from *Ceropegia candelabrum* L. – An endemic species. **Spectrochimic Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, v. 179, p. 104–109, 2017.

NAMVAR, A.E. et al. Clinical characteristics of *Staphylococcus epidermidis*: a systematic review. **Hygiene and Infection Control**, v.9, n.3, 2014.

NAZ, S.; GUL, A.; ZIA, M. Toxicity of copper oxide nanoparticles: A review study. **IET Nanobiotechnology**, v. 14, n. 1, p. 1–13, 2020.

NOGUEIRA, A. I. et al. Synthesis and Characterization of Silver Nanoparticles Produced with a Bifunctional Stabilizing Agent. **Industrial & Engineering Chemistry Research**. v. 53, p. 3426-3434, 2014.

NOGUEIRA, A. L. Síntese e caracterização de nanopartículas de óxido de zinco para aplicação como agente antibacteriano. **XXI Congresso Brasileiro de Engenharia Química**. 2016.

OLIVEIRA, A. L. D.; SOARES, M. M.; SANTOS, T. C. D.; DOS SANTOS, A. Mecanismos de resistência bacteriana a antibióticos na infecção urinária. **Revista UNINGÁ Review**, v. 20, n. 3, p. 65–71, 2014.

OZEN A. I.; DAVID, W. Usery Setting the *Pseudomonas* Genre: Where do we draw the line *Azotobacter*? **Ecol Microb**. v. 63, n. 2, p. 239-248, 2013.

ÖZGÜR, Ü. et al. A comprehensive review of ZnO materials and devices. **Journal of Applied Physics**, v. 98, n. 4, p. 1–103, 2005.

PADMAVATHY, N., VIJAYARAGHAVAN, R. Enhanced bioactivity of ZnO nanoparticles - an antimicrobial study. **Science and Technology of Advanced Materials**, v. 9, n. 3, p. 035004, 2008.

PANDIYARAJAN, T.; UDAYABHASKAR, R.; VIGNESH, S.; JAMES, R. A.; KARTHIKEYAN, B. Synthesis and concentration dependent antibacterial activities of CuO nanoflakes. **Materials Science and Engineering**. v. 33. p. 2020–2024. 2013.

PERKINS, D., SORENSEN, P. Mineral Synthesis and X-ray Diffraction Experiments. Em J. Brady, D. Mogk, & P. D., Teaching Mineralogy (1 ed., pp. 81-90). **Washington: Mineralogical Society of America**. 2011.

PHIWDANG, K. et al. Synthesis of CuO nanoparticles by precipitation method using different precursors. **Energy Procedia**. v. 34, p. 740-745, 2013.

PODGÓRSKA, B.; KĘDZIA, D. From a Commensal to a pathogen - Two faces of *Staphylococcus epidermidis*. **Postępy Mikrobiologii - Advancements of Microbiology**, v. 57, n. 4, p. 338–348, 2019.

PRASHANTH, G. K. et al. In vitro antibacterial and cytotoxicity studies of ZnO nanopowders prepared by combustion assisted facile green synthesis. **Karbala International Journal of Modern Science**, v. 1, n. 2, p. 67–77, 2015.

RAMYADEVI, J. et al. Synthesis and antimicrobial activity of copper nanoparticles. **Materials Letters**, v. 71, p. 114–116, 2012.

RANGEL, W. M. **Síntese de nanopartículas de óxido de cobre (II) pelo método de coprecipitação**. 2014. 81f. Dissertação de Mestrado em Engenharia Química. Universidade Federal de Santa Catarina. Florianópolis, Santa Catarina. 2014.

RASMUSSEN, J. W.; MARTINEZ, E.; LOUKA, P.; WINGETT, D. G. Zinc oxide nanoparticles for selective destruction of tumor cells and potential for drug delivery applications. **Expert Opinion Drug Delivery**. v. 7, n. 9, p. 1063–1077, 2010.

REN, G. et al. Characterisation of copper oxide nanoparticles for antimicrobial applications. **International Journal of Antimicrobial Agents**, v. 33, n. 6, p. 587-590, 2009.

ROCHA, F. S. et al. Experimental methods in chemical engineering: Ultraviolet visible spectroscopy - UV-Vis. **The Canadian Journal of Chemical Engineering**, v. 96, n. 12, p. 2512, 2018.

RODRIGUES, E. DA. S. **Nanopartículas de óxidos de zinco: Preparação e sintonização de propriedades óticas e estruturais via novos métodos sol-gel.** 2020. 131f. Tese de Doutorado em Ciência de Materiais. Universidade Federal de Pernambuco. Recife, Pernambuco. 2020.

RODRIGUES, F. G. F.; BRIZOLA, A. Radiação de baixa frequência e possível influência nociva a sistemas biológicos. **Revista Brasileira de Ensino de Física**, v. 41, n. 3, e20180289, 2019.

Rosa, C. et al. Construção de espectrofotômetro visível para fins didáticos. **Journal of Exact Sciences**. v. 21, n.1. p. 20-25, 2019.

ROY, K.; SARKAR, C. K.; GHOSH, C. K. Antibacterial mechanism of biogenic copper nanoparticles synthesized using *Heliconia psittacorum* leaf extract. **Nanotechnology Reviews**, v. 5, n. 6, p. 529–536, 2016.

RUBILAR, O. et al. Biogenic nanoparticles: copper, copper oxides, copper sulphides, complex copper nanostructures and their applications. **Biotechnology letters**, v. 35, n. 9, p. 1365-1375, 2013.

SANTO, A. L. DOS et al. *Staphylococcus aureus*: visitando uma cepa de importância hospitalar. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**. v. 43, n. 6, p. 413-423, 2017.

SHUME, W. M.; MURTHY, H. C. A.; ZEREFFA, E. A. A Review on Synthesis and Characterization of Ag<sub>2</sub>O Nanoparticles for Photocatalytic Applications. **Hindawi Journal of Chemistry**, v. 2020, 2020.

SILVA, T. L. **Atividade sinérgica do timol e agentes antimicrobianos frente à *Pseudomonas aeruginosa* multirresistente e seus efeitos sobre a biossíntese de biofilme e piocianina.** 2015. 68f. Dissertação de Mestrado em Ciências Farmacêuticas. Universidade Federal de Pernambuco, Recife, Pernambuco. 2015.



SILVA, L. S.; MONTEIRO, M. S. S. B. Avaliação da segurança de nanopartículas de dióxido de titânio e óxido de zinco em formulações antissolares. **Revista Virtual de Química**, v. 8, n. 6, p. 1963-1977, 2016.

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.

SIVARAJ, R. et al. Biosynthesis and characterization of *Acalypha indica* mediated copper oxide nanoparticles and evaluation of its antimicrobial and anticancer activity. **Spectrochimic a Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, v. 129, p. 255-258, 2014.

SOUZA, M. V., REIS, C., PIMENTA, F. C. Revisão sobre a aquisição gradual de resistência de *Staphylococcus aureus* aos antimicrobianos. **Revista De Patologia Tropical / Journal of Tropical Pathology**, v. 34, n. 1, 2007.

STARADUMSKYTE D., ALGIMANTAS P. Non-Fermentative Gram-Negative Bacteria in Drinking Water. **Journal of Water Resource and Protection**. v. 6, n. 2, 2014.

TARANATH, T. C.; PATIL, B. N. *Limonia acidissima* L. leaf mediated synthesis of zinc oxide nanoparticles: A potent tool against *Mycobacterium tuberculosis*. **International Journal of Mycobacteriology**, v. 5, n. 2, p. 197-204, 2016.

THEISEN, J. **Suscetibilidade de *Staphylococcus epidermidis* à vancomicina, rifampicina, azitromicina e eritromicina**. 2010. 28f. Trabalho de Conclusão de Curso em Farmácia. Universidade Federal do Rio Grande Do Sul. Porto Alegre, Rio Grande do Sul. 2010.

TOMA, E. E. **Nanotecnologia molecular – materiais e dispositivos**. Blucher. v. 6. 2016.

TORTAS, L. M. **Caracterização de integrões de classe 1 em *Pseudomonas aeruginosa***. 2009. 65f. Dissertação de Mestrado em Microbiologia. Universidade de Aveiro. Aveiro. 2009.

TORTORA, G.J.; FUNKE, B.R.; CASE, C.L. **Microbiologia**. 10. ed., Porto Alegre: Artmed, 2010.

TORTORA, G.J.; FUNKE, B.R.; CASE, C.L. **Microbiologia**. 8. ed., Porto Alegre: Artmed, 2005.

TRABULSI L. B.; ALTERTHUM F. **Microbiologia**. 5 ed. Atheneu, 2009.

USKOKOVIĆ, V. "Nanotechnologies: What we do not know", **Technology in society**, v. 29, n. 1, p. 43-61, 2007.

VITHIYA, K., KUMAR, R. SEN, S. Antimicrobial activity of biosynthesized silver oxide nanoparticles. **Journal of Pure and Applied Microbiology**. v. 8, n. 4, p. 3263 – 3268, 2014.

Wang, Z. L. Zinc oxide nanostructures: growth, properties and applications. **Journal of Physics: Condensed Matter**. v. 16, R829, 2004.

WOLD, A.; DWIGHT, K. **Solid state chemistry: synthesis, structure, and properties of selected oxides and sulfides**. [S.l.]: Springer, 1993.

XING, Y. et al. Effect of TiO<sub>2</sub> Nanoparticles on the Antibacterial and Physical Properties of Polyethylene-Based Films. **Progress in Organic Coating**, v. 73, p. 219-224, 2012.