



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"

Faculdade de Ciências Farmacêuticas

Campus de Araraquara

Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas



Atividade antimicrobiana de tecidos contendo nanopartículas de ZnO

Mariana Marin Garcia

Orientadora: Profa. Dra. Leila Aparecida Chiavacci Favorin

Araraquara-SP

2021



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"

Faculdade de Ciências Farmacêuticas

Campus de Araraquara

Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas



Atividade antimicrobiana de tecidos contendo nanopartículas ZnO

Mariana Marin Garcia

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em **Ciências Farmacêuticas**, Área de Pesquisa e Desenvolvimento de Fármacos e Medicamentos, da Faculdade de Ciências Farmacêuticas, UNESP, como parte dos requisitos para a obtenção do Título de Mestre em Ciências Farmacêuticas.

Orientadora: Prof.^a Dr.^a Leila Aparecida Chiavacci Favorin

Araraquara - SP

2021

G215a Garcia, Mariana Marin.
Atividade antimicrobiana de tecidos contendo nanopartículas
ZnO / Mariana Marin Garcia. – Araraquara: [S.n.], 2021.
109 f. : il.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual Paulista. "Júlio de Mesquita Filho". Faculdade de Ciências Farmacêuticas. Programa de Pós Graduação em Ciências Farmacêuticas. Área de Pesquisa e Desenvolvimento de Fármacos e Medicamentos.

Orientadora: Leila Aparecida Chiavacci Favorin.

1. Nanopartículas. 2. Óxido de zinco. 3. Atividade antimicrobiana.
4. Têxteis. I. Favorin, Leila Aparecida Chiavacci, orient. II. Título.

Diretoria do Serviço Técnico de Biblioteca e Documentação - Faculdade de Ciências Farmacêuticas
UNESP - Campus de Araraquara

CAPES: 33004030078P6

Esta ficha não pode ser modificada

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA DISSERTAÇÃO: ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DE TECIDOS CONTENDO
NANOPARTÍCULAS DE ZNO

AUTORA: MARIANA MARIN GARCIA

ORIENTADORA: LEILA APARECIDA CHIAVACCI FAVORIN

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Mestre em CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS, área: Pesquisa e Desenvolvimento de Fármacos e Medicamentos pela Comissão Examinadora:

Profa. Dra. LEILA APARECIDA CHIAVACCI FAVORIN (Participação Virtual)
Departamento de Fármacos e Medicamentos / Faculdade de Ciências Farmacêuticas - UNESP - Araraquara

Profa. Dra. CAMILA CRISTINA DE FOGGI (Participação Virtual)
Universidad Jaume I

Profa. Dra. TAIS MARIA BAUAB (Participação Virtual)
Departamento de Ciências Biológicas / Faculdade de Ciências Farmacêuticas - UNESP - Araraquara

Araraquara, 17 de setembro de 2021

Dedicatória

Dedico esse trabalho a todos que se fizeram presente durante essa trajetória, não me deixando desistir e contribuindo para que meus objetivos fossem alcançados.

“Crie a melhor e mais grandiosa visão possível para sua vida, porque você se torna aquilo que acredita” (Oprah Winfrey).

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a **Deus**, pelo dom da vida e proteção que tornaram possíveis para que eu chegasse até aqui, mesmo após os momentos difíceis me conduziu com paz e sabedoria tornando real este momento que se fez presente sempre em minhas orações.

A toda minha família, ao meu pai e especialmente a minha mãe **Joze**, que me apoiou, incentivou e mesmo longe de toda sua proteção o seu amor e incentivo sempre se fez presente. Aos meus irmãos **Gabriela** e **Arthur** que acreditaram em mim e sempre com muito amor e carinho estiveram ao meu lado trazendo alegria e aconchego ao meu coração.

Em especial gostaria de agradecer aos meus avós **Antônia** e **Natalino** (in memorian), mesmo sem muito conhecimento me ensinaram que os títulos mais valiosos não se faz presente entre os homens, que os bens mais preciosos não se compram, se vivem e que fora do amor tudo é sofrimento, eles foram grandes pilares em minha vida, eterna gratidão eu nunca os esquecerei.

Especialmente ao meu companheiro **Luiz Henrique**, que viveu essa trajetória comigo, sempre esteve pronto e forte ao meu lado, me incentivando e acreditando que no fim tudo daria certo, obrigada pela sua paciência, compreensão, amor e momentos de descontração.

A minha orientadora **Prof. Dra. Leila Aparecida Chiavacci Favorin** por todo conhecimento, auxílio transmitido durante este tempo, sempre com paciência e dedicação. Obrigada pela confiança e apoio.

As minhas amigas e companheiras do laboratório Ciência dos Materiais Aplicados à Farmácia – CMAF, **Bruna**, **Camila**, **Marina** e **Valesca**, por todo conhecimento, incentivo e carinho. Um agradecimento especial a **Bruna Lallo** que se dedicou a correções e ideias ao longo do desenvolvimento deste projeto.

Ao Instituto de Química da UNESP/Araraquara, em especial aos professores **Celso V. Santilli** e **Sandra Helena Pulcinelli**, pelo espaço cedido e permissão para utilização dos equipamentos utilizados para as caracterizações dos materiais.

A **Prof. Dra. Rosemeire Linhari Rodrigues Pietro** pelo espaço cedido para realização dos experimentos biológicos além de todo conhecimento e auxílio prestado à este trabalho e ao **Rodrigo Sorrechia** que esteve sempre pronto para acompanhar e contribuir durante a realização dos experimentos.

A empresa **LUPO S/A** de Araraquara-SP que forneceu gentilmente as fibras têxteis e se empenhou na realização das lavagens das amostras.

Ao apoio financeiro da **Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES)**.

À **Seção de Pós-graduação** e toda **Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Araraquara (UNESP)**.

RESUMO

Atualmente a resistência aos antimicrobianos tem sido um grande problema, uma vez que o uso indiscriminado dos antibióticos levou a seleção de cepas bacterianas resistentes. O óxido de zinco (ZnO) apresenta atividade antimicrobiana causando a morte dos microrganismos através da produção de espécies reativas de oxigênio (ERO), liberação de Zn^{2+} e internalização celular das nanopartículas de ZnO (NP ZnO). Além disso, é seguro para o uso humano, apresenta baixos custos processuais e boa degradabilidade. O objetivo deste trabalho é desenvolver têxteis contendo NP ZnO com propriedade antibacteriana, bem como analisar o potencial biocida após submeter os tecidos a diversos ciclos de lavagens. Para alcançar esse objetivo foram avaliadas a influência de parâmetros como o método de incorporação das NP ZnO, os tratamentos dos tecidos com corante ou amaciante e os tempos de reação da síntese das NP ZnO na atividade frente a cepa bacteriana *S. aureus* e *E. coli* e cepa *C. albicans*. As NP ZnO foram sintetizadas pelo método Sol-Gel pela metodologia proposta por Spanhel e Anderson (1991) com modificações. Após a síntese a superfície das NP ZnO foram modificadas para facilitar sua dispersão em água com (3-Glycidyloxypropyl)trimethoxysilane (GPTMS). O raio das NP ZnO sintetizadas por 1HR, 3HR e 24HR foi calculado pela técnica de UV-vis e os valores foram 3,13, 3,19, 3,31 nm, respectivamente. A técnica de Difração de raios-X (DRX) comprovou a obtenção das NP ZnO na fase hexagonal wurtzita e possibilitou o cálculo do tamanho de cristalito das NP ZnO que foram na ordem de 4 a 6 nm, compatíveis com os calculados por UV-vis. A presença das NP ZnO nos tecidos foi demonstrada através das caracterizações por DRX, Espectroscopia vibracional na região do infravermelho (FTIR), Microscopia eletrônica de varredura (MEV), Microscopia eletrônica de transmissão (TEM) e Espectroscopia de raios X por dispersão de energia (EDS). O potencial antimicrobiano das NP ZnO foi evidenciado através da Concentração inibitória mínima (CIM), Concentração bactericida mínima (CBM), Concentração fungicida mínima (CFM), demonstrando maior inibição para cepa de *S. aureus*, quando comparado a *E. coli*, entretanto pequenas concentrações foram suficientes para demonstrar ótima atividade biocida. Pouca atividade foi evidenciada das NP ZnO frente a cepa *C. albicans*. A atividade antibacteriana das fibras têxteis contendo diferentes tratamentos após a incorporação das NP ZnO foi avaliada por difusão em ágar e pela técnica JISL-1902/ISO-20743 demonstrando resultados promitentes após 10 e 20 lavagens. Dessa forma, as fibras têxteis funcionalizadas trata-se de um material promissor e econômico com potencial para erradicar ou prevenir o crescimento e infecções associadas a microrganismos patogênicos.

Palavras-chave: nanopartículas, óxido de zinco, atividade antimicrobiana, têxteis.

ABSTRACT

Currently, resistance to antimicrobials has been a major problem, since the indiscriminate use of antibiotics has led to the selection of resistant bacterial strains. Oxide Zinc (ZnO) shows antimicrobial activity causing the death of microorganisms through the production of reactive oxygen species (ROS), release of Zn^{2+} and cellular internalization of ZnO nanoparticles (ZnO NP). Furthermore, it is safe for human use, has low processing costs and good degradability. The objective of this work is to develop textiles containing ZnO NP with antibacterial property, as well as to analyze the biocide potential after submitting the fabrics to several washing cycles. To achieve this goal, the influence of parameters such as the method of incorporation of ZnO NP, fabric treatments with dye or fabric softener and reaction times of ZnO NP synthesis on the activity against bacterial strains *S. aureus* and *E. coli* were evaluated and *C. albicans* strain. The ZnO NP was synthesized by the Sol-Gel method by the methodology proposed by Spanhel and Anderson (1991) with modifications. After synthesis, the surface of ZnO NP was modified to facilitate its dispersion in water with (3-Glycidyloxypropyl)trimethoxysilane (GPTMS). The radius of the ZnO NP synthesized for 1HR, 3HR and 24HR was calculated using the UV-vis technique and the values were 3.13, 3.19, 3.31 nm, respectively. The X-ray Diffraction (XRD) technique proved the obtainment of NP ZnO in the hexagonal wurtzite phase and enabled the calculation of the crystallite size of NP ZnO which was in the order of 4 to 6 nm, compatible with those calculated by UV-vis. The presence of ZnO NP in fabrics was demonstrated through characterizations by XRD, vibrational spectroscopy in the infrared region (FTIR), Scanning electron microscopy (SEM), Transmission electron microscopy (TEM) and X-ray spectroscopy by energy dispersion (EDS). The antimicrobial potential of ZnO NP was evidenced through the Minimum Inhibitory Concentration (MIC), Minimum Bactericidal Concentration (CBM) and Minimum Fungicidal Concentration (CFM) demonstrating greater inhibition for the *S. aureus* strain, when compared to *E. coli*, a small amount was sufficient to demonstrate excellent activity biocide. Little activity was evidenced of ZnO NP against *C. albicans* strain. The antibacterial activity of textile fibers containing different treatments after the incorporation of ZnO NP was evaluated by agar diffusion and by the JISL-1902/ISO-20743 technique, showing promising results after 10 and 20 washes. Thus, functionalized textile fibers are a promising and economical material with the potential to eradicate or prevent the growth and infections associated with pathogenic microorganisms.

Keywords: nanoparticles, zinc oxide, antimicrobial activity, textiles.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Estrutura hexagonal wurtzita do óxido de zinco.....	19
Figura 2. Evolução no número de artigos científicos entre 2005 e 2020 segundo artigos disponíveis na base de dados PubMed a partir das palavras chaves “ZnO, antimicrobial, fabrics”	20
Figura 3. Proposta para os principais mecanismos de ação antibacteriana proposto para as NP ZnO.....	25
Figura 4. Camada contorno e os constituintes celulares das bactérias Gram-positivas e Gram-negativas	30
Figura 5. Esquema de preparação do precursor para a obtenção das NP ZnO.....	38
Figura 6. Representação esquemática da metodologia de avaliação de tecidos contendo NP ZnO, incluindo tipos de tecidos utilizados com os diferentes tratamentos, bem como, incorporação das NP ZnO sintetizadas em diferentes tempos de reação até a avaliação do potencial antibacteriano frente a cepa Gram-positiva, Gram-negativa e fúngica. Para a cepa de <i>C. albicans</i> é possível observar um * o que significa que esta cepa foi utilizada para avaliação do potencial antifúngico somente dos tecidos pretos	39
Figura 7. Conversão da Resazurina em Resorufina	45
Figura 8. Ilustração da metodologia realizada na técnica antimicrobiana qualitativa difusão em ágar	47
Figura 9. Gráficos do comprimento de onda em função da absorbância para as NP ZnO sintetizadas em diferentes tempos de reação sendo NP_ZnO_1HR, NP_ZnO_3HR e NP_ZnO_24HR ambas modificadas com GPTMS e dispersas em água	49
Figura 10. Difrátogramas de raios X dos pós das NP ZnO sintetizadas em diferentes tempos de reação com a superfície modificada pelo GPTMS.....	51
Figura 11. A imagem (a) representa a micrografia de TEM obtida para a dispersão aquosa de NP_ZnO_1HR e a imagem (b) representa a frequência do diâmetro calculado as NP ZnO a partir da micrografia de TEM pelo programa ImegJ	53
Figura 12. Tecidos de poliamida preto (a) e purgado (b) após o tratamento com NP_ZnO_1HR excitados à 360 nm.....	59
Figura 13. Difrátograma de raios X das amostras de tecidos de poliamida S/A após o tratamento com as NP ZnO sintetizadas em diferentes tempos de reação	61
Figura 14. Difrátograma de raios X das amostras de tecidos de poliamida A após o tratamento com as NP ZnO sintetizadas em diferentes tempos de reação	62
Figura 15. Espectro vibracional na região do infravermelho dos tecidos de poliamida S/A após o revestimento com NP ZnO sintetizadas em diferentes tempos de reação	63
Figura 16. Espectro vibracional na região do infravermelho dos tecidos de poliamida A após o revestimento com NP ZnO sintetizadas em diferentes tempos de reação	64

Figura 17. Microscopias obtidas por MEV das fibras têxteis de poliamida amaciada (a) e sem amaciar (b) antes da incorporação das NP_ZnO_1HR. As microscopias dos tecidos de poliamida amaciada contendo NP_ZnO_1HR é apresentada na imagem (c). As imagem (d) e (e) são para tecidos amaciados e sem amaciar após tratamento com NP_ZnO_1HR, respectivamente..... 66

Figura 18. A imagem (a) ilustra a micrografia de MET para os tecidos de poliamida tratados com NP_ZnO_1HR e imagem (b) ilustra o tecido de poliamida controle ou seja sem tratamento de NP ZnO 67

Figura 19. A imagem (a) ilustra as espectroscopias de raios X por dispersão de luz do tecido de poliamida amaciado após o tratamento com NP_ZnO_1HR, de acordo com o mapeamento por dispersão de energia os elementos encontrados foram zinco, oxigênio e carbono e podem ser visualizados nas imagens (b), (c) e (d), respectivamente. A imagem (e) representa os picos de acordo com a intensidade de cada elemento 69

Figura 20. A determinação da CIM em placa de 96 poços após a adição da resazurina é ilustrada na imagem (a). A imagem (b) ilustra o crescimento ou ausência do crescimento de colônias bacterianas em placa de Petri com ágar solidificado para a determinação da CBM e CFM..... 71

Figura 21. Foto das placas de Petri contendo ágar solidificado com as amostras têxteis sem NP ZnO demonstrando o crescimento celular da cepa *S. aureus* (a) *E. coli* (b) e a levedura *C. albicans* (c) e a inatividade dos tecidos sem a impregnação das nanopartículas 76

Figura 22. Foto das placas de Petri contendo as amostras têxteis pretas tratadas com NP ZnO sintetizadas em diferentes tempos de reação antes e após 10 lavagens, a atividade antibacteriana é evidenciada através da formação do halo de inibição formado pelos tecidos frente a cepa *S. aureus*.. 77

Figura 23. Foto das placas de Petri contendo as amostras têxteis purgadas com NP ZnO sintetizadas em diferentes tempos de reação antes e após 10 lavagens, a atividade antibacteriana é evidenciada através da formação do halo de inibição formado pelos tecidos frente a cepa *S. aureus* 78

Figura 24. Ilustração do diâmetro (mm) do halo de inibição formado pelas amostras de poliamida preto frente a *S. aureus*. No gráfico o eixo y corresponde ao diâmetro do halo de inibição formado pelas amostras após a impregnação das NP ZnO, enquanto o eixo x corresponde aos diferentes tempos de reação ao qual as NP ZnO foram sintetizadas, as barras representam os tecidos antes das lavagens, após 10 e 20 lavagens 79

Figura 25. Ilustração do diâmetro (mm) do halo de inibição formado pelas amostras de poliamida purgada frente a *S. aureus*. No gráfico o eixo y corresponde ao diâmetro do halo de inibição formado pelas amostras após a impregnação das NP ZnO, enquanto o eixo x corresponde aos diferentes tempos de reação ao qual as NP ZnO foram sintetizadas, as barras representam os tecidos antes das lavagens, após 10 e 20 lavagens..... 80

Figura 26. Ilustração do diâmetro (mm) do halo de inibição formado pelas amostras de poliamida preto A e S/A frente a *E. coli*. No gráfico o eixo y corresponde ao diâmetro do halo de inibição formado pelas amostras após a impregnação das NP ZnO, enquanto o eixo x corresponde aos diferentes tempos de reação ao qual as NP ZnO foram sintetizadas, as barras representam os tecidos antes das lavagens, após 10 e 20 lavagens 82

Figura 27. Ilustração do diâmetro (mm) do halo de inibição formado pelas amostras de poliamida purgado A e S/A frente a *E. coli*. No gráfico o eixo y corresponde ao diâmetro do halo de inibição formado pelas amostras após a impregnação das NP ZnO, enquanto o eixo x corresponde aos diferentes tempos de reação ao qual as NP ZnO foram sintetizadas, as barras representam os tecidos antes das lavagens, após 10 e 20 lavagens 83

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Reagentes utilizados na síntese das NP ZnO e nos testes antimicrobianos	36
Tabela 2. Raio das NP ZnO sintetizadas em diferentes tempos de reação através do cálculo de massa efetiva proposto por Brus	50
Tabela 3. Tamanho médio calculado pela formula de Deby Scherrer a partir dos difratogramas obtidos das NP ZnO sintetizadas em diferentes tempos de reação.....	52
Tabela 4. Impregnação das NP ZnO em diferentes fibras textéis	54
Tabela 5. Valores da incorporação das NP ZnO através da massa final menos a massa inicial, alterando as concentrações das suspensões de NP ZnO incorporadas nos tecidos de poliamida através de agitação magnética. Os valores apresentados mostram a média da triplicata.....	56
Tabela 6. Valores da incorporação das NP ZnO atribuídos em relação a massa final menos a massa inicial, alterando os parâmetros de agitação em banho a seco no sheker para incorporação das NP ZnO. Os resultados apresentados mostram a média da triplicata	57
Tabela 7. Massa total dos tecidos após a incorporação das NP ZnO sem lavar e dos tecidos lavados 10 vezes.....	60
Tabela 8. Comprimento de onda e modos vibracionais dos tecidos de poliamida amaciados e sem amaciar antes e após o tratamento com as NP ZnO sintetizadas em diferentes tempos de reação	64
Tabela 9. Determinação da CIM e CBM das NP ZnO sintetizadas em diferentes tempos de reação frente a cepa <i>S. aureus</i>	72
Tabela 10. Determinação da CIM e CBM das NP ZnO sintetizadas em diferentes tempos de reação frente a cepa <i>E. coli</i>	73
Tabela 11. Determinação da CIM e CFM das NP ZnO sintetizadas em diferentes tempos de reação frente a cepa fúngica <i>C. albicans</i>	75
Tabela 12. Descrição dos diferentes tratamentos e tipos dos tecidos de poliamida para avaliação do potencial antimicrobiano	76
Tabela 13. Diâmetro (mm) do halo de inibição formado pelas amostras de poliamida preto após o tratamento com NP ZnO sintetizadas em diferentes tempos de reação antes e após lavagens frente a cepa bacteriana <i>S. aureus</i>	78
Tabela 14. Diâmetro (mm) do halo de inibição formado pelas amostras de poliamida purgado após o tratamento com NP ZnO sintetizadas em diferentes tempos de reação antes e após lavagens frente a cepa bacteriana <i>S. aureus</i>	79
Tabela 15. Diâmetro (mm) dos halos de inibição formado pelos tecidos de poliamida preto contendo diferentes tratamento após incorporação das NP ZnO sintetizadas em diferentes tempos de reação frente a cepa <i>E. coli</i>	81

Tabela 16. Diâmetro (mm) dos halos de inibição formado pelos tecidos de poliamida purgado contendo diferentes tratamento após incorporação das NP ZnO sintetizadas em diferentes tempos de reação frente a cepa <i>E. coli</i>	82
Tabela 17. Número de colônias bacterianas (UFC/mL) de <i>S. aureus</i> nos tecidos A e S/A impregnados com as NP_ZnO_1HR e os controles nos tempos de 0h e 24HR	86
Tabela 18. Comparação do percentual de crescimento e redução do crescimento celular no tempo 0 e 24 horas após a inoculação de <i>S. aureus</i> nas amostras têxteis S/A impregnadas com as NP ZnO 1HR antes e após 20L	86
Tabela 19. Comparação do percentual do crescimento e redução do crescimento celular no tempo 0 e 24 horas após o inoculação de <i>S. aureus</i> nas amostras têxteis A impregnadas com as NP ZnO 1HR antes e após 20 L.	87
Tabela 20. Comparação do crescimento de colônias de <i>S. aureus</i> no tempo de 0h e 24h dos tecidos S/A impregnados com as NP ZnO antes das lavagens e após 20 lavagens	88
Tabela 21. Comparação do crescimento de colônias de <i>S. aureus</i> no tempo de 0h e 24h dos tecidos A antes e após 20 lavagens.....	88
Tabela 22. Número de colônias bacterianas (UFC/mL) de <i>E. coli</i> nos tecidos A e S/A impregnados com as NP_ZnO_1HR e os controles nos tempos de 0h e 24h.....	89
Tabela 23. Comparação do crescimento de colônias de <i>E. coli</i> no tempo de 0h e 24h dos tecidos S/A antes das lavagens e após 20 lavagens.....	90
Tabela 24. Comparação do crescimento de colônias de <i>E. coli</i> no tempo de 0h e 24h dos tecidos A antes das lavagens e após 20 lavagens.....	90

LISTA DE ABREVIATURAS

NPs	Nanopartículas
NP ZnO	Nanopartículas de óxido de zinco
ZnO	Óxido de zinco
GPTMS	(3-Glycidyloxypropyl)trimethoxysilane
LiOH	Hidróxido de lítio
MET	Microscopia eletrônica de transmissão
MEV	Microscopia eletrônica de varredura
UV-vis	Espectroscopia na região ultravioleta visível
DRX	Difração de raios X
FTIR	Espectroscopia Vibracional no Infravermelho com Transformada de Fourier
EDS	Espectroscopia de raios X por dispersão de energia
CIM	Concentração inibitória mínima
CBM	Concentração bactericida mínima
CFM	Concentração fungicida mínima
ERO	Espécies reativas de oxigênio
NP_ZnO_1HR	Nanopartículas de óxido de zinco com GPTMS, sintetizadas por 1 HR temperatura de 50 °C.
NP_ZnO_3HR	Nanopartículas de óxido de zinco com GPTMS, sintetizadas por 3 HR temperatura de 50 °C.
NP_ZnO_24HR	Nanopartículas de óxido de zinco com GPTMS, sintetizadas por 24 HR temperatura de 50 °C.
A	Tecidos de poliamida contendo amaciante
S/A	Tecidos de poliamida sem amaciante
S/L	Tecidos de poliamida sem lavagens
L10	Tecidos de poliamida após 10 lavagens
L20	Tecidos de poliamida após 20 lavagens
<i>S. aureus</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
<i>E. coli</i>	<i>Escherichia coli</i>
<i>C. albicans</i>	<i>Candida albicans</i>

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	15
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	18
2.1. ÓXIDO DE ZINCO	18
2.2. SÍNTESE SOL-GEL	20
2.3. MODIFICAÇÃO DE SUPERFÍCIE	21
2.4. ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DAS NP ZNO E MECANISMOS DE AÇÃO.....	24
2.4.1. PRODUÇÃO DAS ESPÉCIES REATIVAS DE OXIGÊNIO	25
2.4.2. INTERAÇÃO DAS NP ZNO COM A MEMBRANA CELULAR E INTERNALIZAÇÃO CELULAR	27
2.4.3. DANOS INDUZIDOS PELA LIBERAÇÃO DOS ÍONS Zn^{+2}	28
2.5. HISTÓRICO DAS FIBRAS TÊXTEIS	32
2.6. TÊXTEIS FUNCIONAIS	33
3. OBJETIVOS	35
3.1. OBJETIVO GERAL	35
4. PARTE EXPERIMENTAL.....	36
4.1. REAGENTES E EQUIPAMENTOS	36
4.2. SÍNTESE DAS NP ZNO.....	37
4.3. PREPARO DAS AMOSTRAS DE TECIDOS	39
4.4. IMPREGNAÇÃO DAS NP ZNO NAS FIBRAS TÊXTEIS	40
4.4.1. Incorporação por imersão sob agitação magnética.....	40
4.4.2. Incorporação por imersão sob agitação em banho a seco no shaker	40
4.5. CARACTERIZAÇÃO DAS NP ZNO E DAS FIBRAS TÊXTEIS APÓS A INCORPORAÇÃO DAS NP ZNO.....	40
4.5.1. Espectroscopia de absorção na região ultravioleta visível – UV-vis.....	40
4.5.2. Difração de raios X - DRX.....	41
4.5.3. Microscopia eletrônica de transmissão – TEM	42
4.5.4. Avaliação da incorporação das NP ZnO por diferença de massa.....	42
4.5.5. Avaliação da incorporação das NP ZnO por luminescência	42
4.5.6. Lavagem das amostras têxteis	43
4.5.7. Espectroscopia Vibracional no Infravermelho com Transformada de Fourier – FTIR.....	43
4.5.8. Microscopia Eletrônica de Varredura – MEV	43
4.5.9. Espectroscopia de raios X por espalhamento de luz dinâmica – EDS	43
4.6. CARACTERIZAÇÃO DO POTENCIAL ANTIBACTERIANO.....	44
4.6.1. Determinação da concentração inibitória mínima – CIM	44
4.6.2. Determinação da Concentração Bactericida Mínima (CBM) e fungicida (CFM).....	46
4.6.3. Difusão em ágar	46
4.6.4. Determinação da atividade antibacteriana de produtos antibacterianos acabados (têxteis) - JIS L 1902/ ISO20743	48
4.6.5. Análise estatística	48
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	49
5.1. ESPECTROSCOPIA DE ABSORÇÃO NA REGIÃO ULTRAVIOLETA VISÍVEL - UV - VIS DAS DISPERSÕES AQUOSAS DAS NP ZNO.....	49
5.2. DIFRAÇÃO DE RAIO X – DRX DOS PÓS DE NP ZNO	51
5.3. MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE TRANSMISSÃO – TEM DAS DISPERSÕES AQUOSAS DE NP ZNO.....	53

5.4.	DEFINIÇÃO DA FIBRA TÊXTIL	54
5.5.	AVALIAÇÃO DA IMPREGNAÇÃO DAS NP ZNO NOS TECIDOS POR DIFERENCIAL DE MASSA ..	56
5.6.	AVALIAÇÃO DA INCORPORAÇÃO DAS NP ZNO POR LUMINESCÊNCIA	58
5.7.	LAVAGEM DAS AMOSTRAS TÊXTEIS APÓS O TRATAMENTO COM AS NP ZNO	59
5.8.	DIFRAÇÃO DE RAIOS X – DRX DAS FIBRAS TÊXTEIS APÓS O TRATAMENTO COM AS NP ZNO.....	60
5.9.	ESPECTROSCOPIA VIBRACIONAL NA REGIÃO DO INFRAVERMELHO TRANSFORMADA DE FOURIER– FTIR DAS FIBRAS TÊXTEIS APÓS O TRATAMENTO COM AS NP ZNO	63
5.10.	MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA – MEV DAS FIBRAS TÊXTEIS APÓS O TRATAMENTO COM NP ZNO.....	65
5.11.	MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE TRANSMISSÃO – MET DAS FIBRAS TÊXTEIS APÓS O TRATAMENTO COM AS NP ZNO.....	67
5.12.	ESPECTROSCOPIA DE RAIOS X POR DISPERSÃO DE ENERGIA – EDS DAS FIBRAS TÊXTEIS APÓS O TRATAMENTO COM AS NP ZNO	68
5.13.	CONCENTRAÇÃO INIBITÓRIA MÍNIMA (MIC), CONCENTRAÇÃO BACTERICIDA MÍNIMA (CBM) E CONCENTRAÇÃO FUNGICIDA MÍNIMA (CFM)	70
5.14.	DIFUSÃO EM ÁGAR	75
5.15.	DETERMINAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIBACTERIANA DE PRODUTOS ANTIBACTERIANOS ACABADOS (TÊXTEIS) - JIS L 1902/ ISO20743.....	85
5.	CONCLUSÕES.....	92
	REFERÊNCIAS	95

1. INTRODUÇÃO

A sociedade em geral tem sua saúde ameaçada por microrganismos oportunistas ou multirresistentes, uma vez que estes patógenos são responsáveis por causar inúmeras doenças e infecções no cotidiano (DEREWACZ *et al.*, 2013).

As infecções relacionadas a assistência da saúde (IRAS) são as mais recorrentes.

As IRAS são originárias dos cuidados recebidos em hospitais ou unidades de saúde, podendo aparecer após 48 horas ou até 30 dias consecutivos ao atendimento ou alta do paciente (MURPHY; TCHETCHIK; FURXHI, 2020).

Os dados mundiais publicados pela Organização Mundial da Saúde (OMS) apontam que doenças causadas por microrganismos resistentes levam a pelo menos 700.000 mortes anual no mundo, em maiores proporções podem atingir 10 milhões de mortes até 2050 (INTERAGENCY COORDINATION GROUP ON ANTIMICROBIAL RESISTENCE, 2019).

As IRAS nos EUA geram um custo direto que pode variar de US \$ 28 bilhões a 45 bilhões (STONE, 2009). A união europeia estima US \$ 12 bilhões por ano, além disso 6,5 % dos pacientes que receberam atendimento hospitalar foram acometidos por pelo menos uma IRAS (MURPHY; TCHETCHIK; FURXHI, 2020; SUETENS *et al.*, 2018). Ainda a Austrália é acometida com aproximadamente 165.000 casos anuais tornando uma das complicações hospitalares mais recorrentes (MURPHY; TCHETCHIK; FURXHI, 2020).

De acordo com o Ministério da Saúde no Brasil, pelo menos 70% dos microrganismos causadores de infecções presentes nos hospitais apresentam resistência à no mínimo um dos antibióticos que são usualmente utilizados para o tratamento dos pacientes em casos de infecções bacterianas (TEIXEIRA; FIGUEIREDO; FRANÇA, 2019)

Recentemente um estudo da literatura apontou que patógenos bacterianos incluindo *Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* e espécies de *Enterobacter* provocam 2 milhões de infecções e mais de 20.000 mortes anualmente em todo o mundo (MAKVANDI *et al.*, 2020).

As estirpes de *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina (MRSA) estão presentes em todo o mundo, este patógeno está associado a infecções graves e altas taxas de mortalidade, a grande dificuldade é a resistência bacteriana do MRSA frente a maioria dos antibióticos além da grande disseminação (BURHAN; ABDULRAHMAN; NSSAIF, 2016).

A resistência bacteriana pode ser gerada por mutações genéticas a partir de respostas adaptativas ou até mesmo por transferência de elementos resistentes de uma bactéria para outra (DEREWACZ *et al.*, 2013; KUMAR *et al.*, 2017; PRADHAN *et al.*, 2020).

O uso prolongado e indiscriminado dos antimicrobianos é associado como uma das causas que intensificou ainda mais o problema da resistência microbiana (PRADHAN *et al.*, 2020). O uso em excesso e inadequado dos antibióticos permite que as bactérias adquiriram mecanismos de resistência e, como consequência, há a seleção de bactérias resistentes. Dessa forma, o desenvolvimento de novos agentes antimicrobianos torna-se uma necessidade (CHERNOV *et al.*, 2019; PETERSON; KAUR, 2018).

Novas estratégias têm sido adotadas nas últimas décadas para combater problemas frequentes relacionados à resistência aos antimicrobianos. Os óxidos metálicos inorgânicos ganharam maior atenção por oferecerem vantagens importantes, tais como menor toxicidade e menor capacidade de gerar resistência frente aos microrganismos, devido aos mecanismos de ação e potencial bactericida promissor (LALLO DA SILVA; CAETANO; *et al.*, 2019; PADMAVATHY; VIJAYARAGHAVAN, 2008).

Dentre os óxidos metálicos, os mais estudados são o óxido de zinco (ZnO) e dióxido de Titânio (TiO₂) devido ao seu amplo espectro de atividade contra vírus, bactérias e fungos (PATHAK *et al.*, 2019).

A atividade antibacteriana do ZnO está relacionada ao tamanho da partícula, assim, o uso de partículas em escala nanométrica pode ser uma alternativa eficiente no combate a resistência microbiana (KRÓL *et al.*, 2017; LALLO DA SILVA; CAETANO; *et al.*, 2019; RAI, 2013).

Atualmente, a procura da indústria têxtil por tecidos que apresentem funcionalidades, tais como, evitar odores através do impedimento da proliferação de bactérias e até diminuir os riscos de infecções causadas por microrganismos vem aumentando. Sendo assim, a impregnação das NP ZnO é uma possibilidade para se adquirir um tecido com atividade antimicrobiana eficiente, uma vez que os tecidos estão entre as fontes mais comuns de transmissão de IRAS (MURPHY; TCHETCHIK; FURXHI, 2020).

Os tecidos assumem a responsabilidade de proteção da superfície corporal frente ao meio ambiente e patógenos (GASI; BITTENCOURT, 2011). Além disso, os tecidos geralmente são fontes de contaminação por serem ambiente propício para o desenvolvimento dos microrganismos. Dessa forma, os tecidos comuns (que não contém nenhum revestimento especial que impeça a proliferação dos microrganismos) aumentam os riscos de contaminação cruzada e novas infecções (BORDA D'ÁGUA *et al.*, 2018).

Os têxteis são uma grande preocupação para transmissão de IRAS, embora sejam causadas principalmente por dispositivos médicos. As vestimentas usadas com o intuito de fornecer uma barreira de proteção para os profissionais e usuários, frequentemente estão expostos a sangue e fluidos corporais que podem transmitir bactérias ou organismos multirresistentes, além de vírus que podem sobreviver por horas ou dias nos tecidos, todas essas considerações elevam e contribuem para a propagação das IRAS (JAGGER *et al.*, 1994; MITCHELL; SPENCER; EDMISTON, 2015; SARTORI *et al.*, 1993).

Para evitar esse problema, projetar tecidos com propriedades antibacterianas que poderão ser empregadas em roupas de proteção, roupas íntimas, estofados e ainda serem utilizados em hospitais, clínicas médicas e laboratórios, pode ser uma excelente alternativa para prevenir ou erradicar as contaminações nosocomiais e novas infecções (HASSABO, *et al.*, 2019).

A nanotecnologia assume um potencial relevante por possibilitar vestuários que atendam a demanda dos clientes através de propriedades duráveis sejam antimicrobiana, proteção UV, retardador de chamas entre outros, com fabricação sustentável sem propiciar riscos ou danos ao meio ambiente (EL-KHATIB, 2012; EL-NAGGAR; SHAARAWY; HEBEISH, 2018; YETISEN *et al.*, 2016).

Os produtos à base de nanopartículas de prata (NP Ag) apresentam fortes propriedades antibacterianas, o que levou a aplicação extensiva desse material em diversos setores. No entanto um estudo reporta que o uso generalizado deste material pode trazer impactos negativos ao meio ambiente (MIJNENDONCKX *et al.*, 2013).

Um estudo alerta sobre os riscos da utilização das NP Ag, pois os íons prata podem comprometer a saúde dos ecossistemas. Por exemplo, a lavagem doméstica do tecido contendo NP Ag pode liberar íons prata nos sistemas de esgoto e, esta contaminação é capaz de atingir a maioria da população e também as terras agrícolas, sendo assim, a utilização da Ag favorece riscos à saúde humana (BENN; WESTERHOFF, 2008).

A toxicidade da NP ZnO e Ag foram comparadas por um trabalho da literatura. Foram abordados os efeitos tóxicos das nanopartículas frente a espécies aquáticas, foi constatado que a NP Ag oferece maior risco de toxicidade comparado a NP ZnO, por causar um impacto ambiental maior, onde a maioria das espécies estudadas foram atingidas em diferentes níveis (BONDARENKO *et al.*, 2013). Além disso, as NP Ag apresentam um alto custo (AGRAWAL *et al.*, 2020), encarecendo a produção e o custo do produto acabado.

Dessa forma, as NP ZnO trazem uma abordagem contrária as NP Ag. As NP ZnO apresentam alta biodegradabilidade e biocompatibilidade (JAVADI *et al.*, 2019) e quando

empregues em têxteis não afetam o tingimento do tecido mudando a coloração, uma vez que, as NP Ag podem afetar o tingimento.

Em nosso grupo de pesquisa Ciência dos materiais aplicados a farmácia, um trabalho anterior avaliou diferentes parâmetros durante a síntese das NP ZnO pela rota sol-gel, como por exemplo, razão de hidrólise, tamanho e modificação de superfície. Esses parâmetros foram alterados para avaliar a influência na atividade antibacteriana das NP ZnO frente a cepa *S. aureus* e *E. coli*. A atividade antimicrobiana foi dependente do tamanho da NP ZnO, visto que NP ZnO de menor tamanho apresentaram melhor atividade antibacteriana (LALLO DA SILVA; CAETANO; *et al.*, 2019). Além disso, o fato da modificação da superfície das nanopartículas permite aumentar sua estabilidade em água o que facilita a incorporação da mesma nos tecidos por uma metodologia de fácil execução.

Assim, o presente trabalho buscou o desenvolvimento de têxteis com propriedade antibacteriana resistente à diversos ciclos de lavagens pela incorporação de NP ZnO com tamanho de 5 nm. Os têxteis desenvolvidos neste projeto são inovadores pois não existem na literatura relatos de materiais têxteis contendo nanopartículas de ZnO de tamanhos tão pequenos. Como a atividade antimicrobiana do NP ZnO é dependente do tamanho das partículas os tecidos desenvolvidos neste trabalho tem alto potencial para diminuir ou evitar os riscos e as infecções causadas por patógenos.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Óxido de Zinco

Dentre os óxidos metálicos o óxido de zinco (ZnO) tem ganhado maior atenção por sua versatilidade e multifuncionalidade. O ZnO possui propriedades físicas e químicas interessantes que propiciam inúmeras aplicações que vão das ciências ambientais até biomédicas ou eletrônicas (LAURENTI; CAUDA, 2017).

A versatilidade do ZnO se deve a rica variação estrutural, presente na família de nanoestruturas de ZnO. Dessa forma, encontramos estruturas em escala nanométrica na forma de nanofios, nanopartículas, nanotubos, nanorings, morfologia semelhante a flor e tetrápodes. O tipo de nanoestrutura formada pode ser controlado através das alterações nos parâmetros de síntese. As propriedades finais dos materiais a base de ZnO, dependem do tamanho, orientação, morfologia e densidade (LAURENTI; CAUDA, 2017; ZHU *et al.*, 2016).

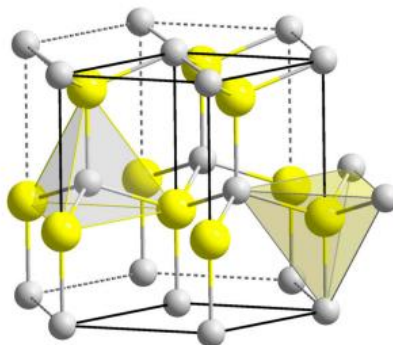
As propriedades dos materiais contendo ZnO tem sido alvo de inúmeras pesquisas e esse óxido é amplamente conhecido por conferir excelentes propriedades como, atividade

anticancerígena, antiinflamatória, de modulação na liberação de medicamentos, bioimagem (JIANG, J.; PI; CAI, 2018), regeneração de tecidos (CIERECH *et al.*, 2019), proteção UV e autolimpante (NOORIAN; HEMMATINEJAD; NAVARRO, 2019). Destaca-se entre as aplicações das NP ZnO a atividade antimicrobiana, que tem sido amplamente relatada. De acordo com a literatura científica, o ZnO oferece propriedades contra bactérias Gram-positivas, Gram-negativas e fungos (KAIRYTE; KADYS; LUKSIENE, 2013; LALLO DA SILVA; CAETANO; *et al.*, 2019).

Comumente a forma mais estável do ZnO em temperatura ambiente é a hexagonal (Wurtzita).

A estrutura hexagonal wurtzita do ZnO é composta por planos alternados de O^{2-} e íons Zn^{2+} que são tetraedricamente coordenados (HARUN *et al.*, 2017). Ou seja, cada íon Zn^{2+} é coordenado por quatro O^{2-} , da mesma forma, quatro O^{2-} é coordenado por um íon Zn^{2+} . A Figura 1 ilustra a estrutura wurtzita do ZnO (BORYSIEWICZ, 2019).

Figura 1. Estrutura hexagonal wurtzita do óxido de zinco (BORYSIEWICZ, 2019).



Parte dos sítios intersticiais são ocupados pelos íons zinco, embora os sítios vazios e, portanto a estrutura do ZnO possibilitem a formação de defeitos intrínsecos. O ZnO é um importante semicondutor, com largo bandgap de 3,37 eV (KHAN *et al.*, 2018; LIN *et al.*, 2005; TALAM; KARUMURI; GUNNAM, 2012).

A fotoluminescência para os PQs ZnO depende da técnica empregue para a produção e a qualidade da superfície. A natureza da fotoluminescência das NP ZnO é uma questão controversa. Foi atribuído que a fotoluminescência UV trata-se da recombinação de éxcitons confinados (LIN *et al.*, 2005), enquanto para outros autores a emissão é proveniente de impurezas ou defeitos superficiais (GUO *et al.*, 2000; WAINER *et al.*, 2019).

Um fator muito interessante que viabiliza a utilização das NP ZnO é o baixo custo do ponto de vista de produção, além disso, esse material apresenta baixa toxicidade atraindo maior atenção para as aplicações biológicas (JIANG; PI; CAI, 2018). O ZnO é listado por

“reconhecido geralmente como seguro” (GRAS) pelo FDA dos EUA (MALIK; MITRA, 2021). Entretanto, uma abordagem para aumentar sua biocompatibilidade é o revestimento das NP ZnO (RASMUSSEN *et al.*, 2010).

No trabalho de Agnieszka e colaboradores é destacado que a baixa toxicidade, a biocompatibilidade e a biodegradabilidade do ZnO o tornam um material interessante para aplicações biomédicas e também ecológicas (KOŁODZIEJCZAK-RADZIMSKA; JESIONOWSKI, 2014). Além disso, o zinco é um componente essencial em funções biológicas no organismo humano, como estrutura e algumas outras funções das proteínas sendo regulatórias, estruturais e ou enzimáticas (ISMAIL *et al.*, 2019).

As NP ZnO tem ganhado maior atenção pelas propriedades vantajosas em termos de facilidade de preparação a partir de matéria prima econômica por meio de técnicas usuais, além disso, possui potencial de fabricação em larga escala (IBRAHIM, *et al.*, 2018).

Tendo em vista as vantagens e propriedades antimicrobianas do ZnO é crescente o interesse de seu uso para conferir tais propriedades à diferentes materiais e superfícies, dentre eles os têxteis. Inúmeras pesquisas dedicam-se a funcionalização desses materiais no sentido de aumentar a permanência das NP ZnO nos tecidos visando proteger os usuários de microrganismos patogênicos geradores de odores não desejáveis (GEDANKEN *et al.*, 2017).

Uma pesquisa recente realizada na base de dados PubMed evidenciou que o número de publicações referente as NP ZnO em peças têxteis cresceu nos últimos anos em relação aos anos anteriores, conforme apresenta a Figura 2, que compila a variação no número de artigos científicos publicados sobre o assunto entre 2005 e 2020.

Figura 2. Evolução no número de artigos científicos entre 2005 e 2020 segundo artigos disponíveis na base de dados PubMed a partir das palavras chaves “ZnO, antimicrobial, fabrics”. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov>.



2.2. Síntese sol-gel

As aplicações das NP ZnO são dependentes de suas propriedades como, forma, tamanho, estabilidade e cristalinidade (PARASHAR; KUMAR; RANBIR, 2020).

As rotas de síntese para as nanopartículas podem ser divididas em dois grandes grupos, os métodos físicos e métodos químicos. Dentre os métodos químicos o processo sol-gel se destaca quando o objetivo é controlar o tamanho, a forma e consequentemente, a propriedade final dos materiais utilizando condições amenas de pressão e temperatura. Essa rota de síntese é conhecida ainda por oferecer confiabilidade e reprodutibilidade (KOŁODZIEJCZAK-RADZIMSKA; JESIONOWSKI, 2014; PARASHAR; KUMAR; RANBIR, 2020).

O processo sol-gel se baseia em construir uma rede sólida a partir da agregação de partículas coloidais ou então da polimerização dos precursores em solução. Neste processo as reações químicas envolvidas são hidrólise e condensação (CAETANO, 2010). A etapa de hidrólise do precursor acarreta a formação de ligações M-OH, sendo M um metal ou semi-metal, na etapa seguinte ocorre a condensação (CAETANO, 2010; KRÓL *et al.*, 2017).

O método sol-gel para a síntese de nanopartículas de ZnO foi proposto pela primeira vez por Spanhel e Anderson em 1991. A partir desta rota é possível produzir NP ZnO na faixa de tamanho de 2 a 6 nm (SPANHEL; ANDERSON, 1991). Esta rota envolve três etapas, a primeira consiste na preparação do precursor que comumente para obtenção de nanomateriais de zinco o precursor mais utilizado é o acetato de zinco em álcool mantidos sob refluxo à 80°C por 180 minutos. A segunda etapa ocorre pela adição de uma base, promovendo a hidrólise, para a formação da suspensão coloidal, por fim a terceira etapa há formação do sol por meio da concentração da suspensão coloidal (MARZEC *et al.*, 2014; SPANHEL; ANDERSON, 1991).

Vários fatores importantes podem afetar o crescimento e a formação das NP ZnO pela via sol-gel, como o solvente, a concentração dos precursores, a temperatura, tempo e a razão molar (CAETANO *et al.*, 2011; KRÓL *et al.*, 2017).

É importante ressaltar que a rota sol-gel proposta por Spanhel e Anderson deve ser realizada em meio etanólico com controle da umidade do meio reacional, pois a presença de água, mesmo em pequenas quantidades promove a formação de partículas maiores que desestabilizam a suspensão das NP ZnO (SPANHEL; ANDERSON, 1991).

2. 3. Modificação de superfície

Embora exista uma diversidade de aplicações das NP ZnO o seu uso biológico é limitado, uma vez que as NP ZnO são instáveis em água, sendo assim, a modificação de superfície das NP ZnO é crucial para garantir sua aplicabilidade em sistemas biológicos, além de tornar mais prático o uso das NP ZnO quando estão dispersas em água (XIONG, 2013).

A instabilidade da suspensão coloidal das NP ZnO em água está relacionada ao aumento do tamanho das nanopartículas o que causa mudança nas propriedades finas das NP ZnO como

a perda da luminescência e a alteração da atividade antimicrobiana. Após a modificação da superfície as nanopartículas se tornam estáveis em meio aquoso. No que diz respeito às propriedades óticas há relatos de que a modificação da superfície das NP ZnO aumentem o seu rendimento quântico em cerca de 30% (ZHANG; ZHENG YONG; XIONG, 2015).

A modificação da superfície das nanopartículas reduz a tendência de formar agregados, além disso, é o método mais promissor que propicia a dispersão das NP ZnO em meio aquoso. A modificação de superfície ocorre devido à forte ligação covalente que é formada entre a superfície das NP ZnO com as cadeias dos modificadores de superfície (AHANGARAN; NAVARCHIAN, 2020; KATHALEWAR; SABNIS; WAGHOO, 2013).

Diferentes agentes modificadores são empregados para o revestimento da superfície das NP ZnO possibilitando sua dispersão em meios hidrofílicos com sucesso, dentre eles, polímeros (JAVED, 2016) acrílicos e aminas (CHEN, *et al.*, 2019; CHEN, *et al.*, 2017), tióis (SONG; LIU; HE, 2008) e organosilanos (KHURANA *et al.*, 2021).

Os organosilanos se destacam por formarem ligações químicas mais estáveis com a superfície de materiais tanto orgânicos quanto inorgânicos (KATHALEWAR; SABNIS; WAGHOO, 2013). Além disso, a grande afinidade dos organosilanos por superfícies hidroxiladas formam uma barreira protetiva capaz de proteger o contato entre núcleo das NP ZnO e a água, possibilitando a dispersão das NP ZnO em sistemas hidrofílicos (ABOULAICH *et al.*, 2012).

De acordo com Fakhroueian e colaboradores a modificação da superfície das NP ZnO auxiliam na interação entre as células bacterianas e fúngicas (FAKHROUEIAN *et al.*, 2014). Dados semelhantes foram relatados por Leung e colaboradores, entretanto, estes últimos acrescentaram que os diferentes modificadores podem exibir maior ou menor toxicidade para as células bacterianas, ou então, podem afetar as interações das NP ZnO com as paredes celulares (LEUNG *et al.*, 2012).

Um estudo realizado por Buşilă e colaboradores sintetizaram NP ZnO com a superfície modificada pelo (3-glicidiloxipropil) trimetoxissilano (GPTMS) em diferentes proporções. A técnica de DRX evidenciou diâmetros diferentes para as NP ZnO modificadas (10.42 nm, 6.55 nm e 5.44 nm). A ação biocida das NP ZnO foi mais expressiva para as que apresentaram menor diâmetro. A redução do diâmetro foi observada após o revestimento da superfície, em comparação com o tamanho da nanopartícula sem modificador (13 nm) (BUŞILĂ *et al.*, 2020).

O organosilano (3-glycidyloxypropyl)trimethoxysilane (GPTMS) foi usado na modificação da superfície das NP ZnO (30-60 nm) para aplicação antibacteriana em fibras têxteis de algodão no estudo realizado por Farouk e colaboradores. A metodologia de disco

difusão em ágar foi realizada para análise do potencial antimicrobiano das NP ZnO modificadas frente *M. luteus* (97,3%) e *E.coli* (98,8%), o modificador GPTMS puro, também foi avaliado. Sendo assim, as fibras contendo NP ZnO modificadas evidenciaram resultados promissores. Além disso, foi comprovado que o GPTMS não possui qualquer efeito bactericida (FAROUK *et al.*, 2014).

Agrawal e colaboradores relataram a técnica empregue para fabricação de tecidos de algodão antibacteriano super-hidrofóbicos. Neste estudo foram investigados três silanos, sendo Aminoetilaminopropiltrimetoxissilano (AEAPTMS), Aminopropiltriethoxissilano (APTES) e Metacriloiloxipropiltrimetoxissilano (MPTMS). Para alcançar o potencial antibacteriano foram empregues nanopartículas de Cobre (NP Cu) e um polímero sendo o polidimetilsiloxano (PDMS) para a deposição das nanopartículas revestidas com os silanos. Não foi observado diferença entre o potencial bactericida das fibras têxteis com as NP Cu usando os diferentes silanos frente a cepa *S. aureus* e a cepa *E. coli* (AGRAWAL *et al.*, 2020). De fato não foi notado diferença no potencial bactericida das nanopartículas revestidas com os diferentes silanos, esta circunstância evidencia que a atividade provém do material Cu e não do modificador.

NP ZnO foram modificadas com 3- (aminopropil) trimetoxissilano e empregues em tecido de algodão preto, esta tecnologia foi projetada para obtenção de tecidos de proteção contra o calor. Este acabamento ofereceu propriedades benéficas como a absorção UV e refletância aprimorada. Além disso, os tecidos demonstraram atividade contra os fungos *Aspergillus flavus* e *Aspergillus niger*. A atividade fungicida não foi associadas ao uso do modificador, essa atividade foi atribuída a produção de ânion superóxido provinda da reação fotocatalítica, devido à natureza semicondutora do ZnO, (SOUMYA *et al.*, 2016).

O organosilano GPTMS foi empregue em um bioadesivo de gelatina/ácido gálico (GGA) e ZnO para tratamento de feridas e ação antibacteriana. Foi atribuído que o silano aprimorou as propriedades adesivas do GGA. As propriedades antibacterianas dos bioadesivos frente a *S. aureus* e *E. coli* foram mais expressivas na presença das NP ZnO em filmes de gelatina reticulados com o GPTMS, eles foram capazes de inibir o crescimento bacteriano em menores concentrações quando comparados com adesivos de GA comercial (RAMIREZ-BARRON *et al.*, 2021).

Sendo assim o revestimento das NP ZnO melhora sua biocompatibilidade e possibilita o uso biológico (WANG, *et al.*, 2017). Além disso, os silanos podem contribuir para manutenção do tamanho das NP ZnO, sendo o tamanho o fator crucial para melhores propriedades biocidas.

2.4. Atividade antimicrobiana das NP ZnO e mecanismos de ação

O desenvolvimento de novos agentes antimicrobianos torna-se uma estratégia emergente, visto que a evolução de cepas bacterianas resistentes representam um problema para o controle de doenças microbianas (CHERNOV *et al.*, 2019). As NP ZnO podem ser usadas como medicamento personalizado, pois possuem direcionamento específico e apresentam toxicidade mínima, sendo assim podem ser usadas como uma alternativa para superar os problemas relacionados a resistência microbiana (AGARWAL *et al.*, 2018; RUDRAMURTHY *et al.*, 2016).

Os mecanismos bactericidas das NP ZnO são múltiplos e/ou simultâneos contra as células bacterianas, desse modo, a resistência dos microrganismos frente as NP ZnO exigiria várias mutações genéticas simultâneas dentro da mesma célula. Portanto dificilmente as células bacterianas podem se tornar resistentes frente aos mecanismos inespecíficos das nanopartículas (WANG; HU; SHAO, 2017).

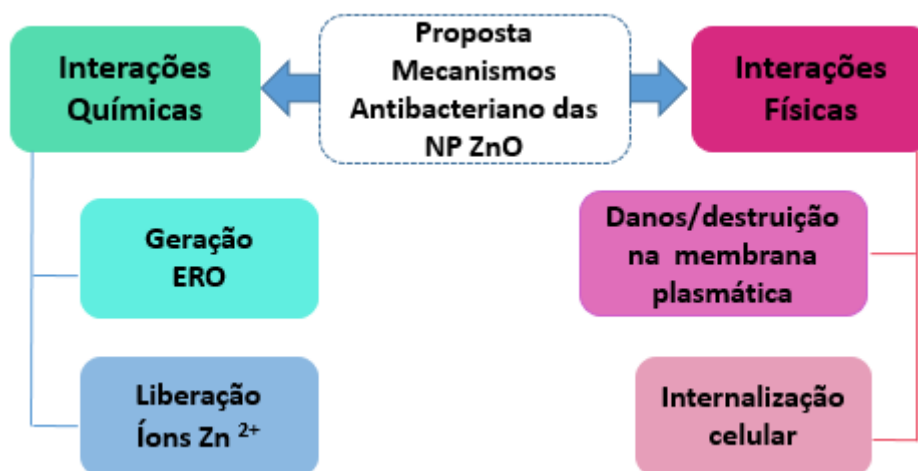
Os agentes antimicrobianos inorgânicos oferecem vantagens em relação aos orgânicos como, maior estabilidade (WANG, *et al.*, 2017), segurança para uso biológico (YOUSEF; DANIAL, 2012), maior durabilidade e seletividade, menor resistência, menor toxicidade (PADMAVATHY; VIJAYARAGHAVAN, 2008) e alta biocompatibilidade (HUANG; WU; ARONSTAM, 2010).

A atividade antimicrobiana das NP ZnO tem sido evidenciada na literatura, embora o mecanismo exato de toxicidade em bactérias e fungos seja controverso. A literatura propõe diferentes mecanismos dependentes das nanopartículas que podem ocorrer de maneira isolada ou simultânea (SIRELKHATIM *et al.*, 2015). Esses mecanismos podem variar de acordo com a área superficial, tamanho da nanopartícula, carga e morfologia (FERNANDO; GUNASEKARA; HOLTON, 2018).

Embora as NP ZnO exibam excelentes propriedades antibacterianas não é possível elucidar o mecanismo de ação principal. Os trabalhos discorrem que os mecanismos antibacterianos ocorrem através de interações químicas ou físicas.

A Figura 3 mostra os possíveis mecanismos de ação propostos para as NP ZnO, em que as interações físicas oferecem efeitos biocidas através da internalização celular das NP ZnO, danos e/ou ruptura do envelope celular e as interações químicas das NP ZnO levam à produção de espécies reativas de oxigênio (ERO) e liberação de íons Zn^{2+} , causando a morte das células bacterianas (KUMAR *et al.*, 2017).

Figura 3. Proposta para os principais mecanismos de ação antibacteriana proposto para as NP ZnO. Fonte autor, baseado em (KUMAR *et al.*, 2017).



Conforme exposto a literatura sugere diferentes mecanismos para as NP ZnO como, a produção de espécies reativas de oxigênio (FERNANDO; GUNASEKARA; HOLTON, 2018; RAGHUPATHI; KOODALI; MANNA, 2011), liberação de íons zinco (FERNÁNDEZ; GARCÍA-GÓMEZ; BABÍN, 2013), destruição ou danos da membrana celular pelo contato com as NP ZnO (GHASEMI; JALAL, 2016) e internalização celular (RAGHUPATHI; KOODALI; MANNA, 2011).

Entretanto Turlybekuly e colaboradores propuseram que em geral os mecanismos de ação das NP ZnO ocorre em várias etapas iniciando pelos processos físicos (interação das NP ZnO e célula, ruptura da membrana, internalização celular), em seguida os processos químicos, assim na fase de penetração das NP ZnO há produção de ERO e liberação de íons Zn^{2+} , dessa forma, o mecanismo das NP ZnO ocorre por meio de ações coletivas das interações químicas e físicas (TURLYBEKULY *et al.*, 2019).

2.4.1. Produção das Espécies Reativas de Oxigênio

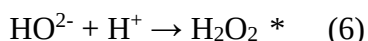
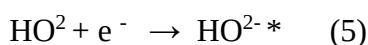
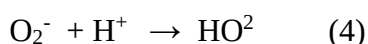
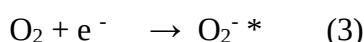
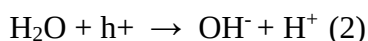
O contato das NP ZnO com a água é responsável pela produção das ERO, assim diferentes tipos de ERO são formadas, tais como, ânion superóxido (O_2^-), radicais hidroxilas ($HO\cdot$) e peróxido de hidrogênio (H_2O_2), podendo levar danos fatais aos microrganismos (PADMAVATHY; VIJAYARAGHAVAN, 2008; YANG *et al.*, 2012).

A estrutura eletrônica dos semicondutores, dentre eles o ZnO, consiste em uma banda de valência (BV) preenchida por elétrons e uma banda de condução (BC) ausente da presença de elétrons, a diferença entre ambos é chamada de energia de gap (E_g), a E_g é variável para cada semicondutor. A radiação do ZnO se dá a partir de fótons com energia igual ou superior o

band-gap, assim esta energia é rapidamente absorvida e os elétrons saem da banda de valência passando para banda de condução. O resultado deste processo promove a mudança de carga (+) denominada de “buraco” (h^+) na BV, e por sua vez, os elétrons ficam livres na BC (JAVADI *et al.*, 2019; SEVEN *et al.*, 2004).

A geração das ERO* na presença de luz é mostrada no esquema 1. Os “buracos” formados na BV dividem as moléculas de água que estão presentes na suspensão de ZnO em OH⁻ e H⁺ (etapa 2). Na BC os elétrons livres reagem com as moléculas de oxigênio e passam a formar os ânions superóxidos (O₂⁻) (etapa 3). Os ânions superóxidos reagem com o H⁺, formando os radicais hidroperoxilas (HO₂[•]) (etapa 4), os quais colidem com os elétrons (e⁻) e após são transformados em radicais hidroxilas (HO[•]) (etapa 5). Os radicais reagem com íons hidrogênio e produzem peróxido de hidrogênio (H₂O₂) (etapa 6) (LALLO DA SILVA; ABUÇAF; *et al.*, 2019; PADMAVATHY; VIJAYARAGHAVAN, 2008).

Esquema 1:



Raghupathi e colaboradores atribuíram melhora da atividade antibacteriana devido ao aumento da produção de ERO na presença de luz UV e ZnO (RAGHUPATHI; KOODALI; MANNA, 2011). Assim como Joe *et al.* determinou melhor potencial antibacteriano das NP ZnO sob luz UV-A em relação as análises em condições de escuridão. Uma explicação plausível seria a eficiência fotocatalítica devido aos defeitos locais do oxigênio na estrutura das NP ZnO, esses buracos levariam ao aumento da foto-geração de ERO (JOE *et al.*, 2018)

Em contrapartida estudos evidenciaram a formação das ERO a partir das suspensões de ZnO mesmo no escuro (PRASANNA; VIJAYARAGHAVAN, 2015; XU *et al.*, 2013). Leung e colaboradores demonstraram a capacidade antimicrobiana das NP ZnO proeminente no escuro. Esta atividade contou com maior produção ERO do ZnO quando comparadas ao TiO₂, o experimento foi realizado frente a cepa Gram-negativa *E. coli* (LEUNG *et al.*, 2016).

Prasanna e colaboradores provaram a formação de ERO a partir das NP ZnO mesmo em condições de escuridão. O oxigênio da atmosfera reage com um elétron presente na superfície do ZnO formando o O₂⁻. O contato do O₂⁻ com a água das dispersões de ZnO ou água presente no meio podem levar a formação de peróxido de hidrogênio (H₂O₂) (PRASANNA; VIJAYARAGHAVAN, 2015). Os radicais carregados negativamente não penetram na célula e

permanecem na superfície, onde consequentemente causam danos na membrana bacteriana, entretanto, o H_2O_2 é capaz de penetrar nas células bacterianas, ocasionando a morte celular (XIE *et al.*, 2011). Dessa forma, o contato das NP ZnO com a membrana lipídica podem gerar ERO ocasionando a ruptura da membrana e perda da integridade celular (BARRERA *et al.*, 2020).

No trabalho de Sawai e colaboradores foi proposto que a geração de peróxido de hidrogênio seja um dos fatores principais para a atividade antibacteriana das NP ZnO (SAWAI *et al.*, 1998). Resultado este que corrobora com o trabalho de Zhang e colaboradores que atribuí a eficiência da atividade antibacteriana das NP ZnO a produção de peróxido de hidrogênio, radicais hidroxila, ânion super óxido (ZHANG, *et al.*, 2008).

2.4.2. Interação das NP ZnO com a membrana celular e internalização celular

Dentre os mecanismos propostos para a ação antibacteriana das NP ZnO há possibilidades de que o contato da superfície celular com o ZnO causem danos na membrana das bactérias a partir da interação direta ou eletrostática das NP ZnO. Esses danos promovem a perda da integridade da membrana celular que induz a ruptura da bicamada fosfolipídica (AGARWAL *et al.*, 2018; XIE *et al.*, 2011).

As nanopartículas precisam estar em contato com as células bacterianas para alcançar a atividade bactericida, formas aceitas pra essa interação incluem atração eletrostática, força de van der Waals e receptor ligante. Em seguida, as nanopartículas interagem com as células ocasionando mudanças na permeabilidade celular, distúrbios de equilíbrio, desativação de proteínas e mudanças na expressão génica (WANG; HU; SHAO, 2017). Além disso, o contato leva a produção de ERO ou aumenta a solubilidade das nanopartículas que induz a danos celulares (LI; ZHU; LIN, 2011; ZHANG, *et al.*, 2007).

A fixação das NP ZnO na superfície das bactérias Gram-positiva e Gram-negativa são responsáveis pela desorganização e mudanças da membrana possibilitando maior permeabilidade, bem como um aumento da concentração das NP ZnO internalizadas na célula bacteriana (SIRELKHATIM *et al.*, 2015).

O tamanho das NP ZnO é crucial para a internalização, de acordo com Kumar *et. al.*, as partículas menores que 10 nm podem passar pela membrana plasmática (KUMAR *et al.*, 2017). Uma vez, que as NP ZnO foram internalizadas pelas células, estas inibem ou interrompem os mecanismos de sobrevivência desta célula, tais como, troca metabólica de substâncias e energia da bactéria e o meio ambiente, provocando a morte do microrganismo (JIANG; LIN; CAI, 2020; ZHANG, *et al.*, 2007).

2.4.3. Danos induzidos pela liberação dos íons Zn^{+2}

A toxicidade das NP ZnO nem sempre é dependente da internalização das NP ZnO nas bactérias. Visto que, a liberação dos íons Zn^{+2} foi o principal mecanismo de ação atribuído a toxicidade da cepa *E. coli* em um estudo de Li e colaboradores (LI; ZHU; LIN, 2011).

As NP ZnO liberam lentamente os íons Zn^{+2} , que penetram pela membrana celular causando distúrbios respiratórios celulares, desnaturação da proteína e perda da proliferação (JIANG; LIN; CAI, 2020).

A liberação dos íons Zn^{+2} através das NP ZnO vão para interior das células de algumas maneiras, como por exemplo, é atribuído que as bactérias Gram-positiva em sua espessa camada de peptidoglicano com presença de ácido teicóico e ácido lipoteicóico, atuam como agentes quelantes para os íons Zn^{+2} fornecido pelas NP ZnO, transportando-os para dentro da célula. Para as bactérias Gram-negativas a presença de porinas na camada externa funcionam como canais iônicos facilitando a entrada do Zn^{+2} para o interior celular (AGARWAL *et al.*, 2018).

Em contrapartida um estudo a fim de avaliar a ação antibacteriana das nanopartículas de óxidos metálicos associada aos íons livres dissolvidos testou os seguintes materiais, com as respectivas concentrações CuO (125 mg/L), NiO (200 mg/L) e ZnO (125 mg/L). As cepas utilizadas neste estudo foram *E. coli*, *Bacillus subtilis* e *S. aureus*. Sendo assim, pode-se obter os valores dos íons liberados respectivamente, 2,7 mg/L, 4,0 mg/L e 6,8 mg/L. O crescimento das espécies bacterianas foi ligeiramente reduzido, os resultados não muito promissores levaram os autores a atribuir que o mecanismo biocida das nanopartículas pode estar correlacionados a outros mecanismos, uma vez que, a liberação dos íons, incluindo íons Zn^{+2} apresentaram resultados insignificantes (BAEK; AN, 2011).

Jiang e colaboradores também avaliaram a toxicidade das nanopartículas de óxido metálico frente a cepas bacterianas, as NP ZnO foi testada frente as seguintes espécies de bactérias, *E. coli*, *Bacillus subtilis* e *Pseudomonas fluorescens*. A fixação das NP ZnO na superfície celular ocorreu de maneira desigual para ambas as cepas. Entretanto, o ZnO foi o óxido metálico que apresentou maiores níveis de toxicidade as cepas, uma razão provável seria os íons Zn^{+2} dissolvidos após a internalização celular, o que levaria a um contato com o citoplasma causando a morte celular. Além disso, a toxicidade das nanopartículas não era atribuída apenas aos íons metálicos dissolvidos mas também a aderência das nanopartículas nas paredes celulares (JIANG; MASHAYEKHI; XING, 2009), uma vez que o contato das partículas com a membrana pode levar a danos (KUMAR *et al.*, 2017).

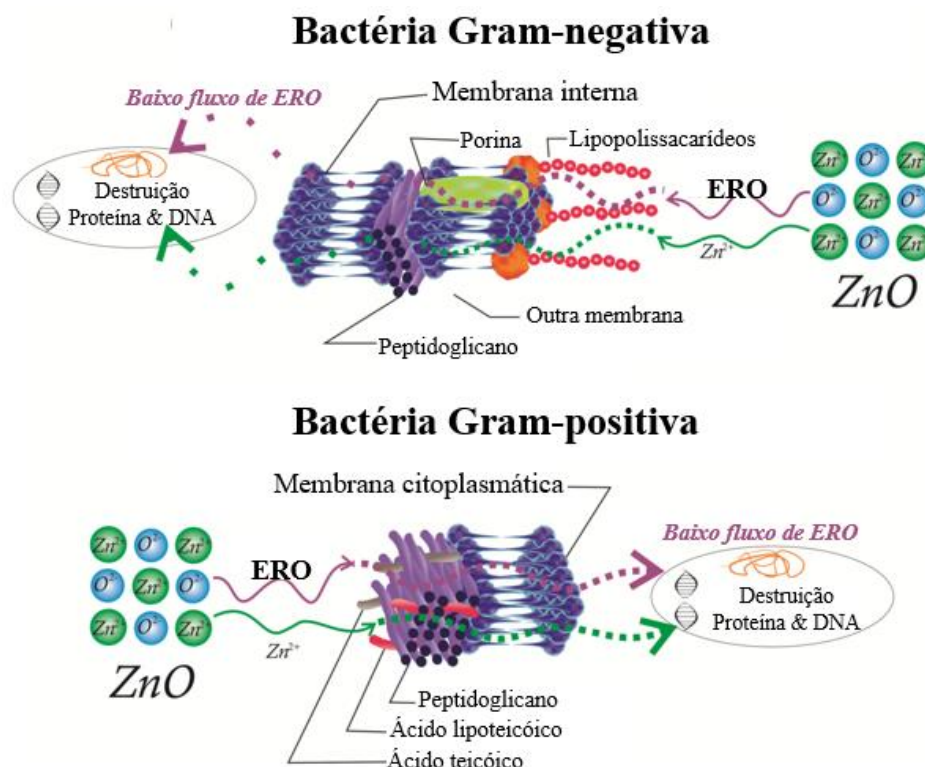
Embora as NP ZnO possuam inúmeros mecanismos de ação a sua toxicidade é dependente de cada célula e espécie bacteriana (JIANG; MASHAYEKHI; XING, 2009). Yusof e colaboradores avaliaram a atividade das NP ZnO frente a cepa *S. aureus* e *E. coli*. Foi possível observar uma diferença na suscetibilidade as nanopartículas em relação as duas células que foi atribuída a parede celular (YUSOF; ZAIN; PAUZI, 2019).

A Figura 4 mostra a membrana celular das bactérias Gram-negativa e bactérias Gram-positiva. As bactérias Gram-negativas possuem camadas de contorno complexas uma vez que o envelope celular consiste em uma membrana plasmática formada por um bicamada fosfolipídica, uma parede celular de peptidoglicano que é uma macromolécula reticulada, uma membrana externa constituída por fosfolipídios com presença de lipopolissacarídeos (LPS) (ROJAS *et al.*, 2018).

O envelope celular das bactérias Gram-positivas é diferenciado pela membrana na parte interna e uma parede celular externa espessa de peptidoglicano, ácidos teicóicos e lipoteicóicos (HUANG; XIANG, 2020; TURLYBEKULY *et al.*, 2019)

A camada de peptidoglicano é formada por cadeias de aminoácidos e carboidratos repetidamente. As nanopartículas são capazes de interromper os processos celulares a partir das interações com os grupos amida, fosfato e carboxila que estão presentes na camada de peptidoglicano. A camada de peptidoglicano em bactérias Gram-negativas apresenta uma espessura de aproximadamente 5 a 10 nm e as bactérias Gram-positivas apresentam uma camada de peptidoglicano mais espessa em torno 20-80 nm (SHINDE *et al.*, 2014).

Figura 4. Camada contorno e os constituintes celulares das bactérias Gram-positivas e Gram-negativas, adaptada da literatura (TURLYBEKULY *et al.*, 2019).



Um fator crucial para garantia da atividade antimicrobiana e antifúngica das NP ZnO trata-se do tamanho da nanopartícula, os efeitos aumentam com a diminuição do tamanho (MAKVANDI *et al.*, 2020).

Um estudo determinou que o tamanho das NP ZnO desempenham um papel importante nos efeitos antibacterianos frente a *S. aureus*. O experimento mostrou que as NP menores (8 nm diâmetro) em concentrações relativamente baixas (1mM) inibiu 95% do crescimento dos microrganismos, enquanto NP maiores (50-70 nm diâmetro) em maiores concentrações (5mM) inibiu apenas 50% do crescimento de *S. aureus* (KRÓL *et al.*, 2017).

No trabalho de Mahamuni e colaboradores o controle da forma e do tamanho da NP ZnO foi variando de acordo com os parâmetros de síntese a fim de estudar qual seria a influência sobre a atividade antibacteriana em células planctônicas e antibiofilme frente a *S. aureus* e *Proteus vulgaris*. Das NP ZnO sintetizadas a atividade máxima antibacteriana frente a bactérias planctônicas e antibiofilme aumentou com a diminuição do tamanho (15 nm) (MAHAMUNI *et al.*, 2019).

Visto que a eficiência da atividade antimicrobiana é dependente do tamanho, torna-se crucial controlar o tamanho da NP ZnO, pois quanto menor a NP ZnO maior será sua área superficial em relação ao tamanho, isso aumenta sua interação com os microrganismos,

garantindo assim maior eficiência da atividade antimicrobiana (KRÓL *et al.*, 2017; RUDRAMURTHY *et al.*, 2016).

Visto que as NP ZnO tem recebido grande atenção devido suas propriedades biológicas, seu uso foi destinado ao controle do crescimento de patógenos fúngicos. Os fungos desenvolveram resistência a muitos fungicidas convencionais, dificultando o seu controle (ELAD; YUNIS; KATAN, 1992). Entretanto as NP ZnO são bem conhecidas por suas propriedades antifúngicas (SHARMA; GHOSE, 2014).

A ação das NP ZnO e seus mecanismos antifúngicos foram observados por espectroscopia raman frente a *Botrytis cinerea* e *Penicillium expansum* no trabalho de He e colaboradores. Não se sabe exatamente o mecanismo antifúngico das NP ZnO, entretanto, os espectros de raman mostraram maior intensidade das bandas de ácidos nucleico e carboidratos após o tratamento com as NP ZnO. O aumento do ácido nucleico foi atribuído a resposta ao estresse gerado nas hifas fúngicas e o aumento dos carboidratos ocorreu como mecanismo de autoproteção contra as NP ZnO. Análises complementares de MEV avaliaram as alterações morfológicas das células, as NP ZnO inibiram o desenvolvimento de conídios e distorceu os conidióforos de *P. expansum*, demonstrando ser mais sensível que *B. cinerea*. Dessa forma, pode-se compreender que as NP ZnO afetam as células em diferentes níveis, *P. expansum* cresce de maneira mais densa sobre a placa de ágar e sofre mais exposição, outra possível razão para a diferença na atividade antifúngica é a tolerância inata de cada fungo (HE *et al.*, 2011).

Miri e colaboradores estudaram a atividade antifúngica das NP ZnO em *Candida albicans* e atribuíram que os efeitos antifúngicos são proveniente do ataque das nanopartículas a membrana celular que é rompida, levando ao extravasamento de minerais, proteínas, materiais genéticos e morte celular. O tratamento antifúngico das NP ZnO são dose-dependentes a medida que aumenta a concentração da suspensão diminui o crescimento dos fungos (MIRI *et al.*, 2019).

De acordo com Sharma e colaboradores foi proposto que a atividade fungicida das NP ZnO ocorre por danos das ERO que resultam na diminuição da atividade enzimática e ruptura da membrana. Assim como nas membranas bacterianas o H₂O₂ pode penetrar na membrana celular e ocasionar a morte dos fungos. A atividade fungicida das NP ZnO foi observada em diferentes concentrações, observou-se que a atividade foi dependente da dose e a concentração mínima para a inibição de *C. albicans* foi 5 mg/mL (SHARMA; GHOSE, 2014).

Em contrapartida um estudo realizado para avaliação antifúngica dos seguintes óxidos metálicos, MgO, CaO e ZnO, frente aos fungos *Saccharomyces cerevisiae*, *Candida albicans*, *Aspergillus niger*, *Rhizopus stolonifer*, demonstrou valores semelhantes para a atividade

fungicida do MgO e CaO, no entanto, embora o ZnO tenha inibido o crescimento de fungos os valores das suspensões foram acima de 100 mg/mL. Uma explicação pode ser evidenciada através de um modelo matemático que indica a afinidade entre o inibidor e as células. Sendo assim, não houve diferença dos valores obtidos para afinidade entre MgO e CaO para ambos os fungos, entretanto, os valores obtidos para o ZnO foram maiores demonstrando menor afinidade das NP ZnO com as células fúngicas (SAWAI; YOSHIKAWA, 2004).

De fato a baixa atividade das NP ZnO frente a fungos foram evidenciadas frente a *C. albicans* e *Aspergillus brasiliensis*, as NP ZnO mantiveram efeitos fungistáticos. Embora o ZnO não tenha demonstrado efeito fungicida, foi demonstrado uma influência na morfologia das colônias fúngicas principalmente em altas concentrações. Foi possível atribuir experimentalmente a atividade fungicida limitada em relação as cepas bacterianas depois do tratamento das células com as NP ZnO, este fato pode ocorrer devido a maior resistência dos fungos as ERO (PASQUET *et al.*, 2014). Além disso, curiosamente fungos apresentaram melhor crescimento e esporulação após tratamento com ZnO. Foi sugerido que os íons Zn^{2+} liberados pelas NP ZnO no ambiente seria usado pelas leveduras, pelo fato que mais de 300 enzimas utilizam os íons Zn^{2+} para reações metabólicas (SORIA-CASTRO *et al.*, 2019; VALLEE; FALCHUK, 1993).

2.5. Histórico das fibras têxteis

O presente trabalho buscou o desenvolvimento de tecidos multifuncionais após o revestimento de superfície com as NP ZnO em fibras sintéticas diferentes, assim realizamos uma breve revisão sobre as fibras empregues no projeto.

Os vestuários possuem propriedades estruturais e multifuncionais. Em razão disso, torna-se fundamental analisar o interior das fibras para que as funcionalidades sejam otimizadas (GASI; BITTENCOURT, 2011).

Dentre os tipos de fibras têxteis, as fibras sintéticas foram uma grande descoberta.

A poliamida atualmente é um dos têxteis mais utilizados para a produção de vestuários na prática de atividade física, visto que apresenta peso leve, melhor níveis de transporte de umidade e secagem mais rápida quando comparada a uma fibra natural. Dentre as fibras naturais o algodão apresenta boas condições de absorção de umidade e suavidade, porém suas fibras apresentam menor resistência, menor durabilidade e a secagem é lenta causando desconforto (GASI; BITTENCOURT, 2011; YETISEN *et al.*, 2016). As roupas de poliamida ainda apresentam características de resistência ao alongamento e encolhimento além de não se danificarem pela luz ou pelo clima (DEOPURA *et al.*, 2008).

A poliamida refere-se a polímeros derivados do petróleo. O nome genérico da poliamida tem o mesmo significado que fibra de nylon após redefinição pela ISO 1997. A alteração foi concedida por excluir algumas fibras de poliamida que apresentavam propriedades e fins diferentes como a poliamida aromática (Aramida) Kevlar e Nomex (DEOPURA *et al.*, 2008).

Atualmente no mercado há dois tipos de poliamida sendo a 6 e 6.6. A diferença está em sua produção e estrutura. A poliamida 6.6 apresenta moléculas do grupo ácido (COOH) que regem com as moléculas do grupo amina (NH₂) nas duas extremidades, enquanto que, a poliamida 6 se dá com um grupo amida e um grupo ácido em extremidades opostas, (DEOPURA *et al.*, 2008). Dentre as fibras as duas a poliamida 6.6 é a mais utilizada nas indústrias têxteis.

Dentre as fibras sintéticas disponíveis comercialmente o poliéster apresenta vantagem econômica no mercado para produção de vestuários esportivos ou roupas comuns. A fabricação dos tecidos de poliéster também se torna atrativa pela facilidade em sua produção, durante o processo as fibras podem ser utilizadas individualmente ou associada a outras fibras sendo viscose, algodão e seda, esta associação promove melhor aparência e desempenho dos tecidos (EL MESSIRY; EL OUFFY; ISSA, 2015).

Sendo assim, esse estudo utilizou as fibras sintéticas de poliamida e poliéster por apresentarem conforto e durabilidade se tornando atraentes aos consumidores, além do mais, possibilitam o desenvolvimento de têxteis que apresentem funcionalidades o que agregam a qualidade final do produto e atrai a atenção de diversos segmentos têxteis industriais.

2.6. Têxteis funcionais

Os tecidos hospitalares rotineiramente permanecem expostos a vários pacientes, superfícies, objetos e materiais contaminados. Pode-se considerar que os têxteis atuem vetores para a propagação de doenças e novos riscos de contaminação cruzada principalmente por patógenos bacterianos (PUVVADA *et al.*, 2019).

A adesão e crescimento de bactérias em tecidos ocorre em muitas circunstâncias e trazem grande preocupação para a saúde pública e segurança dos usuários. Em particular, os têxteis favorecem a adesão e o crescimento de bactérias, uma vez que possuem superfície rugosa e poros dentro de seu volume, fornecendo uma ambiente dinâmico para a aderência e crescimento das bactérias, além da formação de biofilme (HEMMATIAN; LEE; KIM, 2021).

Com isso, existe a necessidade urgente de produtos que tenham propriedades capazes de combaterem ou diminuir os riscos infecções. Esses tecidos podem ser alcançados

utilizando NP ZnO por serem eficazes contra fungos, bactérias e vírus (BASNET *et al.*, 2018; BORDA D'ÁGUA *et al.*, 2018; TREMILIOSI *et al.*, 2020).

Além da necessidade do desenvolvimento desses materiais, o avanço da nanotecnologia e nanociência despertou o interesse de diversos setores como limpeza, nanocompósitos, aplicações médicas, impregnantes e da indústria têxtil que tem buscado cada vez mais materiais que ofereçam funcionalidades e durabilidade (CIERECH *et al.*, 2019; YETISEN *et al.*, 2016).

A eficiência da atividade antimicrobiana dependente da impregnação das NP ZnO em têxteis principalmente de algodão tem sido descritos por diversos autores na literatura. De acordo com Mulchandani e colaboradores o tecido de algodão após o revestimento com NP ZnO apresentou excelente atividade antibacteriana com redução 99,99% do crescimento frente as cepas de *S. aureus* e *Klebsiella pneumoniae*, esses dados foram obtidos antes dos processos de lavagens. Após as lavagens a atividade permaneceu acima de 95% (MULCHANDANI; KARNAD, 2020).

Ainda tecidos de algodão revestidos de NP ZnO hexagonais ou NP ZnO nanorod, demonstraram resultados promissores com os níveis de redução da viabilidade celular bacteriana, acima de 70 % para forma hexagonal e acima de 75% para forma nanorod frente aos diferentes micorganismos *S. aureus*, *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *E. coli* (MOHAMED *et al.*, 2019).

O estudo de Roy e colaboradores demonstrou a atividade do tecido de algodão dependente das NP ZnO empregues em diferentes concentrações (1M, 2M e 2,5M) contra as cepas *E. coli* e *S. aureus*. Ainda neste estudo foi evidenciado o potencial antifúngico dos tecidos frente *Aspergillus niger*. A atividade dos têxteis foi melhor frente as bactérias quando comparada a cepa fúngica, para ambas a maior concentração demonstrou maior potencial inibidor (ROY *et al.*, 2020).

Pintaric e colaboradores reportaram o potencial antibacteriano promissor para fibras têxteis de celulose contendo NP ZnO menores que 100 nm frente as cepas de *S. aureus* e *E. coli* (PINTARIC *et al.*, 2020).

Uma abordagem extremamente recente no mundo todo é o uso de máscaras devido a pandemia causada pelo vírus Sars Cov-2. De acordo com a OMS o uso de máscaras poderiam diminuir os riscos de novas contaminações e a propagação da doença (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2020). Sabe-se que o vírus pode sobreviver a superfícies secas como tecidos o que seria ainda mais prejudicial e catastrófico (OTTER *et al.*, 2015). Uma abordagem promissora é o revestimento de superfícies como, tecidos, roupas, mascaras, entre outros o que conteria a propagação além de erradicar o vírus no local (OTTO; VILLIERS, 2020). Sendo

assim, um trabalho recente demonstrou a atividade antiviral de NPs de óxidos metálicos inorgânicos, sendo a Ag empregue em tecidos de algodão frente ao Sars Cov-2. Resultados promissores foram obtidos onde as nanopartículas de Ag ocasionaram a morte das células virais (TREMILIOSI *et al.*, 2020).

A proposta para recobrimento de superfície com NP ZnO para uma possível ação antiviral seria promissora visto que o ZnO apresenta propriedades antivirais que incluem a inativação do vírus livre, inibição do desencapsulamento viral, transcrição do genoma e tradução da proteína viral (IMANI *et al.*, 2020).

Dessa forma pode-se notar a versatilidade e multifuncionalidade dos tecidos a partir do revestimento da superfície com nanopartículas inorgânicas como por exemplo, propriedades antiviral (TREMILIOSI *et al.*, 2020), resistência a rugas e repelência a água (WONG *et al.*, 2006).

Dentre as inúmeras multifuncionalidades podemos atribuir as NP ZnO, propriedades antimicrobiana (BORDA D'ÁGUA *et al.*, 2018), proteção UV e antifúngica (MOHAMED *et al.*, 2019), propriedades antiestáticas a fibras sintéticas, dissipando a carga estática que fica acumulada (WONG *et al.*, 2006), propriedades autolimpante (RASTGOO *et al.*, 2017) e melhora do tingimento (SELVAM; MAHALINGAM, 2012).

Como mencionado a nanotecnologia supera as limitações de métodos e problemas convencionais conferindo funcionalidades aos materiais têxteis. Sendo assim, não há dúvidas de que a nanotecnologia se faça presente em todos os seguimentos e áreas da indústria têxtil.

3. OBJETIVOS

3.1. Objetivo geral

O trabalho tem por objetivo desenvolver tecidos impregnados com NP ZnO para avaliar tanto o potencial antibacteriano e a manutenção da atividade após diversos ciclos de lavagens frente à *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) e *Escherichia coli* (ATCC 25922), quanto a influência do tempo de reação da síntese das nanopartículas e dos diferentes tratamentos dos tecidos.

4. PARTE EXPERIMENTAL

4.1. Reagentes e equipamentos

Os reagentes foram utilizados sem tratamento prévio, devido ao elevado grau de pureza.

Tabela 1. Reagentes utilizados na síntese das NP ZnO e nos testes antimicrobianos.

Reagentes	Fabricante
Acetato de zinco diidratado ($\text{Zn}(\text{CH}_3\text{COO})_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$)	Sigma Aldrich
Hidróxido de Lítio monoidratado	Vetec
Ácool Etilico absoluto	Merk
(3-Glycidyloxypropyl)trimethoxysilane (GPTMS)	Sigma Aldrich
Ágar Mueller Hinton	Himedia
Ágar Sabouraud	Himedia
Meio RPMI	Sigma Aldrich
Ampicilina	Sigma Aldrich
Anfotericina B	Sigma Aldrich
Fluconazol	Sigma Aldrich
Resazurina	Sigma Aldrich
Tecido de poliamida 94% e elastano 6%	Rhodia

Equipamentos	Fabricante
Centrífuga SL-700	Solab
Gabinete escuro com lâmpada UV-365 nm	Boitton
Espectrofotômetro Cary 60 UV-Vis	Agilent Technologies
Difração de Raios X- SIMENS modelo D5000	Diffra Plus XDR Commee
Microscópio Eletrônico de Varredura	Philips, Topcon SM-300
Microscópio Eletrônico de Transmissão	Philips, CM200

Espectrofotômetro de absorção na região do infravermelho médio com transformada de Fourier	Bruker, Vertex 70
Balança digital semi analítica	Shimadzu
Banho Ultrassonico	Elma Elmasonic S30H
Banho seco com agitação	Thermo Shaker Kasvi
M ω Metal Working	
Phmetro	LGT Scientifc
Agitador LGI-MSH-PRO-B	LGT Scientifc
Agitador digital	IKA C MAG HS7
Paquímetro Universal Digital 150mm	Starrett 125 MEB
Autoclave vertical	Fabbe 103
Câmara de Neubauer	Boeco
Câmara de fluxo laminar	Veco
Bico de bulsen	-
Estufa Bacterológica	Fanem 315 SE
Sistema de purificação de água Mili Q	Milipore
Microplaca de 96 poços estéril	Olen Kasvi
Palito de dente estéril	Gina
Placa de Petri	-
Micropipetas com volume ajustável 10 μ L, 100 μ L, 1000 μ L, 5000 μ L	Eppendorf / Kasvi
Vidrarias em geral	-

4.2. Síntese das NP ZnO

A obtenção das NP ZnO se deu em quatro etapas, seguindo a metodologia descrita por Spanhel e Anderson (SPANHEL; ANDERSON, 1991).

Primeiramente foi preparado o precursor através de uma solução contendo etanol absoluto e acetato de zinco (0,1 mol. L⁻¹), mantida sob refluxo por 2 horas a 80°C. Sob o sistema é adicionado um balão com gás nitrogênio para evitar que a solução tenha contato com a umidade do ambiente, como é demonstrado na Figura 5. Depois de 2 horas adicionou-se etanol

absoluto para resultar em uma solução com concentração de 0,05 mol. L⁻¹. A solução foi armazenada no freezer a -10°C.

Figura 5. Esquema de preparação do precursor para a obtenção das NP ZnO.



As etapas de hidrólise e condensação para obtenção das NP ZnO foi feita a partir da adição do hidróxido de lítio (LiOH) ao precursor. A quantidade de LiOH segue razão de hidrólise ($r = [\text{OH}^+]/[\text{Zn}^{2+}]$) igual a 1. Em seguida, a solução foi levada ao banho ultrassônico por tempos diferentes: 1 hora (NP_ZnO_1HR), 3 horas (NP_ZnO_3HR) e 24 horas (NP_ZnO_24HR) sempre à 50°C. A suspensão foi então armazenada a -10°C.

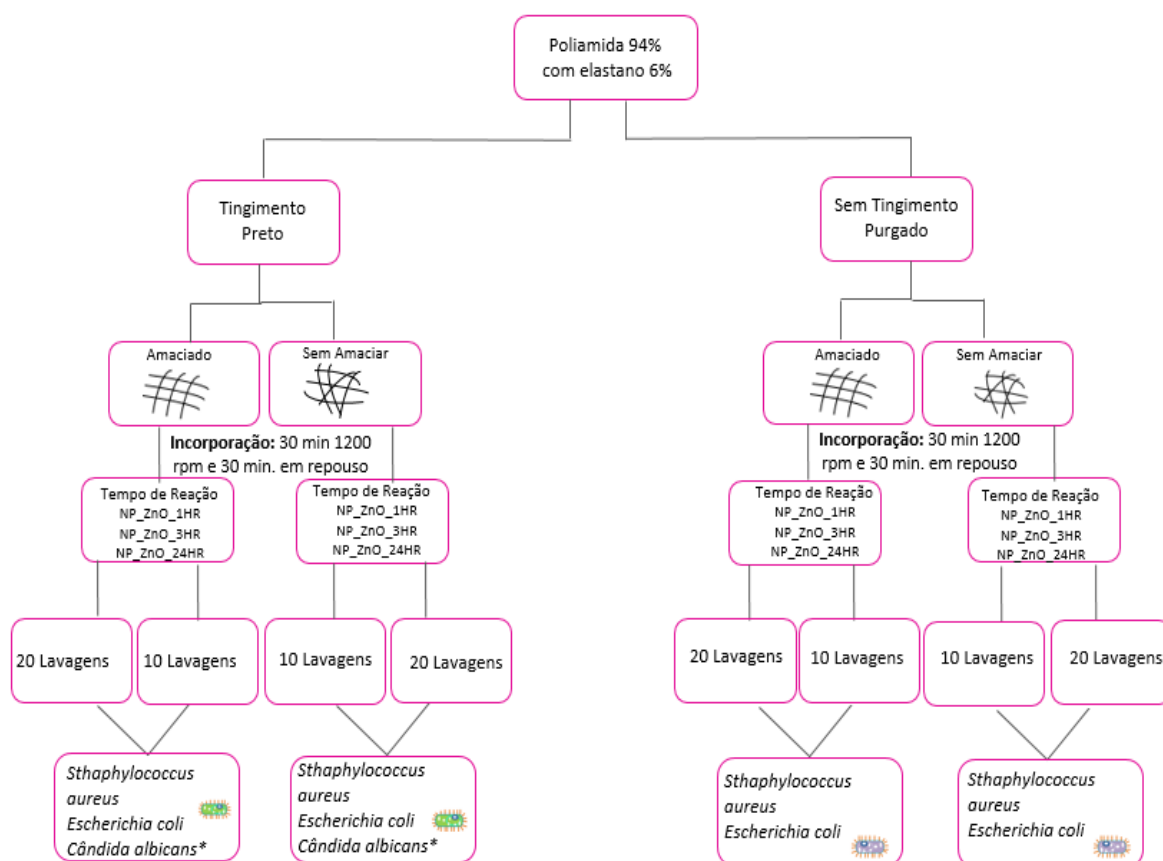
A modificação de superfície foi realizada através da ligação do (3-Glycidyloxypropyl)trimethoxysilane (GPTMS) com as NP ZnO na seguinte proporção 0,1 M de GPTMS e 0,2 M de LiOH em 10 mL de suspensão de ZnO, promovendo assim uma nova etapa de hidrólise e condensação. A reação ocorreu no banho ultrassônico em temperatura ambiente por 30 minutos. Ao final a suspensão foi centrifugada a 5.000 rpm por 10 minutos. O precipitado foi seco na capela em temperatura ambiente por 24 horas.

O precipitado obtido após secagem foi disperso em água em uma concentração de 0.5M.

Para facilitar o entendimento da metodologia utilizada no desenvolvimento e avaliação dos tecidos contendo nanopartículas de ZnO sintetizadas em três tempos de reação com propriedades antimicrobiana um fluxograma foi desenvolvido e é apresentado pela Figura 6. Dessa forma, utiliza-se tecidos com diferentes tratamentos aos quais foram incorporadas nanopartículas de ZnO preparadas em diferentes tempos de reação. A análise da atividade

antimicrobiana foi realizada frente à cepa Gram-positiva, Gram-negativa e fúngica após diversas lavagens do tecido.

Figura 6. Representação esquemática da metodologia de avaliação de tecidos contendo NP ZnO, incluindo tipos de tecidos utilizados com os diferentes tratamentos, bem como, incorporação das NP ZnO sintetizadas em diferentes tempos de reação até a avaliação do potencial antibacteriano frente a cepa Gram-positiva, Gram-negativa e fúngica. Para a cepa de *C. albicans* é possível observar um * o que significa que esta cepa foi utilizada para avaliação do potencial antifúngico somente dos tecidos pretos.



4.3. Preparo das amostras de tecidos

Para o desenvolvimento dos têxteis com propriedades antimicrobiana previamente foi definido que dois tipos de fibras seriam empregues neste projeto, sendo o poliéster e a poliamida 94% com elastano 6%. Essas fibras foram escolhidas por se tratarem de tecidos confortáveis e muito usado pelas indústrias têxteis.

Os tecidos 100 % poliéster foram adquiridos em uma loja de tecidos na cor preta.

Os tecidos de poliamida 94% e elastano 6% (poliamida) foram cedidos pela empresa LUPO S/A de Araraquara colaboradora deste projeto. Os tecidos de poliamida fornecidos continham diferentes tratamentos como, amaciante (A) e sem amaciante (S/A), tecidos com tingimento na cor preta e tecidos sem tingimento, os purgados.

Todos os tecidos foram padronizados em dimensões 1 x 1 cm. Para garantir a padronização do tamanho dos tecidos as amostras foram sobrepostas em uma régua de petwork onde constam todas as marcações exatas de 1 cm². Os cortes foram feitos com um cortador circular de tecidos. Durante o preparo das amostras os materiais eram desinfetados com álcool 70 % a fim de evitar qualquer tipo de contaminação durante o procedimento.

4.4. Impregnação das NP ZnO nas fibras têxteis

A metodologia empregue neste projeto foi baseado no método de imersão usado por Holt e colaboradores com algumas modificações (HOLT *et al.*, 2018).

Os tecidos de poliéster e de poliamida permaneceram em contato com a dispersão de NP ZnO sintetizadas em diferentes tempos de reação (1HR, 3HR e 24HR). As concentrações das dispersões de NP ZnO com superfície modificada em água Mili-Q utilizadas foram 0.06 M, 0.18 M e 0.5 M, para posteriormente avaliar a massa das nanopartículas impreganadas. Foram testados dois equipamentos em ambos usamos a mesma técnica de incorporação. Ambas as técnicas foram realizadas em temperatura ambiente, assim como a secagem dos tecidos, que ocorreu a mesma temperatura por 24 horas em capela de fluxo.

4.4.1. Incorporação por imersão sob agitação magnética

Em um becker de 10 mL com um barra magnética foram empregues os tecidos já padronizados 1 cm², em seguida foi adicionado 2 mL de dispersão de NP ZnO, nas respectivas concentrações 0.06 M, 0.18 M, 0.5 M. As amostras foram mantidas sob agitação por 30 minutos e 30 minutos repouso.

4.4.2. Incorporação por imersão sob agitação em banho a seco no shaker

Em tubos falcon de 15 mL foram empregues os tecidos já padronizados 1cm², em seguida foi adicionado 2 mL de dispersão de NP ZnO em uma concentração de 0.5 M, esta concentração permaneceu de acordo com resultados preliminares obtidos após a incorporação descrita no item 4.4.1. As amostras foram mantidas sob diferentes agitações (300, 600 e 1200 rpm) durante 30 minutos, em seguida as amostras ficaram em contato com a dispersão de NP ZnO em repouso por mais 30 minutos.

4.5. Caracterização das NP ZnO e das fibras têxteis após a incorporação das NP ZnO

4.5.1. Espectroscopia de absorção na região ultravioleta visível – UV-vis

Para avaliação do diâmetro das NP ZnO, foi usado a técnica UV-vis. Os espectros de absorção das NP ZnO com superfície modificada pelo GPTMS dispersas em água foram coletadas pelo espectrofotômetro Cary 60 UV-vis usando uma sonda de imersão com probe de caminho ótico de 2 mm. A faixa com o comprimento de onda variou de 300 a 500 nm e o tempo médio de leitura de 0,2 s por ponto com intervalo de dados de 1 nm. A água mili-Q foi usada para realizar a medida de base do experimento.

O tamanho médio das NP ZnO pode ser calculado a partir do comprimento de onda limite (“ λ_c ”), através da intersecção da tangente ao pico excitônico até o limiar do comprimento de onda (NEDELJKOVLC et al., 1993). A obtenção do raio das NP ZnO, é possível através do “ λ_c ” e o modelo matemático (*equação 1*) proposto por BRUS, uma vez que o comprimento de onda limite está relacionado com a banda proibida ($E_g = hc / \lambda_c$), onde “h” é designado a constante de Planck e “c” é a velocidade da luz, dessa forma encontrando o valor de E_g é possível obter o raio da partícula (BRUS, 1986).

Equação 1:

$$E_{g(QD)} = E_{bulk} + \frac{h^2}{8R^2} \left(\frac{1}{m_e^*} + \frac{1}{m_h^*} \right) - \frac{1.786e^2}{4\pi\epsilon_0\epsilon_r R^2}$$

E_g = gap de energia da partícula;

$E_{g\ bulk}$ = gap de energia da partícula semicondutora;

$h = h / 2\pi$, sendo h constante de Plank, assumindo valor de $6,62 \times 10^{-34}$ J.s

R= raio da partícula;

e = carga do elétron = $1,603 \times 10^{-19}$ C;

ϵ_0 = permissividade do espaço livre = $8,854 \times 10^{-14}$ F;

ϵ = permissividade relativa = 3,7;

m_0 = massa do elétron livre = $9,110 \times 10^{-31}$ kg;

m_e^* = massa efetiva do elétron = 0,24;

m_h^* = massa efetiva do buraco = 0,45

4.5.2. Difração de raios X - DRX

Os difratogramas de raios-X foram obtidos no Difratorômetro Siemens D5000 usando, radiação Cu K α , $\lambda=1.5418$ Å. Os dados da intensidade da difração foram medidos em uma faixa de $2\theta = 5 - 70^\circ$, com passo $0,01^\circ$ e tempo de exposição por passo de 1 segundo.

O diâmetro médio de cristalito para as diferentes direções cristalográficas foi calculado a partir da fórmula de Deby Scherrer:

Equação II: $D = K\lambda/\beta \cdot \cos\Theta$

Na equação K é o fator de forma e para o ZnO possui o valor de 0,89; λ é o comprimento de onda dos raios X utilizando na análise; β é a largura à meia altura dos picos de difração, em radianos e Θ corresponde ao ângulo de difração de Bragg (SCHERRER et al., 1995).

Foram analisadas por DRX as amostras das NP_ZnO_1HR, NP_ZnO_3HR e NP_ZnO_24HR na forma de pó.

Além disso, os tecidos de poliamida amaciado e sem amaciante foram analisados após o tratamento com as NP_ZnO_1HR, NP_ZnO_3HR e NP_ZnO_24HR.

4.5.3. Microscopia eletrônica de transmissão – TEM

As imagens de microscopia eletrônica de transmissão foram obtidas no microscópio Phillips CM 200, operando a 200kV, filamento de LaB6. A amostra de NP ZnO_1HR foi dispersa em água em concentração de 0,25 mg/mL, após mantida em banho de ultrassom por 5 minutos para sua redispersão. Gotas de 1 μ L foram aplicadas na grade de níquel do microscópio e em seguida foi seca em temperatura ambiente por 24 horas para a realização da análise.

Está análise também foi realizada para a fibra têxtil de poliamida amaciada após a incorporação das NP_ZnO_1HR. O preparo da amostra foi baseando-se no estudo de Nahhal, com modificações (EL-NAHHAL et al., 2020). Usamos como solvente um misto de etanol/água em seguida a amostra permaneceu em banho ultrassônico para a lixiviação das NP ZnO e fragmentos têxteis. Após foram aplicadas em grades de níquel e secas por 24 horas.

4.5.4. Avaliação da incorporação das NP ZnO por diferença de massa

A avaliação da massa inorgânica de NP ZnO incorporadas nas fibras têxteis foi realizada pelo diferencial de massa sugerido por Holt et al. 2018.

A massa inicial das amostras têxteis foi registrada em balança analítica. Após a finalização do processo de incorporação e secagem a massa das amostras foi novamente determinada em balança analítica. A diferença obtida entre a massa inicial e a massa final foi atribuída à massa de material inorgânico incorporado durante o processo.

4.5.5. Avaliação da incorporação das NP ZnO por luminescência

Após a incorporação das NP ZnO nas fibras têxteis as amostras foram expostas a radiação ultravioleta em cabine escura com lâmpada UV a 365 nm.

Com base na fotoluminescência das NP ZnO, esta técnica buscou avaliar de maneira qualitativa a deposição das NP ZnO sobre as fibras têxteis após o processo de revestimento.

4.5.6. Lavagem das amostras têxteis

A avaliação da manutenção do potencial antimicrobiano das amostras de tecido funcionalizadas com NP ZnO foi realizado após 10 e 20 ciclos de lavagens. Estas lavagens foram realizadas pelo Laboratório Químico da empresa LUPO S/A, colaboradora e responsável por esta etapa do projeto.

O processo de lavagem das amostras ocorreu de acordo com o procedimento determinado pela ISO 105 C06 B15 a 50°C. Utilizou-se 0.5 g de sabão em pó comum e 25 esferas de aço junto com as amostras que ficaram mantidas a 42 rpm por 30 minutos na máquina de lavar modelo: Metal Working Lab. Ao termino do processo de lavagem os têxteis foram centrifugados e secos.

As amostras de tecidos A (amaciado) e S/A (sem amaciar), tingidos e sem tingimento foram lavadas separadamente, após a incorporação das NP_ZnO_1HR, NP_ZnO_3HR e NP_ZnO_24HR à 0.5 M no SHEKER.

4.5.7. Espectroscopia Vibracional no Infravermelho com Transformada de Fourier – FTIR

Os espectros vibracionais na região do infravermelho foram realizados no espectrofômetro de absorção na região do infravermelho médio com transformada de Fourier - VERTEX 70 da BRUKER, tipo de detector: DLaTGS (4000-400 cm⁻¹).

As amostras de tecidos de poliamida A e S/A controle e tratadas com as respectivas NP ZnO foram avaliadas NP_ZnO_1HR, NP_ZnO_3HR e NP_ZnO_24HR.

4.5.8. Microscopia Eletrônica de Varredura – MEV

As imagens de microscopia eletrônica de varredura foram obtidas para os tecidos de poliamida (A e S/A) sem NP ZnO e após o revestimento com NP_ZnO_1HR. O equipamento utilizado foi o microscópio eletrônico de varredura FE-SEM; JEOL modelo 7500F, com as seguintes condições operacionais: tensão de aceleração 10.0 kV, corrente de emissão 10 uA, as amostras foram recobertas com carbono para a análise.

4.5.9. Espectroscopia de raios X por espalhamento de luz dinâmica – EDS

As medidas de EDS utilizaram uma aceleração de 10.0 kV, através de um dectector da Thermo Fisher Scientifc Ultra Dry, acoplado ao canhão MEV_FEG, já descrito no item 5.1.4. As amostras utilizadas foram tecidos de poliamida A revestidos com NP_ZnO_1HR.

4.6. Caracterização do potencial antibacteriano

4.6.1. Determinação da concentração inibitória mínima – CIM

Para determinação da menor concentração capaz de inibir os microrganismos foi realizada a metodologia CIM com as dispersões aquosas de NP ZnO sintetizadas em diferentes tempos de reação NP_ZnO_1HR, NP_ZnO_3HR, NP_ZnO_24HR. O procedimento foi realizado frente a cepas bacterianas *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) e *Escherichia coli* (ATCC 25922), de acordo com a Norma M7-A10 do Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI), com adaptações usando meio de cultura Mueller Hinton em microplaca de 96 poços (CLSI, 2015). A determinação da CIM para a levedura *Cândida albicans* (ATCC 90028) foi realizada de acordo com a metodologia M27-A3 do CLSI, entretanto foi ajustada a microplacas de 96 poços com meio RPMI sem adição de glicose (CLSI, 2008).

A CIM foi determinada a partir das dispersões aquosas de NP ZnO com concentração de 5 mg/mL. De acordo com a literatura, concentrações acima de 5 mg/mL demonstram desempenho significativo (ARAKHA et al., 2015).

O fármaco antimicrobiano usado como controle positivo da atividade das cepas bacterianas foi a ampicilina e para a levedura foi usado a anfotericina B e o fluconazol. O controle positivo do fármaco foi realizado com o objetivo da confirmação da inibição dos patógenos pelo fármaco de referência.

As microplacas de 96 poços contaram com controle positivo para evidenciar o crescimento das bactérias e das leveduras, controle negativo para confirmação da esterilidade do meio, e também foi realizado o controle das amostras para garantir a esterilidade das mesmas.

Inicialmente a microplaca foi recoberta com 100 µL de meio, em seguida a amostra foi inserida nos primeiros poços, iniciando a diluição seriada. Para a diluição seriada, as amostras e o meio eram homogeneizados no poço inicial e em seguida era transferido 100 µL para o poço seguinte, no último poço era feito o descarte de 100 µL. Ao término da diluição seriada foi adicionada o inóculo bacteriano.

Um tubo continha o repique da bactéria que permaneceu em crescimento por 24 horas à 37 °C a partir deste tubo era transferido colônias bacterianas isoladas para um tubo contendo salina, essa suspensão foi ajustada pela turbidimetria à 0,5 da escala de Mac Farland.

A concentração exigida para o inóculo da levedura *Candida albicans* é 2×10^4 células/mL, dessa forma, foi utilizado a câmara de Neubauer para a padronização das células.

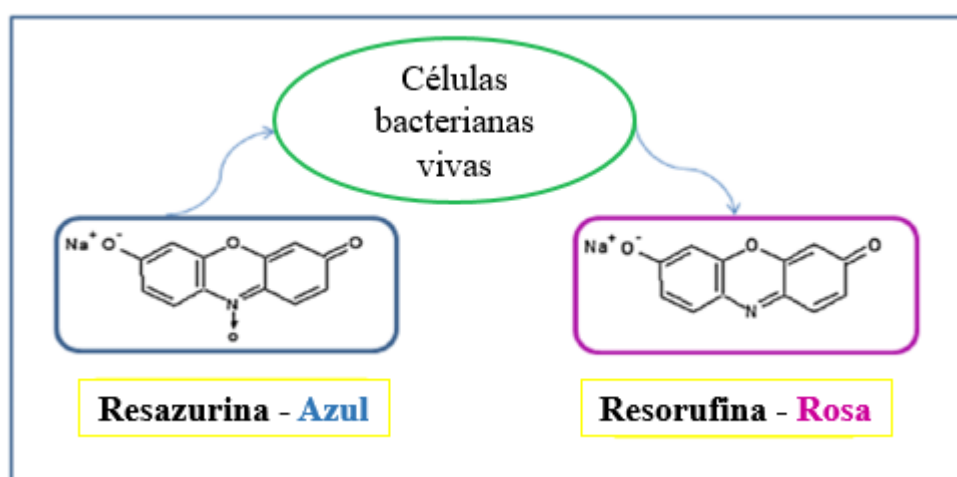
Primeiramente a levedura ficou em crescimento por 24 horas em caldo Sabouraud (repique), foi transferido de 100 a 200 μL do repique para um tubo contendo salina. A solução salina contendo a levedura foi homogeneizada e colocada na câmara de Neubauer para a realização da contagem das células. Após a contagem das células foi feito uma diluição 1:100 em meio RPMI e foi aplicado 100 μL em cada poço da microplaca, exceto nos controles das amostras e no meio.

As microplacas foram incubadas em estufa microbiológica para bactérias e leveduras, permaneceram por 24 horas na temperatura de 35,5 °C, sob agitação de 100 rpm para leveduras.

A inibição do crescimento bacteriano foi demonstrada a partir da adição de 30 μL de solução aquosa de resazurina que previamente foi diluída 1:100, após as microplacas foram incubadas por 37°C por 1 hora. Dessa forma, o valor do CIM foi determinado visualmente a partir da mudança de cor de azul para rosa. A menor concentração que não apresentou mudança de cor foi considerada como o valor do CIM (POMASTOWSKI et al., 2020).

A Figura 7 ilustra o processo de redução que ocorre da resazurina para a resorufina. A resazurina é um corante (fenoxazin-3-ona) amplamente utilizado para testar a viabilidade de materiais biológicos através da redução da resazurina em resorufina, esta oxi-redução é responsável pela mudança de cor azul para rosa (MONTEJANO; GERVALDO; BERTOLOTTI, 2005).

Figura 7. Redução da Resazurina em Resorufina, imagem adaptada da literatura (ELSHIKH et al., 2016).



A coloração é visível a olho nú, desta forma, é realizado uma leitura visual onde a coloração azul indica a ausência do crescimento bacteriano e a coloração rosa indica que houve crescimento. A determinação da CIM foi evidenciada de acordo com a menor concentração

capaz de inibir o crescimento microbiano. Em seguida, as amostras foram submetidas a determinação da concentração bactericida mínima (CBM).

4.6.2. Determinação da Concentração Bactericida Mínima (CBM) e fungicida (CFM)

Para determinação da CBM ou CFM obtivemos pequena quantidade do inóculo bacteriano através de um palito estéril embebido nos respectivos poços da microplaca onde foi realizado o experimento da CIM. A pequena alíquota coletada na parte inferior do palito estéril é usada para preencher os respectivos quadrados na placa de Petri com ágar solidificado correspondentes a placa de 96 poços do experimento MIC. As microplacas contendo meio de cultura Ágar Mueller Hinton/ Meio Sabouraud solidificado e as respectivas amostras coletadas anteriormente, se mantiveram incubados a 37 ° C por 24 horas.

4.6.3. Difusão em ágar

O teste de difusão em ágar é um teste antimicrobiano qualitativo designado de primeira escolha devido a praticidade, economia e rapidez (BORDA D'ÁGUA et al., 2018).

Desta forma, os tecidos contendo NP ZnO antes e após os 10 e 20 ciclos de lavagens, foram submetidos a análise do potencial antimicrobiano pelo teste de difusão em ágar frente à cepas bacterianas de *Staphylococcus aureus* (ATCC 2593) e *Escherichia coli* (ATCC 25922), essa metodologia é baseada na norma M2-A8 do Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) (CLSI, 2003). A avaliação do potencial fungicida das amostras têxteis foi avaliado contra *Candida albicans* (ATCC 90028) de acordo com a norma M44-A2 do CLSI (CLSI, 2009).

O teste envolveu as seguintes etapas: seleção de colônias, preparação inóculo bacteriano e de levedura, ajuste da escala de Mac Farland, preparação das placas, inoculação da bactéria e do fungo na placa, adição das amostras, incubação das placas, medição dos halos de inibição e interpretação dos resultados.

Os testes foram realizados em placa de Petri contendo meio ágar-Muelier Hinton para cepa bacteriana, para as cepa de levedura as placas continham meio Sabouraud e 0,5 g/mL de azul de metileno.

Foi realizado o controle negativo com tecidos esterilizados sem quaisquer incorporação de material antimicrobiano e para o controle positivo foi utilizado o fármaco Ampicilina (0,5 mg/mL) para as bactérias e para as cepas de levedura foi usado o fármaco Fluconazol (2,56 mg/mL) visando a confirmação da inibição pelo medicamento de referência frente a cepa

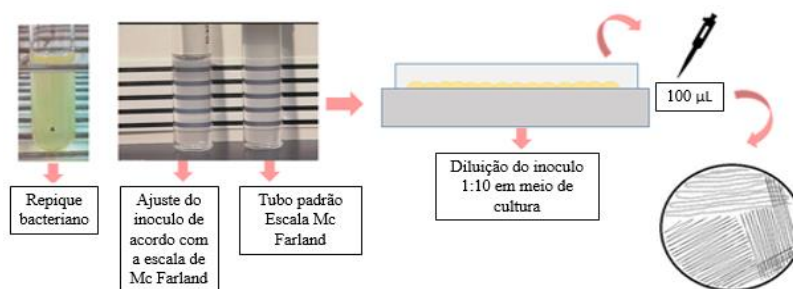
bacteriana. As amostras de tecidos foram tratadas com NP_ZnO_1HR, NP_ZnO_3HR e NP_ZnO_24HR.

A suspensão de microrganismos utilizada foi preparada transferindo diversas colônias bacterianas com crescimento de 24 horas a 37°C do meio BHI para um tubo contendo solução salina 0,9%, de modo a obter a turbidez ótica comparando à solução padrão 0,5 na escala Mac Farland (108 células/mL). Em seguida a solução foi diluída 1:10 em Muller Hinton Broth (caldo) e devidamente homogeneizada, obteve-se assim o inóculo bacteriano. Para a preparação do inculo fungicida o repique que ficou em crescimento por 24 horas em meio Sabouraud Dextrose caldo e em seguida foi transferido para o tubo contendo salina a 0,9% para o ajuste da escala de Mac Farland.

A partir das suspensões devidamente ajustadas foi adicionado 100 µL nas placas de Petri contendo Ágar Muller Hinton/Sabouraud solidificado, com o auxílio de uma alça de vidro foi distribuída de ponta a ponta de maneira uniforme a suspensão bacteriana sob a placa. As amostras foram depositadas com distância entre si, para evitar possíveis sobreposições do halo de inibição. As placas foram incubadas na estufa à 37°C por 24 horas. A atividade antimicrobiana e antifúngica foi avaliada a partir do diâmetro do halo de inibição formado pelas amostras. O ensaio foi realizado em triplicata.

A Figura 8 trata-se de uma ilustração do método reportado anteriormente. Primeiramente a partir do repique foi feito o ajuste a Escala de Mac Farland, em seguida foi realizado uma diluição na proporção 1:10 e as placas de Petri contendo meio ágar Muller Hinton solidificado ou meio Sabouraud receberam 100 µL das suspensões bacterianas ou de levedura que foram espalhadas de maneira uniforme por toda placa.

Figura 8. Ilustração da metodologia realizada na técnica antimicrobiana qualitativa difusão em ágar.



4.6.4. Determinação da atividade antibacteriana de produtos antibacterianos acabados (têxteis) - JIS L 1902/ ISO20743

A técnica quantitativa foi usada para determinar a atividade antibacteriana de tecidos de poliamida amaciados e sem amaciar, com tingimento preto, impregnados com NP ZnO antes e após 20 lavagens. Além disso, realizou-se os controles para os tecidos sem nanopartículas, controle da bactéria e do antibiótico.

De acordo com a metodologia avaliou-se a esterilidade das amostras têxteis controle e impregnadas com as NP ZnO, para garantir a qualidade da produção e do armazenamento das amostras tanto antes quanto após os processos de lavagens. Sendo assim, os tecidos pretos com os diferentes tratamentos foram incubados com caldo Mueller Hinton por 24 horas à 37°C. Alíquotas do caldo de cultivo com as amostras têxteis foram coletadas e plaqueadas para avaliação da presença ou ausência do crescimento de colônias nas placas de Petri contendo ágar solidificado.

Após o teste de esterilidade as amostras têxteis pesando aproximadamente 0,4 g cada foram incubadas com 200 µL de suspensão bacteriana devidamente ajustada de acordo com a escala de Mac Farland e diluída 1:100. Esta metodologia foi baseada na norma JIS L 1902 com modificações da norma ISO 20743 (JIS L 1902 (2008), ISO 20743(2013)). As cepas utilizadas para esse teste foram *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) e *Escherichia coli* (ATCC 25922).

As amostras têxteis tratadas e os controles receberam 200 µL dos inóculos bacterianos aos quais ficaram incubados pelo tempo de 0 horas (T0h) e 24 horas (T24h). As amostras têxteis avaliadas no T24h permaneceram em estufa bacteriológica à 37°C por 24 horas. Ambos procederam ao enxágue com solução salina 0,9% e realizou-se diluições seriadas do líquido das lavagens através do plaqueamento em placas de Petri com Ágar Mueller Hinton solidificado. Contou-se as colônias crescidas nas placas de Petri e comparamos o crescimento obtido para o T0h e T24h.

4.6.5. Análise estatística

Os dados dos diâmetros dos halos de inibição medidos pela técnica de difusão em ágar foram expressos como a média das triplicadas $\pm$ desvio padrão e foram submetidos a análise de variância (ANOVA) ($p \leq 0,05$) seguido pelo teste de comparação Tukey's. Para analisar os dados da atividade antibacteriana contamos com ajuda do software estatístico Minitab versão 17.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

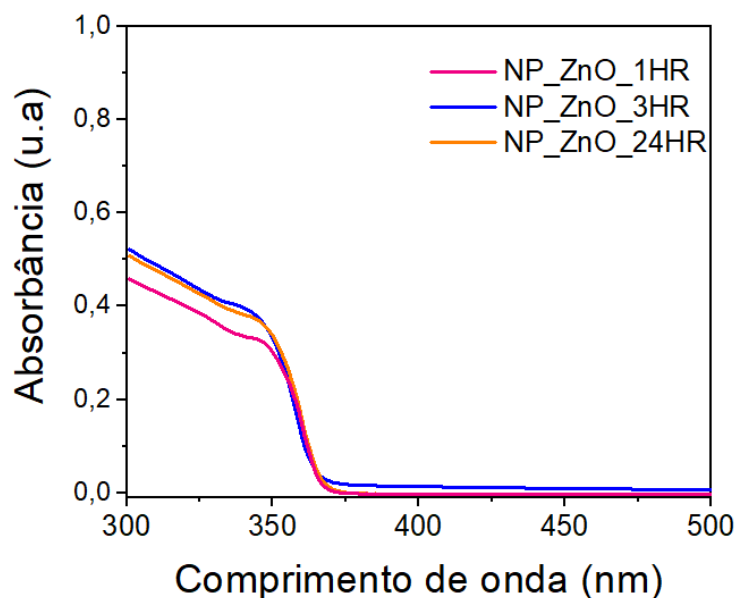
5.1. Espectroscopia de absorção na região ultravioleta visível - UV - vis das dispersões aquosas das NP ZnO

As NP ZnO obtidas neste projeto exibem ótimas propriedades de luminescência, essas características são dependentes do tamanho e possibilitam as NP ZnO serem chamadas de pontos quânticos (PQ) (LIN et al., 2005).

Os PQ absorvem radiação na região do UV-vis o que possibilita determinar o raio das NP ZnO através do pico excitônico dado em determinado comprimento de onda, através do modelo de massa efetiva (*Equação 1*) (BRUS, 1986).

A Figura 9 mostra os espectros de absorção das dispersões aquosas das NP ZnO modificadas pelo GPTMS, sintetizadas em diferentes tempos de reação sendo as NP_ZnO_1HR, NP_ZnO_3HR e NP_ZnO_24HR. Foram utilizados diferentes tempos de reação uma vez que o mesmo pode interferir no tamanho final das nanopartículas (CAETANO et al., 2011).

Figura 9: Gráficos do comprimento de onda em função da absorbância para as NP ZnO sintetizadas em diferentes tempos de reação sendo NP_ZnO_1HR, NP_ZnO_3HR e NP_ZnO_24HR ambas modificadas com GPTMS e dispersas em água.



O tamanho do raio foi calculado pelo modelo matemático proposto por Brus, a partir de uma reta traçada tangencialmente ao comprimento de onda limite (λ_c) de acordo com o pico de absorção máximo das NP ZnO. Os valores obtidos para o raio nos respectivos λ_c são listados pela Tabela 2.

Tabela 2: Raio das NP ZnO sintetizadas em diferentes tempos de reação através do cálculo de massa efetiva proposto por Brus.

Amostras	NP_ZnO_1HR	NP_ZnO_3HR	NP_ZnO_24HR
λ_c (nm)	366,43	366,98	367,94
Raio (nm)	3,13	3,19	3,31

A partir dos espectros de absorção foi possível identificar o pico excitônico bem definido do ZnO, em torno de 360 a 370 nm.

É importante ressaltar que o E_g , é inversamente proporcional ao tamanho das nanopartículas. Um declínio para o comprimento de onda menor indica menor tamanho das nanopartículas sintetizadas, enquanto que a tendência é aumentada para o tamanho do E_g , fato este avaliado por Asok e colaboradores (ASOK; GANDHI; KULKARNI, 2012). As NP ZnO sintetizadas em diferentes razões de hidrólise (0.25, 0.33, 0.67, 1 e 2) demonstraram diâmetros diferentes 2.85 nm, 3.60 nm, 5.34 nm, 6.99 nm e 12.16 nm, respectivamente, sendo que o valor do E_g foi inversamente proporcional, 3.98, 3.78, 3.59, 3.52, 3.45, respectivamente (ASOK; GANDHI; KULKARNI, 2012). Os valores dos raios das nanopartículas calculados são concordantes com o valor descrito anteriormente na literatura (ASOK; GANDHI; KULKARNI, 2012).

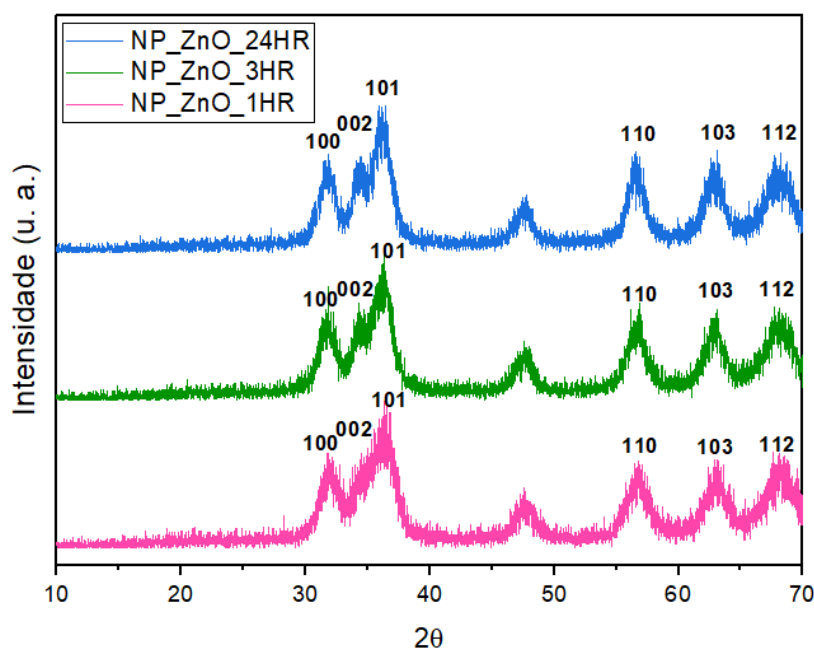
Um trabalho realizado por Soosen e colaboradores obtiveram um pico de absorção semelhante próximo a 360 nm para as NP ZnO e atribuíram que este pico corresponde a um tamanho médio de 5-8 nm das NP ZnO sintetizadas (SOOSEN; BOSE; KC, 2009). Resultados semelhantes foram demonstrados por Singh et al. (SINGH, D. E. *et al.*, 2013).

Neste estudo os valores dos raios obtidos para as dispersões aquosas de NP ZnO sintetizadas em diferentes tempos de reação foram semelhantes ao de Lallo da Silva e colaboradores (LALLO DA SILVA; CAETANO; *et al.*, 2019). Este estudo foi realizado anteriormente em nosso grupo usando os mesmos parâmetros de síntese. As NP ZnO obtidas demonstraram potencial antibacteriano promissor e dependente do tamanho (LALLO DA SILVA; CAETANO; *et al.*, 2019). Dessa forma, ressaltamos que o tamanho das NP ZnO foram mantidos em relação ao estudo anterior, sendo assim, os tecidos com as NP ZnO podem atingir grandes proporções no potencial biocida.

5.2. Difração de raio X – DRX dos pós de NP ZnO

A difração de raios X foi realizada para os pós das NP ZnO com objetivo de avaliar a fase e o tamanho de cristalito dos materiais obtidos. A Figura 10 apresenta os difratogramas de raios-X das NP ZnO sintetizadas em diferentes tempos de reação sendo NP_ZnO_1HR, NP_ZnO_3HR e NP_ZnO_24HR, com superfície modificada pelo GPTMS.

Figura 10. Difratogramas de raios X dos pós das NP ZnO sintetizadas em diferentes tempos de reação com a superfície modificada pelo GPTMS.



Os picos mostrados na Figura 10 correspondem a fase hexagonal do ZnO com estrutura wurtzita, resultado este que corrobora com difratogramas obtidos para as NP ZnO sintetizadas no estudo de Ngom e colaboradores (NGOM *et al.*, 2020) e no estudo de Lallo da Silva et al. (LALLO DA SILVA; CAETANO; *et al.*, 2019). Esta estrutura apresenta picos correspondentes aos planos de difração para as diferentes direções cristalográficas (100), (002), (101), (102), (110), (103) e (112), situados em $2\theta = 31,80; 34,47; 36,29; 47,60; 56,54; 62,94$ e $67,96$ indexados em JPDS 36-1451 (JANAKI; SAILATHA; GUNASEKARAN, 2015).

Com esta técnica é possível calcular o tamanho médio de cristalito através da fórmula de Scherrer, como demonstrado anteriormente na *Equação II*. Para o cálculo do tamanho médio de cristalito para as diferentes amostras de NP ZnO foram usados os planos (101), (100), (002), (110), (103) e (112). Na Tabela 3 estão descritos os valores calculados para o tamanho médio das NP ZnO sintetizadas em diferentes tempos de reação.

Tabela 3. Tamanho médio calculado pela formula de Deby Scherrer a partir dos difratogramas obtidos das NP ZnO sintetizadas em diferentes tempos de reação.

Planos	NP_ZnO_1HR	NP_ZnO_3HR	NP_ZnO_24HR
(101)	3,9	4,1	4,2
(100)	4,4	5,6	5,8
(002)	2,6	2,4	9,5
(110)	3,9	4,8	5,2
(103)	4,6	5,5	4,5
(112)	4,1	3,9	5,0

Usualmente para comparar diversas amostras é escolhido apenas um dos planos cristalográficos e para a estrutura wurtizita do ZnO esse plano é o (101) por ser o plano referente ao pico de 100% de intensidade para essa fase do ZnO (DAS *et al.*, 2017; JANAKI; SAILATHA; GUNASEKARAN, 2015).

Os valores de tamanho médio de cristalito calculados a partir dos DRX são compatíveis com os obtidos pela equação de Brus através do UV-vis. Além disso, os valores calculados foram semelhantes aos obtidos em nosso grupo de pesquisa em um estudo anterior, que sintetizou NP ZnO utilizando os mesmos parâmetros de síntese deste projeto (LALLO DA SILVA; CAETANO; *et al.*, 2019).

O tamanho da partícula é de extrema importância na interação do ZnO com as células bacterianas e outros sistemas biológicos. A diminuição do tamanho das partículas leva a um aumento significativo do total de átomos aderidos a superfície das células bacterianas, dessa forma, é possível garantir maiores proporções da atividade antibacteriana quando o tamanho é reduzido (STANIĆ; TANASKOVIĆ, 2020).

O tamanho de cristalito das nanopartículas sintetizadas neste trabalho são da mesma ordem de grandeza de partículas previamente estudadas na literatura e que apresentam excelente atividade antibacteriana (BUŞILĂ *et al.*, 2020; LALLO DA SILVA; CAETANO; *et al.*, 2019). Vale ressaltar que NP ZnO menores que 10 nm alcançam melhores resultados bactericidas (KRÓL *et al.*, 2017; MAKVANDI *et al.*, 2020).

Sendo assim, os resultados dos diâmetros obtidos favorecem ainda mais a aplicação em tecidos voltados para a atividade antibacteriana.

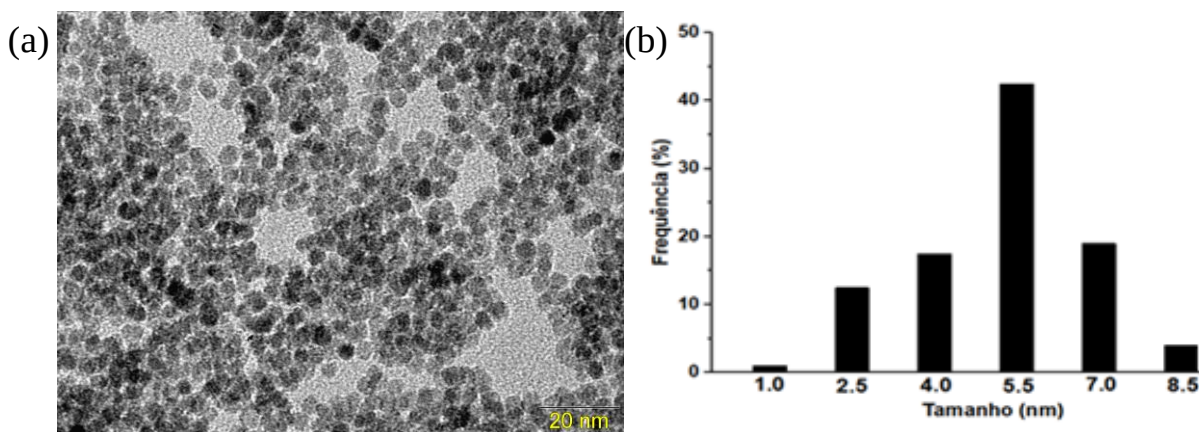
5.3. Microscopia eletrônica de transmissão – TEM das dispersões aquosas de NP

ZnO

Imagens de microscopia eletrônica de transmissão foram obtidas para as dispersões aquosas de NP_ZnO_1HR com superfície modificada pelo GPTMS. A Figura 11 (a) representa a micrografia de TEM obtida para as NP ZnO modificadas.

A obtenção do diâmetro das NP ZnO foi realizado através do programa ImageJ. A Figura 11 (b) evidencia o histograma elaborado com a frequência e distribuição dos valores em nm obtidos para 200 partículas NP ZnO com superfície modificada. Através da distribuição do tamanho é possível observar uma maior frequência das NP ZnO na ordem de 5.5 nm.

Figura 11. A imagem (a) representa a micrografia de TEM obtida para a dispersão aquosa de NP_ZnO_1HR e a imagem (b) representa a frequência do diâmetro calculado as NP ZnO a partir da micrografia de TEM pelo programa ImegJ.



As imagens de microscopia eletrônica de alta resolução possibilita observar a morfologia das NP ZnO, que apresentam forma esférica.

A estimativa do tamanho médio obtido para as NP ZnO de acordo com o histograma corrobora com o estudo feito por Busila e colaboradores. Os histogramas alcançados após as análises de TEM no estudo de Busila apresentou diâmetros diferentes para as NP ZnO antes e após a modificação pelo GPTMS, sendo, 12.98 e 3.07 nm, respectivamente. Na ausência do modificador as nanopartículas apresentam alta energia superficial e tendem a agregar, o uso do GPTMS induz a diminuição da energia superficial e reduz a tendência de agregação, resultando em diâmetros menores (BUŞILĂ *et al.*, 2020).

Sendo assim, através das técnicas de DRX, Uv-vis e MET, obtivemos um tamanho médio de 5 nm para as NP ZnO sintetizadas neste projeto, este diâmetro se torna promissor para atingir grandes proporções biocidas após o revestimento dos tecidos.

5.4. Definição da fibra têxtil

Sabe-se que é de grande importância a escolha do material têxtil para o emprego das NP ZnO, uma vez que, a escolha da fibra pode interferir na impregnação e quantidade de NP ZnO depositadas na superfície de um tecido. Além disso, deve-se levar em consideração o tipo de fibra mais usado capaz de conferir funcionalidades às vestimentas. As fibras têxteis escolhidas para análise neste trabalho foram as sintéticas, uma vez que possuem importantes vantagens em relação às naturais que apresentam baixa resistência, durabilidade e alta inflamabilidade. Em contrapartida as fibras sintéticas (poliéster e poliamida) são resistentes a manchas, ao desgaste e à ruptura e desde a década de 1940 tem sido amplamente usadas (EREM; OZCAN; SKRIFVARS, 2011).

Dessa forma, selecionou-se duas fibras sintéticas para o desenvolvimento deste projeto, sendo o poliéster e a poliamida 94% com elastano 6%. Previamente, avaliamos a incorporação das NP ZnO em cada tipo de tecido por diferencial de massa a fim de compara-las quanto a quantidade de NP ZnO incorporadas. O diferencial de massa também foi usado na literatura por Holt e colaboradores para avaliar a incorporação de nanopartículas depositadas em tecidos (HOLT *et al.*, 2018).

Na Tabela 4 estão descritas as fibras têxteis e os valores de massa respectivos das NP ZnO impregnadas em cada amostra. As NP ZnO impregnadas foram sintetizadas em diferentes tempos de reação (NP_ZnO_1HR, NP_ZnO_3HR e NP_ZnO_24HR). Os experimentos foram realizados em triplicata.

Os resultados permitem observar que a poliamida teve maior incorporação das NP ZnO quando comparada ao poliéster.

Tabela 4: Impregnação das NP ZnO em diferentes fibras têxteis.

TECIDOS	NP_ZnO_1HR (0.5M)	NP_ZnO_3HR (0.5M)	NP_ZnO_24HR (0.5M)
Poliamida	4.3 mg $\pm$ 0,72	6.3 mg $\pm$ 1,48	5.9 mg $\pm$ 0,05
Poliéster	2.9 mg $\pm$ 0,26	2.4 mg $\pm$ 0,2	2.2 mg $\pm$ 0,32

De acordo com Fiedot-Tobola e colaboradores, o tecido de poliamida é popularmente usado para funcionalização nas indústrias têxteis (FIEDOT-TOBOLA *et al.*, 2018).

Assim como as fibras evoluíram em quesitos de funcionalizações e qualidade os clientes e usuários também se tornaram mais exigentes, atualmente optam por novas cores, texturas e

funcionalidades dos têxteis (EREM; OZCAN; SKRIFVAR, 2011; YETISEN *et al.*, 2016). Sendo assim, torna-se essencial o desenvolvimento de tecidos com multifuncionalidades tais como propriedade antibacteriana, para atender aos critérios dos clientes e também contribuir com os problemas relacionados a saúde. Neste contexto, as NP ZnO são boas candidatas para serem impregnadas em tecidos por não apresentarem toxicidade, não alterarem as cores dos tecidos e apresentarem efetividade na ação biocida (FIEDOT-TOBOŁA *et al.*, 2018).

Além disso sabemos, que a fibra têxtil escolhida pode interferir nos resultados e características físico químicas dos tecidos após a incorporação de nanopartículas. Momotaz e colaboradores realizaram um estudo com três tipos de tecidos revestidos por NP ZnO e notaram diferenças entre as propriedades antibacterianas apresentada por eles. Os autores atribuíram essa diferença à estrutura têxtil (MOMOTAZ *et al.*, 2020).

Ibrahim e colaboradores avaliaram duas fibras têxteis diferentes sendo tecido puro de algodão e tecido misto de algodão/poliéster após a incorporação de nanopartículas de Quitosana carregadas com antibiótico. Os parâmetros avaliados apresentaram resultados diferentes em relação a impregnação das nanopartículas, o que foi atribuído a estrutura diferente das fibras têxteis assim como os grupos funcionais reativos presentes em cada tecido (IBRAHIM, H. M. *et al.*, 2020).

Fiedot-Tobola e colaboradores também atribuíram que a incorporação das NP ZnO varia de acordo com a fibra têxtil usada durante o processo de impregnação, dessa maneira estudaram tecidos de poliamida (PA), tereftalato de polietileno (PET) e polipropileno (PP) para atividade antibacteriana dependente das NP ZnO. Neste estudo foi sugerido que quanto mais hidrofílica for a fibra têxtil, maior é a tendência de que as NP ZnO se depositem sobre ela, sendo assim os grupos amida adicionais presentes nos tecidos de poliamida são caracterizados por fortes ligações polares, fator este que contribui para o maior emprego das NP ZnO sobre as fibras de poliamida (FIEDOT-TOBOŁA *et al.*, 2018).

O resultado de Ibrahim *et al.* em relação a escolha da fibra têxtil corrobora com o resultado obtido, embora usamos os mesmos parâmetros e condições para a incorporação das NP ZnO em tecidos de poliéster e poliamida podemos observar um diferencial de massa significativo entre as fibras estudadas (IBRAHIM, H. M. *et al.*, 2020). Além disso, a atribuição de Field - Tobola *et al.* sugere que a estrutura dos tecidos de poliamida são mais propícios a maior incorporação de NP ZnO (FIEDOT-TOBOŁA *et al.*, 2018).

Dessa forma, com base nos resultados de diferença de massas obtidos neste trabalho e em trabalhos da literatura científica, concluímos que os têxteis de poliamida são mais promissores para dar continuidade aos estudos de impregnação com NP ZnO e atividade

antimicrobiana. Sendo assim, determinamos que as etapas seguintes contaram somente com tecidos misto de poliamida 94 % e poliéster 6 % contendo Amaciante (A) e Sem Amaciar (S/A), tecidos sem tingimento (purgado) e contendo tingimento (preto), os tecidos foram revestidos com NP_ZnO_1HR, NP_ZnO_3HR e NP_ZnO_24HR.

5.5. Avaliação da impregnação das NP ZnO nos tecidos por diferencial de massa

Com o intuito de avaliar o melhor potencial de massa das NP ZnO incorporadas nos tecidos de poliamida alteramos alguns parâmetros capazes de influenciar a quantidade de NP ZnO impregnadas na fibra têxtil, tais como parâmetros de agitação com diferentes equipamentos, tempo de reação e concentração das dispersões de NP ZnO.

O processo de incorporação das NP ZnO nos têxteis foi realizado em dois equipamentos diferentes sendo, agitador magnético e o banho a seco, SHAKER.

A concentração das suspensões das NP ZnO variou entre 0.06 M, 0.18 M e 0.5 M nas fibras de poliamida. As concentrações foram alteradas para as amostras de NP ZnO sintetizadas por 1 e 24 horas. O valor da massa relacionado a **incorporação** das NP ZnO foi obtido através dos valores em triplicata da pesagem das amostras antes e após o revestimento com as NP ZnO.

Na Tabela 5 estão descritos os valores relacionados a **incorporação** de massa das NP ZnO sintetizadas em diferentes tempos de reação nas fibras de poliamida por agitação magnética.

Tabela 5: Valores da incorporação das NP ZnO através da massa final menos a massa inicial, alterando as concentrações das suspensões de NP ZnO incorporadas nos tecidos de poliamida através de agitação magnética. Os valores apresentados mostram a média da triplicata.

Equipamento: Agitador Magnético					
0.06 M		0.18 M		0.5 M	
NPZnO_1HR	NPZnO_24HR	NPZnO_1HR	NPZnO_24HR	NPZnO_1HR	NPZnO_24HR
0,56 mg	0,73 mg	1,6 mg	1,43 mg	3,23 mg	2,8 mg
± 0,05	± 0,15	± 0,1	± 0,23	± 0,40	± 0,45

A Tabela 6 mostra os valores da massa referindo se a **incorporação** das NP ZnO após o processo de impregnação realizado em banho a seco no SHEKER na concentração de 0.5 M, após 30 minutos de agitação e 30 minutos de repouso, alterando apenas a velocidade em rpm.

Os parâmetros de rotação utilizados foram: inicial 300 rpm, intermediário 600 rpm e rotação final 1.200 rpm.

Tabela 6: Valores da incorporação das NP ZnO atribuídos em relação a massa final menos a massa inicial, alterando os parâmetros de agitação em banho a seco shaker para incorporação das NP ZnO. Os resultados apresentados mostram a média da triplicata.

Equipamento: Shaker			
POLIAMIDA	NP_ZnO_1HR (0.5M)	NP_ZnO_3HR (0.5M)	NP_ZnO_24HR (0.5M)
300 rpm	2.8 mg $\pm$ 0,17	4.5 mg $\pm$ 1,61	4 mg $\pm$ 0,2
600 rpm	3.8 mg $\pm$ 0,28	3.86 mg $\pm$ 0,51	3.9 mg $\pm$ 0,25
1200 rpm	5.3 mg $\pm$ 0,60	4 mg $\pm$ 0,47	4.4 mg $\pm$ 0,26

Os dados dispostos nas Tabelas 5 e 6 indicam que a maior incorporação é proporcional ao aumento da concentração das dispersões aquosas das NP ZnO e a rotação.

Sabemos que a atividade antibacteriana dos tecidos revestidos com NP ZnO é diretamente influenciada pela concentração das NP ZnO. Ou seja, pode-se alcançar melhores resultados para a atividade antibacteriana dos tecidos quando maiores concentrações de NP ZnO são empregues as fibras têxteis, uma vez que, a ação biocida dos tecidos é influenciada pela concentração (KAR *et al.*, 2019; VERBIČ; GORJANC; SIMONČIČ, 2019).

As suspensões das NP ZnO foram estudadas na faixa de concentração mais baixa 0,01 à 1 M, de acordo com os resultados obtidos as menores concentrações exibem menor atividade antibacteriana, isso pode ser devido à possível presença de menos íons Zn^{2+} (PADMAVATHY; VIJAYARAGHAVAN, 2008).

Dessa forma, pode-se notar que as maiores concentrações de NP ZnO empregues as fibras foi proporcional ao aumento da concentração das suspensões das NP ZnO de 0.06 M para 0.5 M conforme a Tabela 2. Este resultado também correlaciona-se aos parâmetros de agitação. Foi possível observar que maior velocidade está relacionada a maior massa de NP ZnO impregnada nos tecidos.

Os resultados deste experimento corroboram com Bedeloglu e colaboradores, que atribuíram uma melhora significativa da quantidade de NP ZnO incorporadas em tecidos de poliamida após o aumento da rotação (BEDELOGLU; CIN, 2019).

Neste estudo inicialmente para definição do tipo de fibra têxtil e determinação das concentrações das dispersões de NP ZnO a agitação era feita no agitador magnético por intermédio de uma barra magnética, ao qual alterávamos a rotação no equipamento e a barra magnética era responsável por manter as dispersões em agitação. De forma involuntária a barra magnética impedia que o tecido permanecesse em contato com as dispersões aquosas de NP ZnO. Além disso, essa técnica se tornou dificultosa para o controle e preparo do grande número de amostras têxteis de poliamida, um outro fator que contribuiu para que usamos o SHEKER foi a possibilidade alcançarmos maiores agitações uma vez que não era possível através da agitação magnética. Dessa forma, podemos desconsiderar o uso do agitador magnético para a impregnação das NP ZnO.

Por esse motivo, uma nova estratégia de incorporação foi considerada através da imersão dos tecidos nas dispersões de NP ZnO em tubos falcon que eram alocadas nos compartimentos do banho a seco SHEKER. O estudo comparativo em relação a velocidade demonstrou que a rotação de 1.200 rpm propiciou maior massa de incorporação das NP ZnO nas fibras de poliamida.

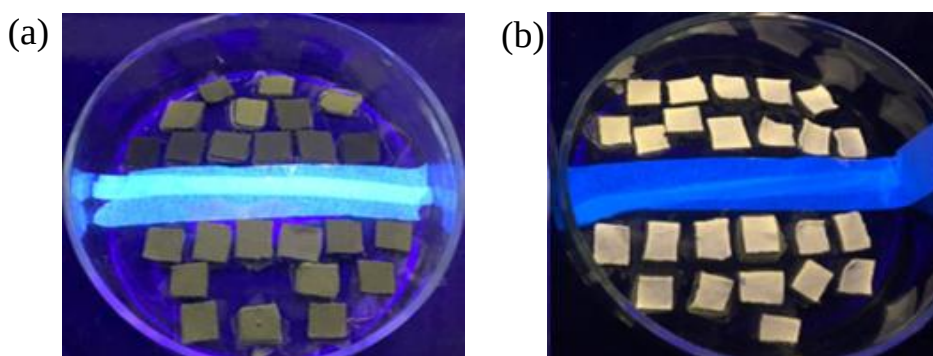
Dessa forma, sabendo que a concentração das dispersões, a velocidade e o equipamento influenciam no potencial de NP ZnO incorporadas nas fibras têxteis, determina-se que os parâmetros da técnica de incorporação das NP ZnO para todas as etapas seguintes deste projeto, sendo na concentração de 0.5 M no banho a seco SHEKER a 1.200 rpm por 30 minutos e 30 minutos em repouso.

5.6. Avaliação da incorporação das NP ZnO por luminescência

Devido a limitação de sensibilidade em relação ao potencial de massa obtido das amostras têxteis antes e após o revestimento das NP ZnO, uma análise qualitativa da presença das NP ZnO nos tecidos foi realizada. Essa análise do recobrimento da superfície dos tecidos contendo NP ZnO foi possível graças as propriedades fotoluminescentes das nanopartículas. O efeito da luminescência das NP ZnO podem ser estimulados sob excitação UV (GUIDELLI; BAFFA; CLARKE, 2015).

A Figura 12 (a) representa os têxteis de poliamida preto e a Figura 12 (b) têxteis de poliamida purgado ambos na cabine escura excitados em uma lâmpada UV à 360 nm após a incorporação das NP ZnO sintetizadas por 1 hora de reação pela técnica de imersão em banho a seco no SHEKER.

Figura 12: Tecidos de poliamida preto (a) e purgado (b) após o tratamento com NP_ZnO_1HR excitados à 360 nm.



Podemos observar pela Figura 12 a presença de luminescência verde em todos os tecidos analisados. Vanheusden e colaboradores atribuíram com base nas observações de um estudo realizado que, a fotoluminescência verde do ZnO ocorre devido a recombinação de elétrons em vacâncias de oxigênio (VANHEUSDEN *et al.*, 2011).

Van e colaboradores relatam que a eficiência da luminescência das partículas semicondutoras coloidais é influenciada pelo tamanho. Segundo os autores a eficiência quântica de luminescência das nanopartículas aumenta com a diminuição do tamanho (VAN DIJKEN; MAKKINJE; MEIJERINK, 2001).

O tamanho é um fator crucial para as propriedades fotoluminescente, visto que PQ (1-10 nm) obtêm propriedades que são dependentes do seu tamanho, caracterizados principalmente por espectros de absorção, além de, ótimas propriedades de fotoestabilidade e rendimento quântico de até 90 % (TERESHCHENKO *et al.*, 2016).

Sendo assim a fotoluminescência é um método simples e adequado para a caracterização da superfície de amostras (TERESHCHENKO *et al.*, 2016).

Com isso, podemos observar que a superfície dos tecidos foram recobertos com sucesso pela impregnação das NP ZnO.

5.7. Lavagem das amostras têxteis após o tratamento com as NP ZnO

Após a definição do tipo de tecido, método de incorporação e parâmetros para a impregnação das NP ZnO nos têxteis, as amostras foram submetidas a 10 ciclos de lavagens domésticas incluindo secagem e centrifugação.

A massa total das amostras têxteis foi obtida após a incorporação das NP ZnO sintetizadas em diferentes tempos de reação, essa massa foi comparada ao final dos processos de lavagens, de acordo com a Tabela 7.

Previamente o intuito era avaliar a perda de NP ZnO durante o processo de higienização.

De acordo com os dados dispostos é possível observar uma diferença significativa entre a massa dos tecidos contendo NP ZnO antes e após as lavagens. Entretanto, não podemos afirmar que diferença de massa refere-se diretamente ou somente à perda de carga inorgânica ou seja das NP, uma vez que, durante a lavagem dos tecidos há desgaste da fibra e desprendimento do excesso de NP ZnO presentes na superfície das fibras têxteis (SHAHEEN *et al.*, 2016).

Tabela 7: Massa total dos tecidos após a incorporação das NP ZnO sem lavar e dos tecidos lavados após 10 lavagens.

Concentração	NP_ZnO	NP_ZnO_	NP_ZnO_	NP_ZnO_	NP_ZnO_	NP_ZnO_
0.5 M	_1HR_A	1HR_S/A	3HR_A	3HR_S/A	24HR_A	24_S/A
Antes das Lavagens	38.23 mg	31.01 mg	30.2 mg	29.56 mg	32.36 mg	29.56 mg
Após lavagens	21.97 mg	17.86 mg	17.40 mg	16.72 mg	18.53 mg	16.78 mg

De acordo com o estudo de Shaheen e colaboradores a diminuição da massa pode correlacionar-se ao desprendimento das partículas que estejam aglomeradas na superfície, essas partículas podem ser removidas com maior facilidade por estarem adsorvidas na superfície externa, enquanto que as NP ZnO menores estão aderidas fortemente ao interior da fibra. Além disso, durante a lavagem ocorre o desgaste físico das fibras que também é responsável por ocasionar a diminuição de massa (SHAHEEN *et al.*, 2016).

O diâmetro das NP ZnO é um fator muito importante para garantir maior e melhor fixação das NP ZnO sobre as fibras têxteis. É possível atribuir que quanto maior o tamanho das nanopartículas, menor será a aderência no tecido, sendo assim, as NP ZnO maiores serão removidas do tecido com maior facilidade durante os ciclos de lavagem, enquanto as NP ZnO com menor diâmetro ficam aderidas fortemente além de penetrarem nas profundidades dos tecidos (ROY *et al.*, 2020).

5.8. Difração de raios X – DRX das fibras têxteis após o tratamento com as NP ZnO

A análise de difração de raios X foi realizada para as fibras de poliamida amaciada e sem amaciar após o tratamento com as NP ZnO sintetizadas em diferentes tempos de reação. A

avaliação do emprego das nanopartículas nas fibras têxteis ocorreu em comparação com as amostras controle (sem NP ZnO) e com os picos já obtidos referentes a estrutura hexagonal wurtzita das NP ZnO evidenciadas anteriormente no item 5.2.

A Figura 13 representa os difratogramas dos tecidos de poliamida preto sem amaciante e a Figura 14 representa os difratogramas dos tecidos de poliamida preto amaciados, ambas as amostras têxteis (A e S/A) foram submetidas a análise de raios X após o tratamento com as NP_ZnO_1HR, NP_ZnO_3HR e NP_ZnO_24HR.

Picos característicos da natureza cristalina das NP ZnO demonstrados pelos difratogramas das NP ZnO anteriormente estimam a presença do ZnO nos têxteis.

Figura 13. Difratograma de raios X das amostras de tecidos de poliamida S/A após o tratamento com as NP ZnO sintetizadas em diferentes tempos de reação.

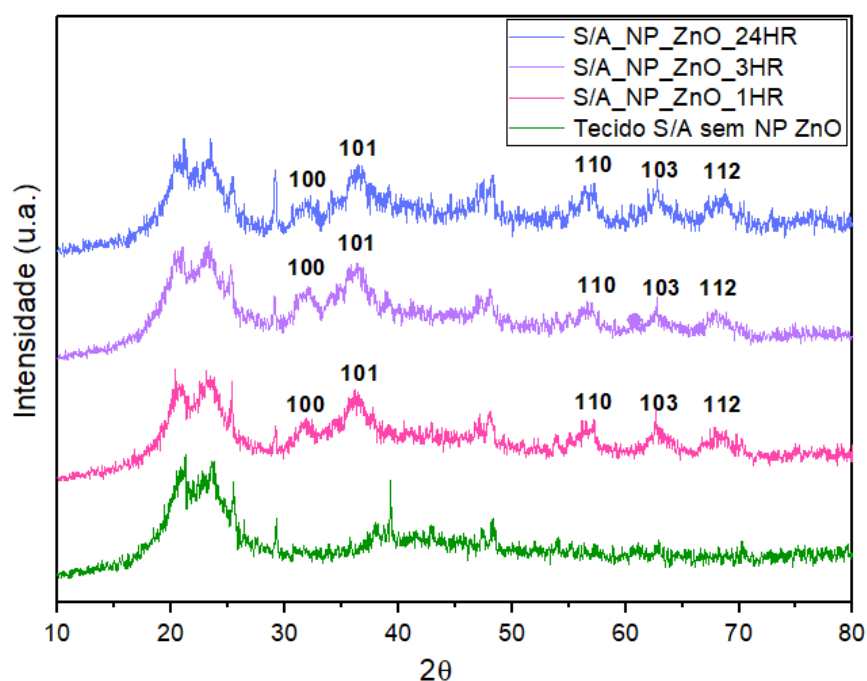
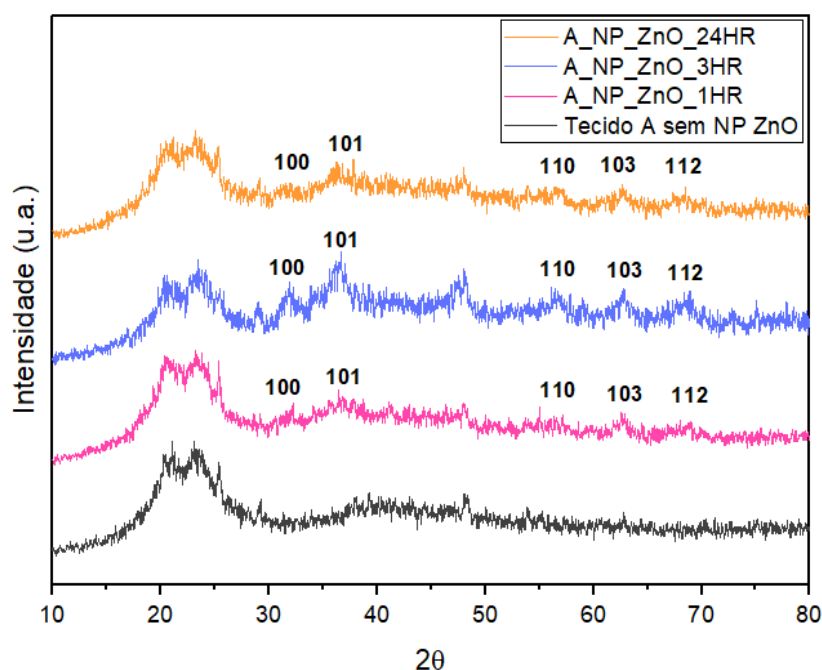


Figura 14: Difratoograma de raios X das amostras de tecidos de poliamida A após o tratamento com as NP ZnO sintetizadas em diferentes tempos de reação.



Todas as amostras de tecidos de poliamida avaliadas nas figuras 13 e 14 apresentam picos de difração característicos aos planos (100), (101), (110), (103) e (112) das partículas na fase hexagonal wurtzita do ZnO. Esses picos estão ausentes na amostra controle de poliamida (JANAKI; SAILATHA; GUNASEKARAN, 2015).

Dhandapani e colaboradores atribuíram menor intensidade dos picos referentes a estrutura hexagonal do ZnO em têxteis de algodão contendo NP ZnO, no entanto, obtiveram picos próximos a $31,77^\circ$ e $36,25^\circ$ referente aos planos (100) e (101) da estrutura hexagonal do ZnO, ambos os picos não foram evidenciados para o tecido de algodão sem revestimento de ZnO (DHANDAPANI *et al.*, 2014). Entretanto, diferenças na intensidade dos picos de difração podem acontecer em função de diferentes fatores como concentração, direção de crescimento preferencial das fases, presença de impurezas e ainda detalhes experimentais. Dessa forma, não é possível comparar mudanças na intensidade dos picos e correlacioná-las à quantidade de NP ZnO presente nos tecidos. Entretanto, os DRX analisados evidenciam a presença das NP ZnO nos diferentes tecidos avaliados.

Tobola e colaboradores, obtiveram picos semelhantes aos obtidos neste trabalho em tecidos de poliamida após a incorporação de NP ZnO (FIEDOT-TOBOŁA *et al.*, 2018).

Ainda em relação aos difratogramas obtidos podemos ressaltar a presença de dois picos fortes situados em 2θ próximos a $20,4^\circ$ e $23,4^\circ$ atribuídos à estrutura da poliamida, uma vez que

os tecidos sem revestimento possuem esses picos, que permanecem após o revestimento (FRUNZA *et al.*, 2013).

5.9. Espectroscopia vibracional na região do infravermelho transformada de Fourier– FTIR das fibras têxteis após o tratamento com as NP ZnO

Os espectros vibracionais dos tecidos de poliamida após o revestimento das NP ZnO foram realizados para investigar os principais grupos funcionais do material após a incorporação em relação ao tecido controle ou seja o tecido sem tratamento das NP ZnO. As análises foram realizadas em tecidos de poliamida contendo NP_ZnO_1HR, NP_ZnO_3HR e NP_ZnO_24HR, além disso, os tecidos com amaciante e sem amaciante sem NP ZnO foram investigados, como controle.

A Figura 15 e a Figura 16 apresentam os espectros vibracionais na região do infravermelho dos tecidos de poliamida preto sem e com amaciante, respectivamente, após a incorporação das NP ZnO sintetizadas em diferentes tempos de reação.

Figura 15: Espectro vibracional na região do infravermelho dos tecidos de poliamida S/A após o revestimento com NP ZnO sintetizadas em diferentes tempos de reação.

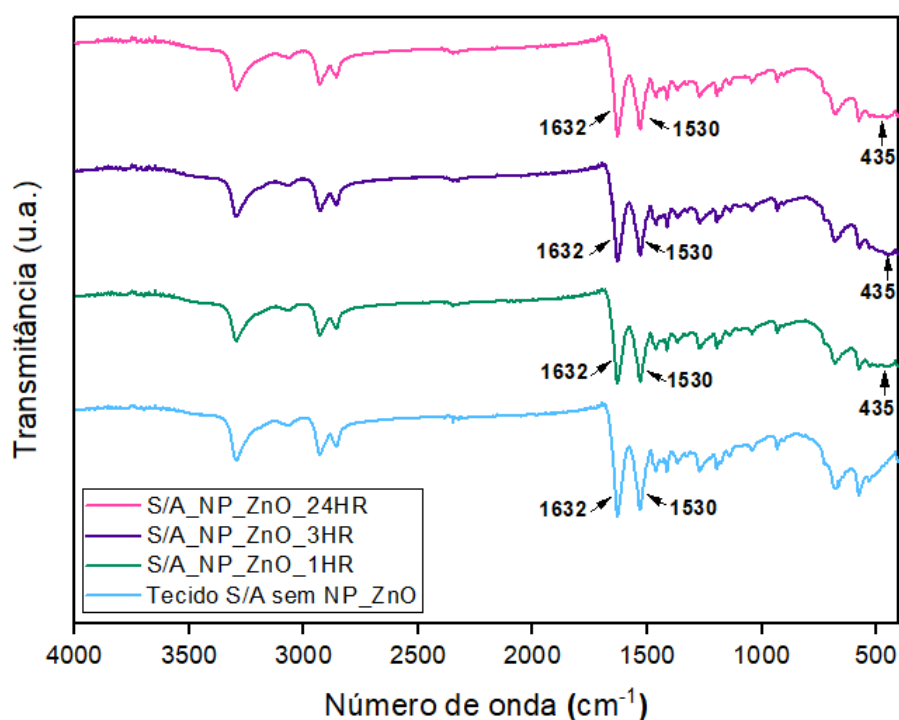
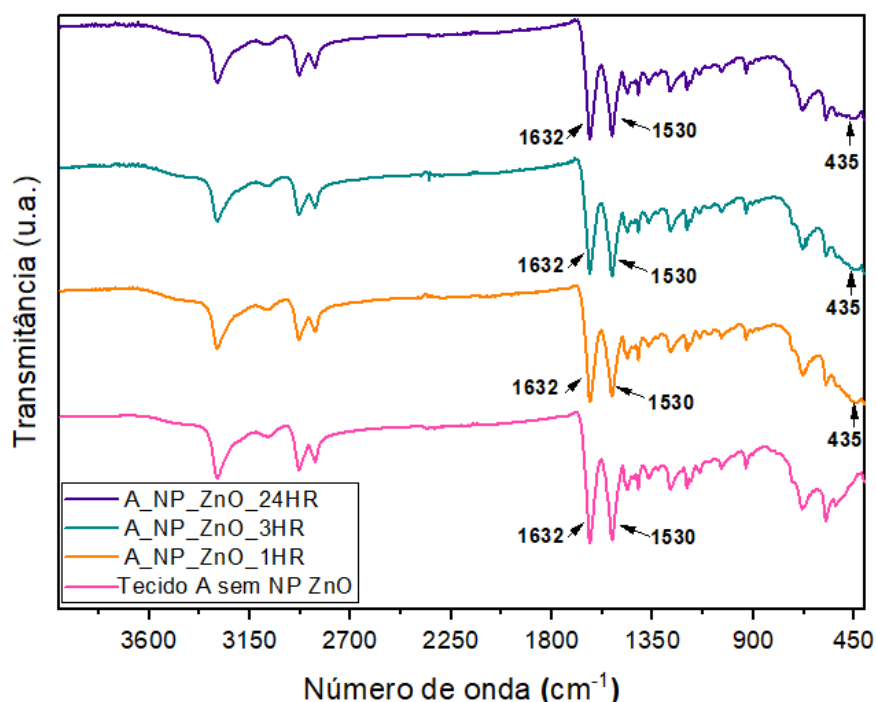


Figura 16: Espectro vibracional na região do infravermelho dos tecidos de poliamida A após o revestimento com NP ZnO sintetizadas em diferentes tempos de reação.



As amostras foram analisadas individualmente e as mesmas bandas foram encontradas em todas as amostras com ou sem amaciante, por se tratarem do mesmo tecido de Poliamida, assim podemos sugerir que o amaciante não ocasionou mudança nos principais grupos funcionais dos tecidos. A atribuição dos principais modos vibracionais do tecido de poliamida com amaciante (A) e sem amaciante (S/A) contendo NP ZnO são demonstrados na Tabela 8.

Tabela 8: Comprimento de onda e modos vibracionais dos tecidos de poliamida amaciados e sem amaciar antes e após o tratamento com as NP ZnO sintetizadas em diferentes tempos de reação.

Comprimento de onda cm ⁻¹	Modos Vibracionais
435	Zn-O
1530	N-H amida secundária
1632	C=O de amidas
2857	C-H alifáticos
2929	C-H alifáticos (CH ₃ , CH ₂)
3302	O-H associado
3445	-OH

Pode se observar bandas de forte intensidade nos tecidos de poliamida exibidos em 1530 cm^{-1} N-H de amida secundária (amida I) e em 1632 cm^{-1} de C=O de amidas (amida II). Os dados corroboram com estudos da literatura que atribuíram intensidades semelhantes para tecidos de poliamida (RIBEIRO *et al.*, 2019; TANG *et al.*, 2020). A banda em 2929 cm^{-1} e 2857 cm^{-1} são atribuídas a vibração de alongamento assimétrico e simétrico CH_2 , respectivamente (ZILLE *et al.*, 2015).

A banda larga próximo a 3302 cm^{-1} pode ser atribuída às vibrações de alongamento O-H. A intensidade desta banda pode variar de acordo com a concentração, e pode estar correlacionada aos grupos hidroxilas na superfície do ZnO e/ou das moléculas de água adsorvidas na amostra (GOWRI *et al.*, 2010).

É possível observar uma banda em aproximadamente 435 cm^{-1} , que pode ser atribuída à ligações Zn-O (BECHERI *et al.*, 2008; SAHA *et al.*, 2018; WANG, C. *et al.*, 2016).

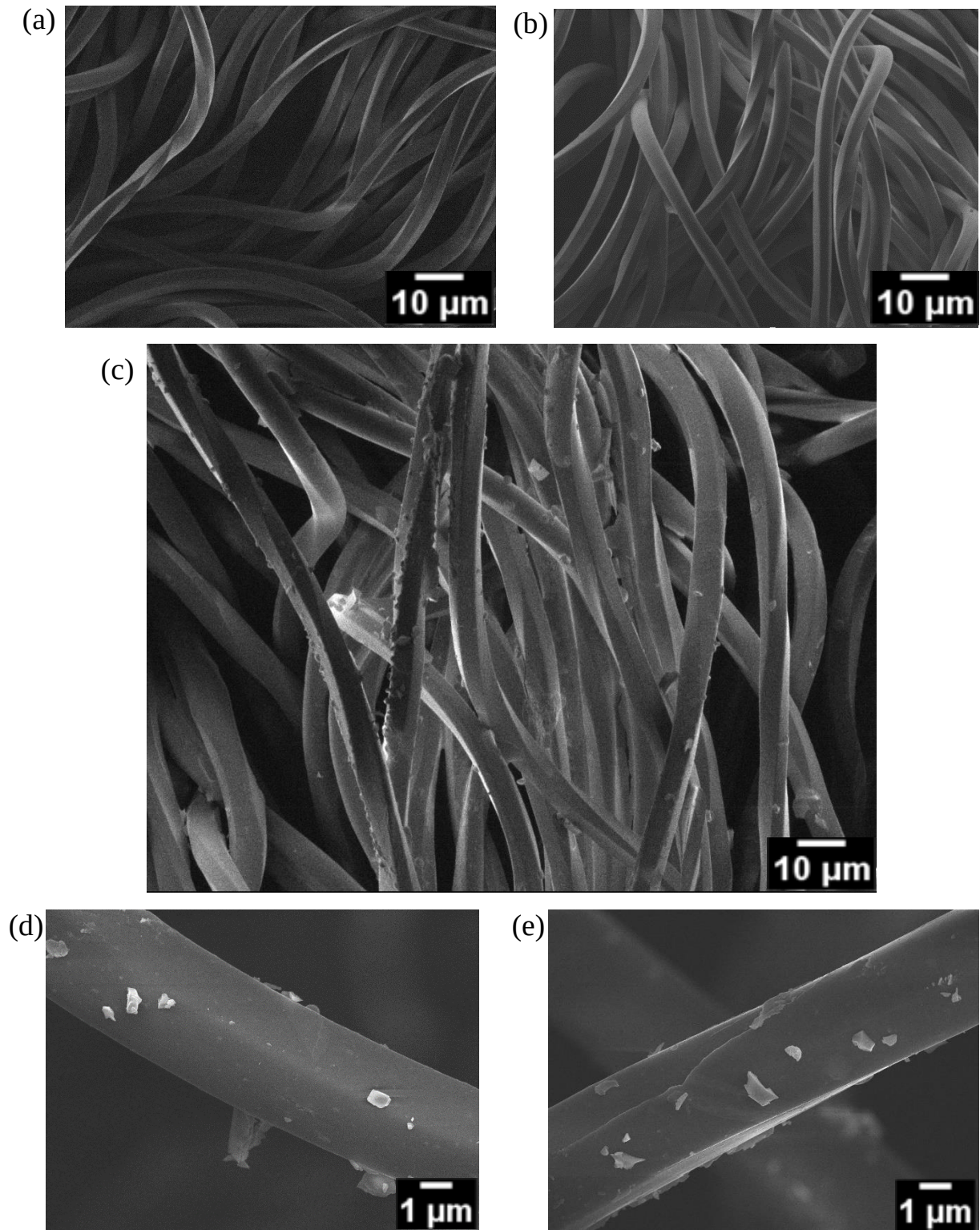
Dessa forma, a presença dessa banda de absorção em 435 cm^{-1} sugere a presença das NP ZnO nos tecidos de poliamida, uma vez que estas bandas estão ausentes no espectros de infravermelho dos tecidos controles.

5.10. Microscopia eletrônica de varredura – MEV das fibras têxteis após o tratamento com NP ZnO

A morfologia dos tecidos de poliamida amaciado e sem amaciar não revestidos e revestidos com NP ZnO foi investigado por MEV e estão ilustrados na Figura 17. As imagens (a) e (b) referem-se aos tecidos de poliamida amaciados (A) e sem amaciar (S/A), respectivamente, ambos sem NP ZnO. Estas micrografias foram obtidas em baixa ampliação com objetivo de visualizar a superfície original da fibra de poliamida.

A imagem (c) da Figura 17 representa o tecido de poliamida amaciado após o tratamento com as NP_ZnO_1HR. A imagem (d) e (e) da Figura 17 ilustra os tecidos de poliamida amaciado e sem amaciar após o revestimento com NP_ZnO_1HR, respectivamente, as imagens foram obtidas na intenção de visualizar a distribuição e presença das partículas sob a fibra têxtil.

Figura 17: Microscopias obtidas por MEV das fibras têxteis de poliamida amaciada (a) e sem amaciar (b) antes da incorporação das NP_ZnO_1HR. As microscopias dos tecidos de poliamida amaciada contendo NP_ZnO_1HR é apresentada na imagem (c). As imagem (d) e (e) são para tecidos amaciados e sem amaciar após tratamento com NP_ZnO_1HR, respectivamente.



As imagens de MEV para os tecidos controles demonstraram a superfície lisa e sem presença de partículas ou aglomerados. As imagens de tecidos revestidos com NP ZnO demonstram a presença de pequenas quantidades de materiais depositados sob a superfície das fibras.

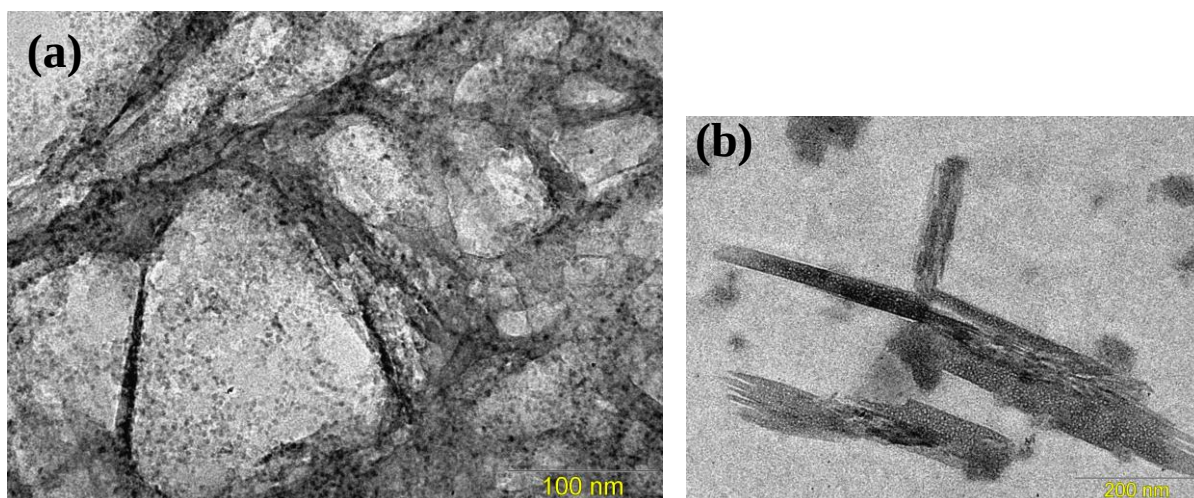
De acordo com o tamanho das partículas presentes na superfície das fibras, podemos sugerir que sejam aglomerados das NP ZnO. Essa atribuição está de acordo com a literatura científica. Patil e colaboradores através das micrografias ampliadas de MEV, visualizaram a deposição de partículas e aglomerados de ZnO nos tecidos de algodão (PATIL *et al.*, 2021).

El-naggar e colaboradores obtiveram micrografias de MEV que demonstraram a superfície lisa dos tecidos de algodão antes do tratamento com as NP ZnO, após o tratamento foi observado um revestimento irregular e aglomerado das NP ZnO, este fato foi atribuído a ausência do estabilizador que mantém o menor diâmetro das nanopartículas (EL-NAGGAR; SHAARAWY; HEBEISH, 2018).

5.11. Microscopia eletrônica de transmissão – MET das fibras têxteis após o tratamento com as NP ZnO

El-Nahhal e colaboradores obtiveram imagens de TEM para fibras têxteis de algodão contendo NP ZnO (EL-NAHHAL *et al.*, 2020). Através dos relatos de uso desta técnica na caracterização de têxteis com base neste trabalho acima citado, os tecidos obtidos neste trabalho foram também analisados por MET. A Figura 18 apresenta a microscopia dos tecidos após (a) e antes (b) do revestimento com NP_ZnO_1HR.

Figura 18: A imagem (a) ilustra a micrografia de MET para os tecidos de poliamida tratados com NP_ZnO_1HR e imagem (b) ilustra o tecido de poliamida controle ou seja sem tratamento de NP ZnO



De acordo com a imagem (a) da Figura 18 para a amostra de poliamida tratada com NP ZnO é possível observar a deposição das nanopartículas ao fundo da imagem (fase clara), a visualização das partículas se torna dificultosa uma vez que a presença das fibras têxteis (fase escura) está na superfície impossibilitando a observação adequada das NP ZnO, entretanto, ainda assim é possível observar as partículas nas fibras têxteis além de visualiza-las depositadas ao fundo.

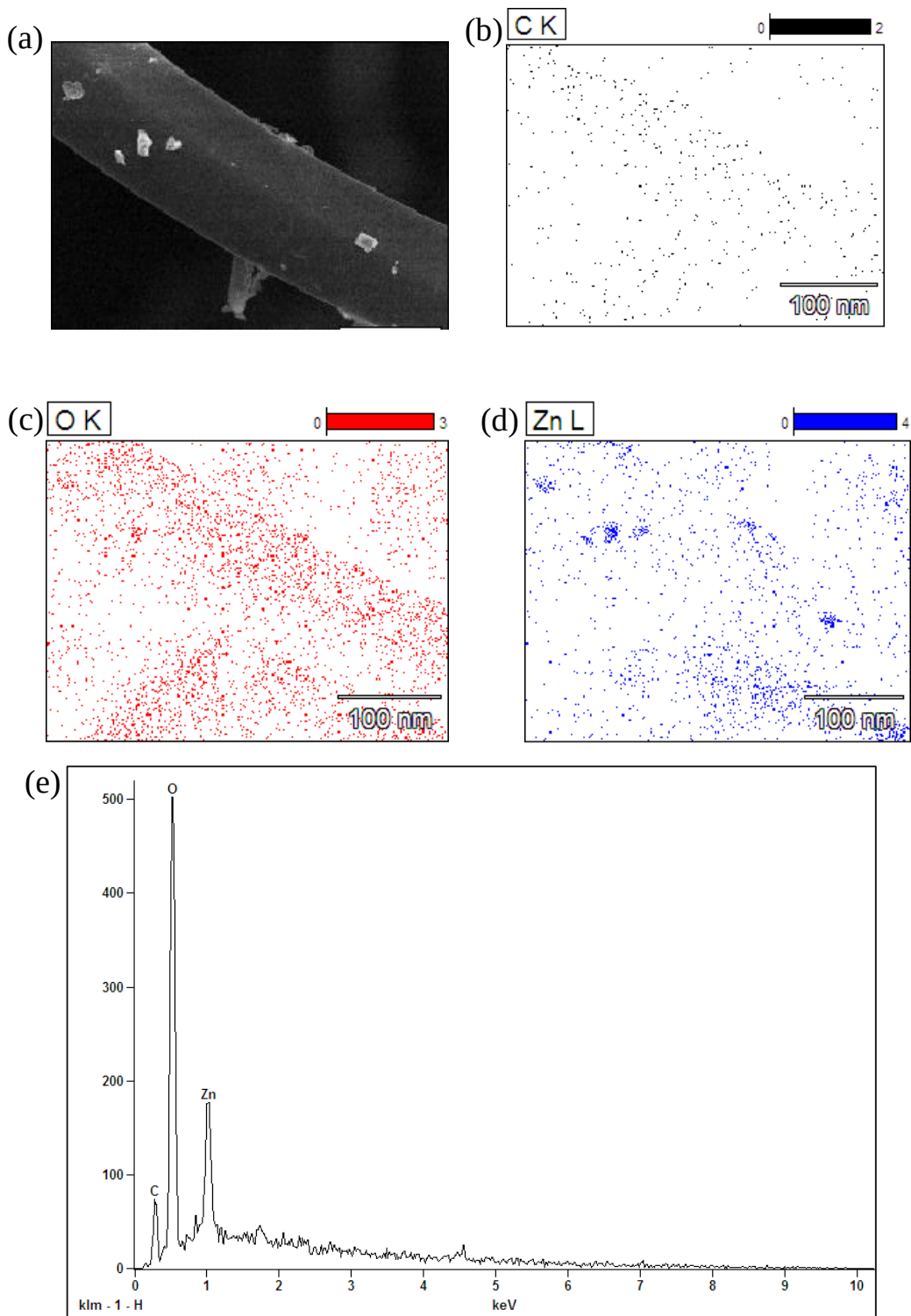
A imagem (b) referente a fibra controle evidencia um fundo límpido e sem presença de partículas ou aglomerados, fato este que, que sugere a impregnação das NP ZnO nas fibras de poliamida conforme evidenciado na imagem (a).

5.12. Espectroscopia de raios X por dispersão de energia – EDS das fibras têxteis após o tratamento com as NP ZnO

A composição química da superfície das fibras têxteis foram determinadas pela técnica analítica elementar fornecida pelo EDS. A amostra é excitada por um feixe de elétrons, a energia recebida é suficiente para causar uma excitação nos elétrons, conseqüentemente terá mudança de nível energético. Nesta mudança haverá liberação de energia que será considerada pelo detector. Assim, conforme a sonda de elétrons percorre a amostra, raios X característicos são emitidos e medidos pelo detector. Os picos indicam a concentração e o elemento químico de acordo com a intensidade.

A Figura 19 (a) ilustra o tecido de poliamida amaciado após o revestimento com as NP_ZnO_1HR, através da análise de EDS foi possível observar a presença do elemento zinco ilustrado na imagem (b), o oxigênio na imagem (c) e o carbono (d). O gráfico da imagem (e) demonstra os elementos presentes na amostra. De acordo com Hassabo et al. a concentração dos elementos ocorre conforme a intensidade dos picos (HASSABO, *et al.*, 2019).

Figura 19: A imagem (a) ilustra as espectroscopias de raios X por dispersão de luz do tecido de poliamida amaciado após o tratamento com NP_ZnO_1HR, de acordo com o mapeamento por dispersão de energia os elementos encontrados foram zinco, oxigênio e carbono e podem ser visualizados nas imagens (b), (c) e (d), respectivamente. A imagem (e) representa os picos de acordo com a intensidade de cada elemento.



Os dados obtidos pela análise de EDS confirmam a deposição das NP ZnO sob a superfície das fibras têxteis de poliamida. Zohoori e colaboradores também empregaram está

técnica analítica para caracterização de tecidos de poliamida após tratamento com ZnO, TiO₂, SrTiO₂. Dessa forma, a presença dos elementos confirmaram o revestimento das fibras de poliamida pelas nanopartículas (ZOHOORI; KARIMI; AYAZIYAZDI, 2013).

De acordo com a análise elementar, zinco, oxigênio e carbono foram os principais elementos encontrados nos tecidos após o revestimento com as NP ZnO, este resultado corrobora com os resultados encontrados por Borda d'Água após síntese *in situ* das NP ZnO em tecidos de algodão (BORDA D'ÁGUA *et al.*, 2018).

Os elementos como C e O são normais da fibra e estiveram presentes para as análises de EDS das fibras de poliamida controle enquanto que esses elementos também estão presentes nas amostras tratadas concomitantemente com a presença significativa do elemento Zn. A presença do óxido metálico sugere que as NP ZnO foram depositadas na fibra têxtil de poliamida com sucesso.

Além disso, o mapeamento dos elementos demonstrados na Figura 19 (b), (c), (d), demonstram a distribuição uniforme do ZnO na superfície da fibra e também no interior, dentre as fibras.

5.13. Concentração inibitória mínima (MIC), Concentração bactericida mínima (CBM) e Concentração fungicida mínima (CFM)

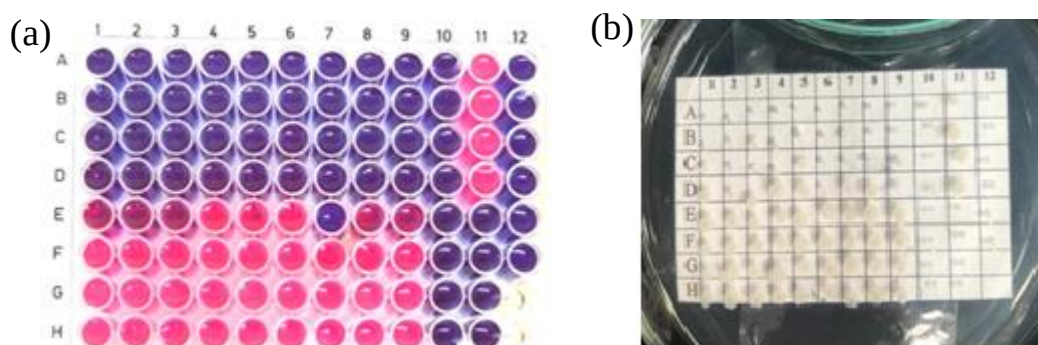
Para avaliar a atividade antimicrobiana das NP ZnO foi realizado duas metodologias. A primeira metodologia trata-se da determinação da menor concentração capaz de impedir o crescimento de bactérias e fungos, chamada de concentração inibitória mínima (CIM). A segunda envolve a determinação da concentração mínima capaz de eliminar as bactérias, chamada de concentração bactericida mínima para bactérias (CBM) e concentração fungicida mínima para fungos (CFM). Concentrações que inibem o crescimento dos microrganismos mas não causam a morte são consideradas bacteriostáticas (MIRHOSSEINI *et al.*, 2019; PADMAVATHY; VIJAYARAGHAVAN, 2008).

A Figura 20 (a) ilustra a microplaca de 96 após a adição do corante resazurina para determinação da CIM, a coloração azul é representativa da ausência de microrganismos e a coloração rosa representa o crescimento microbiano.

A Figura 20 (b) ilustra o crescimento ou ausência de crescimento das colônias bacterianas na placa de Petri contendo ágar solidificado, para determinação da CBM frente a bactérias ou a CFM frente a levedura. O crescimento de colônias indica a concentração bacteriostática de NP ZnO, ou seja, indica a concentração que conteve o crescimento. A inibição do crescimento celular foi observado na ausência de colônias indicando a

concentração bactericida das dispersão de NP ZnO. A concentração bactericida é capaz de destruir os microrganismos levando a morte celular. Os experimentos ilustrados na Figura (a) e (b) foram realizados frente a cepa *E. coli*.

Figura 20: Microplaca de 96 poços após a adição da resazurina (a) e crescimento ou ausência do crescimento de colônias bacterianas de *E. coli* em placa de Petri com ágar solidificado para a determinação da CBM e CFM (b).



Os testes foram realizados com suspensões de NP ZnO sintetizadas em diferentes tempos de reação sendo 1 HR, 3 HR e 24 HR, o intuito foi avaliar se os tempos de reação eram capazes de influenciar a atividade antibacteriana. O pH das suspensões foi mantido em uma escala de 7 a 7,5. O ajuste do pH foi com ácido acético glacial.

O pH pode influenciar a atividade antibacteriana, uma vez que, pH muito ácido ou muito alcalino reduz o crescimento celular. Para garantir a credibilidade do resultado sem prejudicar o crescimento dependente do pH, mantivemos em uma faixa de 6 a 8, que é considerado ideal para teste microbiológico (PADMAVATHY; VIJAYARAGHAVAN, 2008; SALIANI; JALAL; GOHARSHADI, 2015).

A realização dos testes para a determinação da CIM das NP ZnO frente a cepas bacterianas e levedura, assim como, CBM frente as bactérias e CFM frente a levedura foram realizadas em triplicata e dias alternados. Os valores descritos para ambas as células representam a média das triplicatas. Na Tabela 9 estão descritos os resultados da CIM e CBM frente a cepas bacterianas *S. aureus*.

Tabela 9: Valores de CIM e CBM das NP ZnO sintetizadas em diferentes tempos de reação frente a cepa *S. aureus*.

Amostras	CIM	CBM
NP_ZnO_1HR_pH7	0,1822 mg/mL	bactericida (0,2083 mg/mL)
NP_ZnO_3HR_pH7	0,1562 mg/mL	bactericida (0,2083 mg/mL)
NP_ZnO_24HR_pH7	0,1562 mg/mL	bactericida (0,1822 mg/mL)
Ampicilina	0,012 mg/mL	bactericida (0,024 mg/mL)

A partir da metodologia CIM e CBM realizada para a cepa de *S. aureus* foi possível observar que a amostra NP_ZnO_24HR apresentou uma menor concentração capaz de inibir os microrganismos.

Os resultados obtidos para as amostras de NP_ZnO_1HR, NP_ZnO_3HR e NP_ZnO_24HR foram submetidas a análise de variância pelo ANOVA. Dessa maneira, os diferentes tempos de reação não apresentaram diferença estatística significativa entre si, com valor de $p \geq 0,05$.

No estudo de Lallo da Silva e colaboradores as concentrações determinadas foram semelhantes uma vez que o método de síntese o tamanho das nanopartículas também são semelhantes (LALLO DA SILVA; CAETANO; *et al.*, 2019). Por outro lado, Aleaghil e colaboradores realizaram um estudo para determinação da CIM de NP ZnO com diâmetro de 10-30 nm em cepas de *S. aureus* partindo de uma suspensão de 5 mg/mL. A menor concentração capaz de inibir o crescimento microbiano foi 0,625 mg/mL (ALEAGHIL *et al.*, 2016). Yu *et al.* determinaram maiores concentrações de NP ZnO para inibição do crescimento de bactérias Gram-positivas, o estudo utilizou NP ZnO comercial com diâmetro de 20-80 nm. A CIM para as cepas de *S. aureus* foi de 0,312 mg/mL e a CBM foi 1.250 mg/mL (YU *et al.*, 2015).

Desta forma, os resultados obtidos neste trabalho são considerados mais eficazes que os encontrados na literatura científica para nanopartículas de ZnO não dopadas, o que pode ser explicado pelas diferenças nos métodos de síntese e no tamanho das nanopartículas (LALLO DA SILVA *et al.*, 2019).

De acordo com Krol *et al.* é crucial controlar o tamanho da nanopartícula para garantir uma atividade antimicrobiana promissora, sendo assim as NP ZnO de menor tamanho são mais eficientes (KRÓL *et al.*, 2017). Quanto menor o tamanho da partícula, maior será a interação interfacial entre a nanopartícula e a bactéria (MCGUFFIE *et al.*, 2015),

consequentemente ocorrendo uma maior internalização das NP ZnO nas células bacterianas que modificaram as suas funções levando a morte celular (VERMA et al., 2017).

Lima e colaboradores sintetizaram NP ZnO e NP ZnO dopadas com cobalto, ambas foram avaliadas em testes de microdiluição para determinação da CIM e obtiveram a mesma concentração inibitória mínima de 0,125 mg/mL, os valores encontrados para as cepas de *S. aureus* são semelhantes ao encontrado neste trabalho, a CBM foi aproximadamente 2 mg/mL para todas as amostras avaliadas (LIMA et al., 2014).

A determinação da CIM e CBM das NP ZnO sintetizadas em diferentes tempos de reação também foi realizada frente a cepa *E. coli* estão descritos na Tabela 10.

Tabela 10: Valores de CIM e CBM das NP ZnO sintetizadas em diferentes tempos de reação frente a cepa *E. coli*.

Amostras	CIM	CBM
NP_ZnO_1HR_pH7	0,2604 mg/mL	bactericida (0,2604 mg/mL)
NP_ZnO_3HR_pH7	0,2083 mg/mL	bactericida (0,2604 mg/mL)
NP_ZnO_24HR_pH7	0,1822 mg/mL	bactericida (0,2083 mg/mL)
Ampicilina	0,024 mg/mL	bactericida (0,024 mg/mL)

É possível notar que foram necessárias maiores concentrações para a inibição da bactéria Gram-negativa quando comparados a Gram-positiva.

A atividade antibacteriana das NP ZnO foram analisadas em diferentes tempos de reação sendo 1 HR, 3 HR e 24 HR. A partir do teste de diluição foi possível determinar a CIM, dessa forma, os resultados obtidos foram submetidos a análise de variância ANOVA e o valor foi $p \geq 0,05$, isto representa que não há diferença estatística significantes entre ambas, embora a CIM seja menor para a amostra NP_ZnO_24HR.

Há uma concordância dos valores da CIM obtidos nesta pesquisa com os resultados encontrados por Lallo e colaboradores, pois o potencial bactericida das NP ZnO foi melhor para cepa Gram-positiva do que para cepa Gram-negativa (LALLO DA SILVA; CAETANO; et al., 2019).

Alguns autores reportam uma melhor atividade de NP ZnO para bactérias Gram-positiva quando comparadas as Gram-negativas (ISMAIL et al., 2019; NAVALE et al., 2015). Um estudo realizado por Zegaoui et al. demonstrou valores da CIM e CBM aproximadamente três

vezes maior para bactéria Gram-negativa (*E. coli*) em relação a cepa Gram-positiva (*S. aureus*) na presença das NP ZnO (ZEGAOUI; MOUKRAD; DAOU; RHAZI; LOUAZRI, *et al.* 2014).

A atividade antibacteriana das NP ZnO foi investigada também por Mirhosseini e colaboradores em diferentes concentrações contra *S. aureus* e *E. coli*. Dessa forma, pode-se observar que as nanopartículas inibiram completamente as bactérias Gram-positivas enquanto que para as bactérias Gram-negativas houve apenas uma redução de aproximadamente 80 % (MAHBOUBEH; FIROUZABADI, 2013).

Uma hipótese sugerida para menor atividade antibacteriana das NP ZnO em bactérias Gram-negativas está associada a membrana externa das bactérias, lipopolissacarídeo (LPS), porinas e fragmentos de peptidoglicano. Além disso, foi proposto que há maior interação das NP ZnO com alguns constituintes específicos, esses compostos estão presentes em maior quantidade nas bactérias Gram-positivas e atuam como agentes quelantes promovendo aderência das nanopartículas na superfície da parede celular bacteriana (TAYEL *et al.*, 2011). Enquanto as bactérias Gram-positivas promovem a fixação das NP ZnO as bactérias Gram-negativas se opõe a esta ligação (PASQUET *et al.*, 2014).

As bactérias Gram-positivas possuem naturalmente mais 80 % da parede celular composta por peptidoglicano enquanto as bactérias Gram-negativas possuem paredes mais complexas, o peptidoglicano corresponde a 10 % da parede celular, entretanto a membrana externa possui o equivalente a 50 % de LPS, 35 % dos fosfolipídeos e 15 % das lipoproteínas, essa superioridade de elementos presentes nas bactérias Gram-negativas são responsáveis pelos efeitos destrutivos das NP ZnO, causando maior resistência contra os agentes antimicrobianos (LI, X. *et al.*, 2009; NEZAMABADI *et al.*, 2020). As bactérias Gram-negativas a partir do lipopolissacarídeos, proteínas e carboidratos presentes em sua parede oferecem mecanismos de resistência aos agentes antimicrobianos (KAUSHIK *et al.*, 2019).

Foram realizados também a determinação da CIM e da CFM das NP ZnO para cepa fúngica *C. albicans* e os valores determinados estão listados na Tabela 11. Diferentemente das bactérias, maiores concentrações foram obtidas para inibição do crescimento. As amostra de NP ZnO em diferentes tempos de reação demonstraram a mesma CIM e CFM revelando que o tempo de reação não interfere na sua atividade antifúngica.

Tabela 11: Valores de CIM e CFM das NP ZnO sintetizadas em diferentes tempos de reação frente a cepa fúngica *C. albicans*.

Amostras	CIM	CFM
NP_ZnO_1HR_pH7	0,625 mg/mL	Fungicida (0,625mg/mL)
NP_ZnO_3HR_pH7	0,625 mg/mL	Fungicida (0,625 mg/mL)
NP_ZnO_24HR_phH7	0,625 mg/mL	Fungicida (0,625 mg/mL)
Anfotericina B	0,001 mg/mL	Fungicida (0,001 mg/mL)

Yousef et al. registraram um menor efeito das NP ZnO para a atividade antifúngica avaliada frente a cepa de *C. albicans* (YOUSEF; DANIAL, 2012). Yu e colaboradores obtiveram o mesmo resultado para a inibição de *C. albicans* a partir de NP ZnO comerciais (YU et al., 2015).

Segundo um estudo, as diferenças de sensibilidade das bactérias e dos fungos à espécies reativas de oxigênio podem explicar a alta resistência dos fungos frente às nanopartículas de ZnO em comparação às bactérias (PASQUET *et al.*, 2014).

5.14. Difusão em ágar

Os tecidos de poliamida (1 cm²), impregnados com as NP ZnO sintetizadas em diferentes tempos de reação (1HR, 3HR e 24 HR) foram submetidos ao teste antimicrobiano qualitativo de difusão em ágar, frente as bactérias *S. aureus* e *E. coli* e a cepa fúngica *C. albicans*. O teste foi realizado em amostras têxteis com e sem amaciante, foram analisados tecidos tingidos (preto) e sem tingimento (purgado).

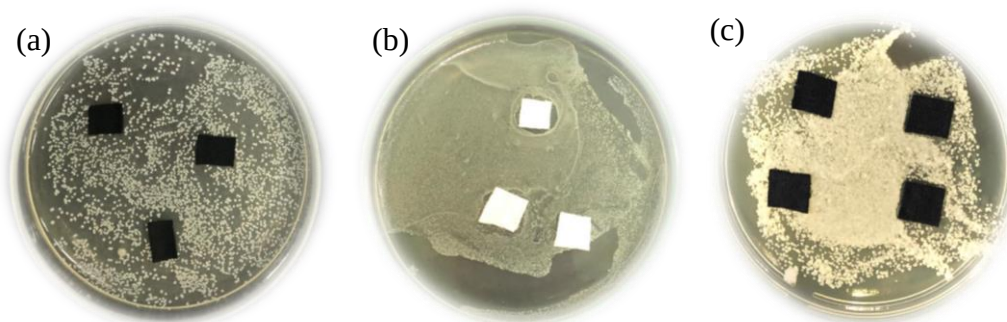
O teste de difusão em ágar foi realizado antes e após 10 e 20 lavagens para os diferentes tecidos. Todos os experimentos foram realizados em triplicata, além disso, como o intuito era avaliar o potencial antimicrobiano após as lavagens de imediato fazíamos um teste comparativo para os tecidos sem lavar produzidos no mesmo lote das fibras que passaram pelos processos de lavagens.

A definição em relação aos ciclos de lavagens corrobora com Zohoori e colaboradores. Neste estudo a determinação das propriedades de limpeza de tecidos de poliamida revestidos com NP ZnO se basearam em norma ISO, para avaliar a durabilidade da atividade do tecido até 20 lavagens (ZOHOOORI; KARIMI; AYAIZIYAZDI, 2013).

Foram realizados os controles da bactéria Gram positiva, Gram negativa e levedura para garantir a viabilidade celular e o controle dos fármacos Ampicilina e Anfotericina B para

garantir a inibição pelo fármaco de referência. Além disso, os tecidos sem nanopartículas foram avaliados não demonstrando nenhuma atividade frente aos microrganismos. A Figura 21 ilustra as placas de Petri contendo meio ágar solidificado com as amostras de tecidos preto e purgado dispostas frente a bactéria *S. aureus* e *E. coli* na imagem (a) e (b), respectivamente e levedura na imagem (c).

Figura 21: Foto das placas de Petri contendo ágar solidificado com as amostras têxteis sem NP ZnO demonstrando o crescimento celular da cepa *S. aureus* (a) *E. coli* (b) e a levedura *C. albicans* (c) e a inatividade dos tecidos sem a impregnação das nanopartículas.



As amostras de tecidos pretas e purgadas contendo NP ZnO sintetizadas por 1HR, 3 HR e 24HR continham diferentes tratamentos, para isso na Tabela 12 estão descritas as denominações utilizadas para cada tipo de tecido.

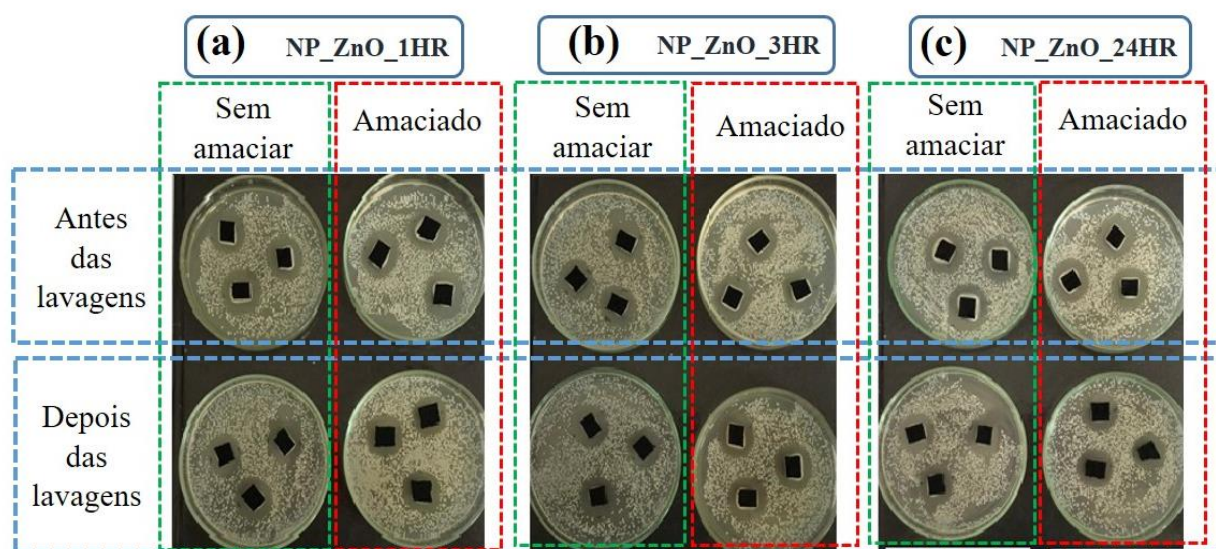
Tabela 12: Descrição dos diferentes tratamentos e tipos dos tecidos de poliamida para avaliação do potencial antimicrobiano.

Amostras	Denominações
Tecidos Amaciados	A
Tecidos Sem Amaciar	S/A
Tecidos Sem Lavar	S/L
Tecidos Lavados 10 vezes	L 10
Tecidos Lavados 20 vezes	L 20
Tecido controle S/A	S/NP-S/A
Tecido controle S	S/NP-A

A Figura 22 (a), (b) e (c) apresentam o halo de inibição formado pelas diferentes amostras têxteis (S/A e A) pretas, após o tratamento com as NP ZnO sintetizadas por 1 HR, 3 HR e 24 HR, respectivamente. A presença do halo de inibição na placa de Petri contendo ágar Muller Hinton solidificado frente a cepa *S. aureus*, indica a atividade antimicrobiana das

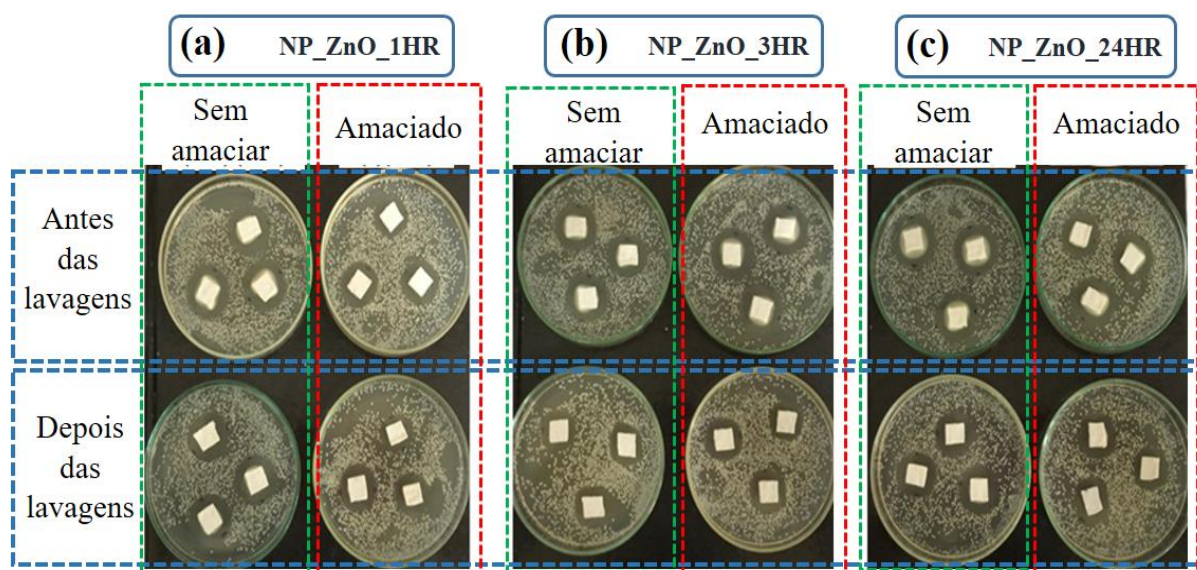
amostras antes das lavagens na parte superior das imagens (a), (b) e (c), além disso, a atividade foi mantida após 10 L pois o halo de inibição permaneceu e pode ser observado na parte inferior das respectivas imagens.

Figura 22: Foto das placas de Petri contendo as amostras têxteis pretas tratadas com NP ZnO sintetizadas em diferentes tempos de reação antes e após 10 lavagens, a atividade antibacteriana é evidenciada através da formação do halo de inibição formado pelos tecidos frente a cepa *S. aureus*.



A Figura 23 (a), (b) e (c) apresentam as placas de Petri contendo amostras de tecidos sem e com amaciante (S/A e A, respectivamente) na cor purgada após o tratamento com as NP ZnO sintetizadas em diferentes tempos de reação (1 HR, 3 HR e 24 HR), respectivamente. A formação do halo de inibição na placa de Petri contendo meio Muller Hinton solidificado frente a *S. aureus* indica o potencial bactericida das amostras antes das lavagens na parte superior das imagens (a), (b) e (c). A permanência do halo de inibição na parte inferior das imagens (a), (b) e (c) indica que o potencial bactericida permaneceu após 10 lavagens.

Figura 23: Foto das placas de Petri contendo as amostras têxteis purgadas com NP ZnO sintetizadas em diferentes tempos de reação antes e após 10 lavagens, a atividade antibacteriana é evidenciada através da formação do halo de inibição formado pelos tecidos frente a cepa *S. aureus*.



A Tabela 13 (tecidos pretos) e tabela 14 (tecido purgado) listam o valor da média e o desvio padrão do diâmetro em mm dos halos de inibição formados pelo contato dos tecidos tratados com NP ZnO sintetizadas em diferentes tempos, antes e após os processos de lavagens frente a cepa Gram-positiva *S. aureus*.

Tabela 13: Diâmetro (mm) do halo de inibição formado pelas amostras de poliamida preto após o tratamento com NP ZnO sintetizadas em diferentes tempos de reação antes e após lavagens frente a cepa bacteriana *S. aureus*.

<i>S. aureus</i>				
Tecido: Preto	Tecido Sem Lavar	10 Lavagens	Tecido Sem Lavar	20 Lavagens
NP_ZnO_1HR_A	23,33 ± 1,15	21,66 ± 1,52	21,53 ± 2	19,60 ± 1,44
NP_ZnO_3HR_A	23,66 ± 1,52	21,33 ± 1,52	23,89 ± 2,30	20,90 ± 1,8
NP_ZnO_24HR_A	25 ± 1	21,66 ± 2,30	22,30 ± 1,30	18,96 ± 1
NP_ZnO_1HR_S/A	23 ± 1	20,66 ± 1,5	23,97 ± 1,71	20,63 ± 0,68
NP_ZnO_3HR_S/A	22 ± 1	20,66 ± 0,57	22,84 ± 0,73	19,80 ± 0,99
NP_ZnO_24HR_S/A	24,66 ± 0,5	21,33 ± 1,52	22,97 ± 1,66	19,96 ± 1,78

A Figura 24 ilustra os gráficos elaborados a partir dos diâmetros dos halos de inibição formados pelas amostras têxteis pretas com os diferentes tratamentos (A e S/A, S/L, L10 e L20) frente a *S. aureus* descritos na Tabela 13 anteriormente.

Figura 24: Ilustração do diâmetro (mm) do halo de inibição formado pelas amostras de poliamida preto A e S/A frente a *S. aureus*. No gráfico o eixo y corresponde ao diâmetro do halo de inibição formado pelas amostras após a impregnação das NP ZnO, enquanto o eixo x corresponde aos diferentes tempos de reação ao qual as NP ZnO foram sintetizadas, as barras representam os tecidos antes das lavagens e após 10 e 20 lavagens.

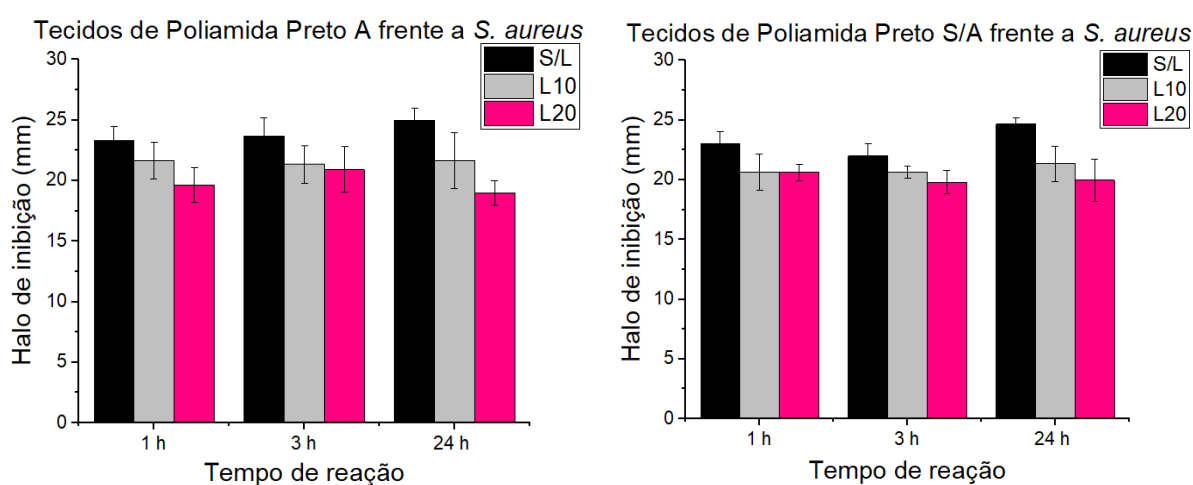
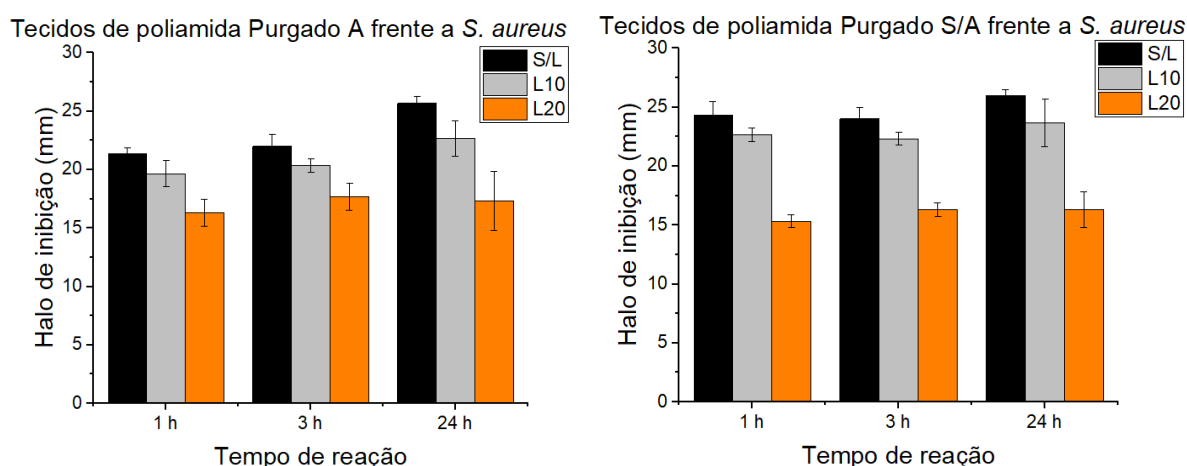


Tabela 14: Diâmetro (mm) do halo de inibição formado pelas amostras de poliamida purgado após o tratamento com NP ZnO sintetizadas em diferentes tempos de reação antes e após lavagens frente a cepa bacteriana *S. aureus*.

<i>S. aureus</i>				
Tecido: Purgado	Tecido Sem Lavar	10 Lavagens	Tecido Sem Lavar	20 Lavagens
NP_ZnO_1HR_A	21,33 ± 0,57	19,66 ± 1,15	20,33 ± 1,52	16,33 ± 1,15
NP_ZnO_3HR_A	22 ± 1	20,33 ± 0,57	21,33 ± 0,57	17,66 ± 1,15
NP_ZnO_24HR_A	25,66 ± 0,57	22,66 ± 1,52	19,33 ± 1,52	17,33 ± 2,5
NP_ZnO_1HR_S/A	24,33 ± 1,15	22,66 ± 0,57	19 ± 2	15,33 ± 0,57
NP_ZnO_3HR_S/A	24 ± 1	22,33 ± 0,57	19,66 ± 0,57	16,33 ± 0,57
NP_ZnO_24HR_S/A	26 ± 0	23,66 ± 2	18,66 ± 0,57	16,33 ± 1,52

A Figura 25 ilustra os gráficos elaborados a partir dos diâmetros dos halos de inibição formados pelas amostras têxteis purgadas com os diferentes tratamentos (A e S/A, S/L, L10 e L20) frente a *S. aureus* descritos na Tabela 14 anteriormente.

Figura 25: Ilustração do diâmetro (mm) do halo de inibição formado pelas amostras de poliamida purgada A e S/A frente a *S. aureus*. No gráfico o eixo y corresponde ao diâmetro do halo de inibição formado pelas amostras após a impregnação das NP ZnO, enquanto o eixo x corresponde aos diferentes tempos de reação ao qual as NP ZnO foram sintetizadas, as barras representam os tecidos antes das lavagens e após 10 e 20 lavagens.



Os valores individuais dos diâmetros foram submetidos à análise de variância (ANOVA) ($p \leq 0,05$). Para avaliar a influência dos tempos de reação e das lavagens na atividade antibacteriana exercida pelas amostras têxteis, para isso contamos com o software estatístico Minitab versão 17.

- Comparação do potencial antibacteriano dos tecidos tratados com NP ZnO **em relação as lavagens**, frente a cepa *S. aureus*.

As análises estatísticas demonstraram que os tecidos com amaciante (A) e sem amaciante (S/A), purgado ou preto, impregnados com as NP ZnO sintetizadas nos diferentes tempos demonstraram uma diferença no diâmetro do halo de inibição formado pelas amostras antes das lavagens em comparação com os tecidos lavados 10 e 20 vezes. De acordo com os diâmetros dos halos de inibição das amostras têxteis podemos observar que houve uma redução do diâmetro.

- Comparação do potencial antibacteriano dos tecidos tratados **em relação as NP ZnO sintetizadas em diferentes tempos de reação**, frente a cepa *S. aureus*.

As análises estatísticas foram utilizadas para definição do melhor tempo de reação.

Os testes estáticos demonstraram diferença na atividade antibacteriana dos diferentes tecidos tratados com as NP ZnO sintetizadas por 1 HR, 3 HR e 24 HR antes das lavagens. Após 10 e 20 lavagens as análises não demonstraram diferença estatística de acordo com os diâmetros dos halos de inibição obtidos para as diferentes amostras de tecidos impregnadas com as NP ZnO sintetizadas por 1HR, 3HR e 24HR.

Neste projeto buscamos a manutenção da atividade antibacteriana após as lavagens, sendo assim, após as lavagens o desempenho dos tecidos tratados com as NP ZnO sintetizadas em diferentes tempos de reação não apresentam diferença. Dessa forma, é possível considerar que a NP_ZnO_1HR é a alternativa mais promissora, uma vez que, apresenta resultados antibacterianos semelhantes aos demais tempos de reação, embora o tempo processual e custo são menores para sua produção.

Na Tabela 15 (tecidos pretos) e Tabela 16 (tecidos purgados) estão descritos os valores médios em mm e o desvio padrão dos halos de inibição obtidos dos testes em triplicata para cada amostra têxtil antes e após 10 e 20 ciclos de lavagens frente a cepa *E. coli*.

Tabela 15: Diâmetro (mm) dos halos de inibição formado pelos tecidos de poliamida preto contendo diferentes tratamento após incorporação das NP ZnO sintetizadas em diferentes tempos de reação frente a cepa *E. coli*. Os resultados apresentados representam a média dos diâmetros obtidos para a triplicata.

<i>E. coli</i>				
Tecido: Preto	Tecido Sem Lavar	10 Lavagens	Tecido Sem Lavar	20 Lavagens
NP_ZnO_1HR_A	20,35 ± 0,56	17,97 ± 0,05	25,14 ± 1,50	18,63 ± 1,4
NP_ZnO_3HR_A	20,38 ± 0,78	18,62 ± 2	24,13 ± 0,43	19,3 ± 0,73
NP_ZnO_24HR_A	22,05 ± 0,51	18,86 ± 1	23,40 ± 0,11	18,7 ± 0,37
NP_ZnO_1HR_S/A	22 ± 1,7	19,75 ± 0,54	24,54 ± 0,6	18,77 ± 0,28
NP_ZnO_3HR_S/A	22,61 ± 0,9	19,66 ± 0,57	23,13 ± 0,71	19,55 ± 1
NP_ZnO_24HR_S/A	21,7 ± 1,5	18,66 ± 0,57	24,57 ± 1,89	17,93 ± 0,83

A Figura 26 ilustra os gráficos elaborados a partir dos diâmetros dos halos de inibição formados pelas amostras têxteis pretas com os diferentes tratamentos (A e S/A, S/L, L10 e L20) frente a *E. coli* descritos na Tabela 15 anteriormente.

Figura 26: Ilustração do diâmetro (mm) do halo de inibição formado pelas amostras de poliamida preto A e S/A frente a *E. coli*. No gráfico o eixo y corresponde ao diâmetro do halo de inibição formado pelas amostras após a impregnação das NP ZnO, enquanto o eixo x corresponde aos diferentes tempos de reação ao qual as NP ZnO foram sintetizadas, as barras representam os tecidos antes das lavagens e após 10 e 20 lavagens.

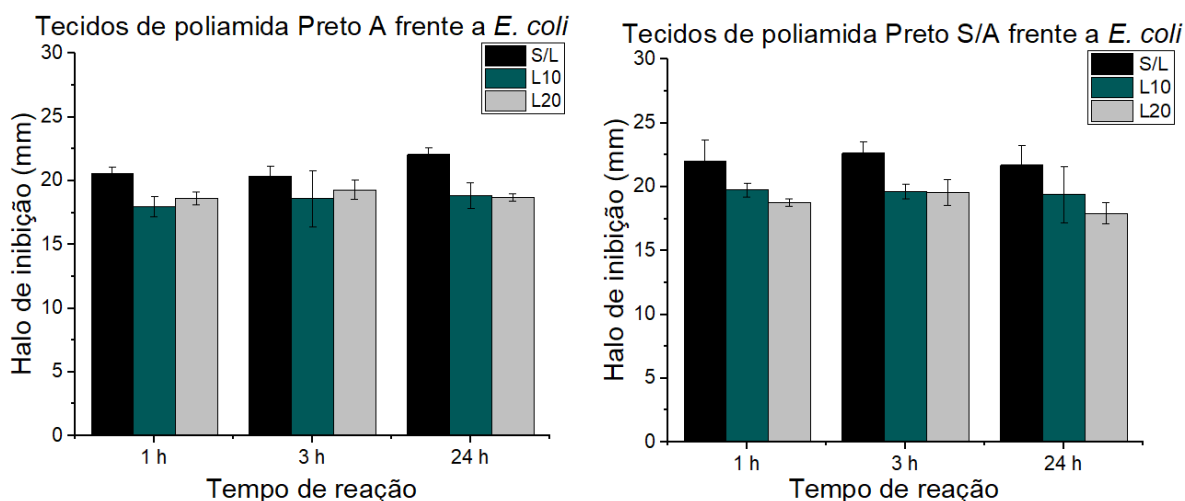
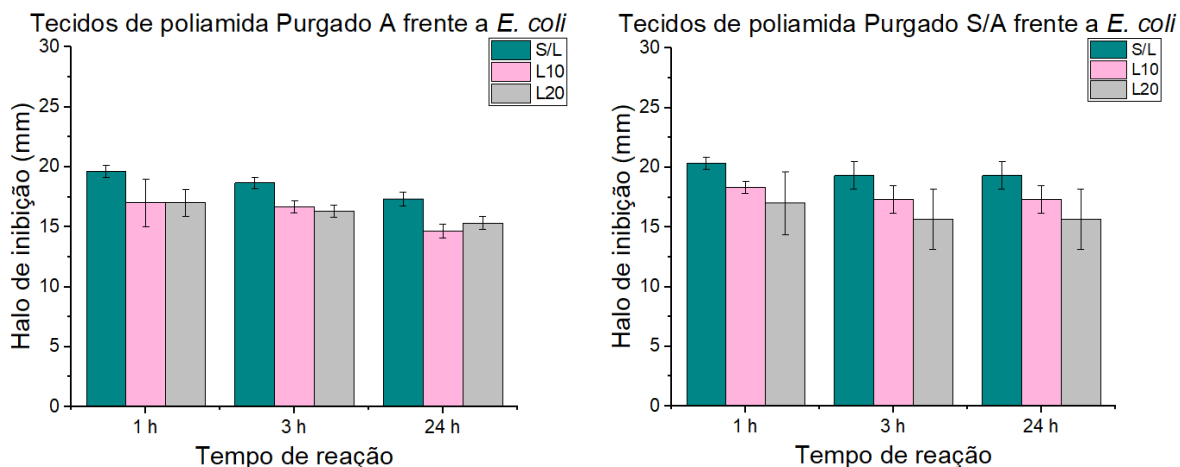


Tabela 16: Diâmetro (mm) dos halos de inibição formado pelos tecidos de poliamida purgado contendo diferentes tratamento após incorporação das NP ZnO sintetizadas em diferentes tempos de reação frente a cepa *E. coli*. Os resultados apresentados representam a média dos diâmetros obtidos para a triplicata.

<i>E. coli</i>				
Tecido: Purgado	Tecido Sem Lavar	10 Lavagens	Tecido Sem Lavar	20 Lavagens
NP_ZnO_1HR_A	19,66 ± 0,57	17 ± 2	20,33 ± 0,57	17,33 ± 1,15
NP_ZnO_3HR_A	18,66 ± 0,57	16,44 ± 0,57	19,33 ± 1,15	16,33 ± 0,57
NP_ZnO_24HR_A	17,33 ± 0,57	14,66 ± 0,57	17,33 ± 0,57	15,33 ± 0,57
NP_ZnO_1HR_S/A	20,33 ± 0,5	18,33 ± 1,15	19 ± 1	17 ± 2
NP_ZnO_3HR_S/A	19,33 ± 1,15	17,33 ± 1,15	17,66 ± 0,57	15,66 ± 2
NP_ZnO_24HR_S/A	20 ± 1	16 ± 1,73	19,33 ± 1,15	14,33 ± 1,15

A Figura 27 ilustra os gráficos elaborados a partir dos diâmetros dos halos de inibição formados pelas amostras têxteis pretas com os diferentes tratamentos (A e S/A, S/L, L10 e L20) frente a *E. coli* descritos na Tabela 16 anteriormente.

Figura 27: Ilustração do diâmetro (mm) do halo de inibição formado pelas amostras de poliamida purgada A e S/A frente a *E. coli*. No gráfico o eixo y corresponde ao diâmetro do halo de inibição formado pelas amostras após a impregnação das NP ZnO, enquanto o eixo x corresponde aos diferentes tempos de reação ao qual as NP ZnO foram sintetizadas, as barras representam os tecidos antes das lavagens e após 10 e 20 lavagens.



- Comparação do potencial antibacteriano dos tecidos tratados com NP ZnO **em relação as lavagens**, frente a cepa *E. coli*.

Assim como os tecidos pretos e purgados frente a cepa Gram-positiva demonstraram uma diferença estatística em relação ao diâmetro do halo de inibição antes e após 10 e 20 lavagens, essa diferença também foi observada para os tecidos antes e após as lavagens frente a cepa Gram-negativa.

Comparação do potencial antibacteriano dos tecidos tratados **em relação as NP ZnO sintetizadas em diferentes tempos de reação**, frente a cepa *E. coli*.

O objetivo principal das análises estáticas foi avaliar a influência dos tempos de reação das NP ZnO na atividade antibacteriana das amostras têxteis com os diferentes tratamentos.

Sendo assim, foi possível observar uma diferença na atividade antibacteriana dos tecidos impregnados com as NP ZnO sintetizadas por 1HR, 3HR e 24HR antes das lavagens, após 10 e 20 lavagens não houve diferença na atividade antibacteriana de acordo com os diâmetros dos halos de inibição formado pelas amostras têxteis.

Dessa forma, escolheu-se a amostra NP_ZnO_1HR uma vez que este projeto buscou o desenvolvimento de têxteis laváveis. A amostra NP_ZnO_1HR apresentou potencial antibacteriano semelhante as nanopartículas sintetizadas por 3HR e 24HR após as lavagens, além disso, o custo processual e o tempo de reação é menor o que viabiliza sua utilização.

Singh e colaboradores estudaram a evolução do potencial antimicrobiano de tecidos de algodão dependentes da ação das NP ZnO, neste estudo a atividade antimicrobiana foi demonstrada e avaliada pelo diâmetro do halo de inibição em comparação a amostra controle. Foi observado uma zona de inibição de 18,5 mm para *S. aureus* e 13,5 mm para *E. coli* (SINGH, G. *et al.*, 2012). Em comparação ao trabalho realizado podemos considerar os resultados obtidos foram satisfatórios, uma vez que, os tecidos apresentaram valores semelhantes ao de Singh et al. mesmo após 20 ciclos de lavagens para a cepa *S. aureus* e *E. coli*, além disso, os resultados foram mais promissores para a cepa Gram-positiva (SINGH, G. *et al.*, 2012). Rajendra e colaboradores também relataram maior halo de inibição das amostras têxteis para bactérias Gram-positivas em comparação a Gram-negativa (RAJENDRA *et al.*, 2010).

Em contrapartida, Tobola e colaboradores demonstraram melhor potencial antibacteriano dos tecidos de poliamida após o tratamento com NP ZnO para cepa Gram-negativa em comparação cepa Gram-positiva (FIEDOT-TOBOLA *et al.*, 2018).

Noman e colabores obtiveram pequenos halos de inibição para tecidos de algodão após o tratamento com NP ZnO, sendo aproximadamente 6.2 mm para *S. aureus* e 5.9 mm para *E. coli*. Os resultados menos satisfatórios podem ser associados ao tamanho da NP ZnO empregue na faixa de 27 nm (NOMAN; PETRŮ, 2020).

Rajendra e colaboradores favorecem o entendimento do potencial antimicrobiano de tecidos após a incorporação de NP ZnO e Bulk ZnO. O tecido tratado com as NP ZnO apresentou um halo de inibição 28 mm maior em relação ao halo apresentado pelos tecidos tratados com o bulk ZnO, sendo assim, é claramente notado que o tamanho da NP ZnO empregue na fibra têxtil afeta diretamente a atividade antibacteriana (RAJENDRA *et al.*, 2010).

O teste de difusão em ágar foi realizado para as amostras de tecidos de poliamida impregnadas com NP ZnO sintetizadas em diferentes tempos de reação frente a *Cândida albicans*. Neste teste não foi observado halo de inibição formado para nenhuma das amostras de tecidos tratadas. Uma possível explicação pode estar relacionada ao trabalho de Sawai e colaboradores que avaliaram a atividade antifúngica das NP ZnO frente a *C. albicans*. As NP ZnO foram capazes de inibir o crescimento fúngico em concentrações superiores a 100 mg/mL (SAWAI; YOSHIKAWA, 2004). Neste trabalho a concentração das NP ZnO impregnadas nos tecidos foi 40 mg/mL.

Além disso a tolerância inata de cada fungo pode influenciar na ação das NP ZnO (HE *et al.*, 2011).

NP ZnO foram associadas a Ag para alcançarem melhores proporções na ação antibacteriana. Estudos realizados demonstraram que mesmo potencializando a ação antimicrobiana a cepa fúngica de *C. albicans* permaneceu ainda mais resistentes que a cepa *E. coli* e a cepa *S. aureus* (VISNAPUU *et al.*, 2018).

De maneira geral, podemos atribuir que a técnica de difusão em ágar para as amostras com os diferentes tratamentos demonstrou melhor atividade frente a cepa Gram-positiva quando comparada a cepa Gram-negativa, assim como os resultados obtidos para as NP ZnO isoladas frente as bactérias pela técnica de CIM e CBM. Além disso, os resultados foram promissores mesmo após 20 lavagens, quando comparados a literatura (SINGH, G. *et al.*, 2012; SUN *et al.*, 2016).

O percentual da atividade dos tecidos de poliamida com NP ZnO antes e após lavagens na redução do crescimento microbiano de *S. aureus* e *E. coli* será relatado a seguir por técnica quantitativa.

5.15. Determinação da atividade antibacteriana de produtos antibacterianos acabados (têxteis) - JIS L 1902/ ISO20743

Esta técnica quantitativa foi realizada para a determinação da atividade antibacteriana dos têxteis. Primeiramente realizamos o controle de esterilidade das amostras têxteis para garantir a qualidade da produção e do armazenamento. As amostras têxteis com tingimento preto contendo A e S/A, antes das lavagens e após 20L, não demonstraram crescimento de colônias após o plaqueamento do caldo Mueller-Hinton no qual as amostras ficaram imersas por 24 horas a 37°C. Dessa forma, a ausência do crescimento de colônias bacterianas nas placas de Petri contendo ágar solidificado garante que os tecidos utilizados para o desenvolvimento da metodologia quantitativa estavam estéreis.

A avaliação do potencial antibacteriano das amostras têxteis se deu pela contagem de colônias bacterianas formadas após plaqueamento dos líquidos das lavagens realizadas nos tecidos que permaneceram incubados com o inóculo no tempo de 0 horas (0h) e 24 horas (24h) à 37°C. O número de crescimento das colônias bacterianas para os tecidos amaciados, sem amaciar e também os controles dos tecidos, da bactéria e do antibiótico estão descritos na Tabela 17.

Tabela 17: Número de colônias bacterianas (UFC/mL) de *S. aureus* nos tecidos A e S/A impregnados com as NP_ZnO_1HR e os controles nos tempos de 0h e 24HR.

<i>S. aureus</i>	Média UFC/mL
Controle da Bactéria 0h	$7,7 \times 10^2$
Controle da Bactéria 24HR	$1,8 \times 10^4$
Controle Antibiótico 0h	$5,3 \times 10^2$
Controle Antibiótico 24HR	$2,3 \times 10^2$
Controle Tecido S/A 0h	$1,4 \times 10^3$
Controle Tecido S/A 24HR	$1,7 \times 10^3$
Tecido S/A S/L 0h	$1,3 \times 10^3$
Tecido S/A S/L 24HR	Sem colônias
Tecido S/A L20 0h	$1,8 \times 10^3$
Tecido S/A L20 24HR	Sem colônias
Controle Tecido A 0h	$1,8 \times 10^3$
Controle Tecido A 24HR	$2,2 \times 10^3$
Tecido A S/L 0h	$1,5 \times 10^3$
Tecido A S/L 24HR	Sem colônias
Tecido A L20 0h	2×10^3
Tecido A L20 24HR	Sem colônias

A Tabela 18 e a Tabela 19 apresenta os percentuais de crescimento e redução do crescimento celular nas placas de Petri após o plaqueamento de alíquotas da solução salina retirada das lavagens após a inoculação dos microrganismos nas amostras têxteis comparando os tempos de 0h e 24HR.

Tabela 18: Comparação do percentual de crescimento e redução do crescimento celular no tempo 0 e 24 horas após a inoculação de *S. aureus* nas amostras têxteis S/A impregnadas com as NP ZnO 1HR antes e após 20L.

Tecidos Sem Amaciar		
Amostras	Crescimento <i>T</i> 0h e <i>T</i> 24HR	Redução do Crescimento
Controle Antibiótico	43%	57 %
Tecidos S/A e S/L	0 %	99 %
Tecidos S/A e Lavado	0 %	99 %

Também realizou-se o controle para as amostras de tecidos S/A, ou seja os tecidos controles que não foram impregnados com as NP ZnO. Os resultados demonstraram um crescimento de colônias de 23,23% superior no tempo de 24HR quando comparado ao tempo de 0h.

Tabela 19: Comparação do percentual do crescimento e redução do crescimento celular no tempo 0 e 24 horas após o inoculação de *S. aureus* nas amostras têxteis A impregnadas com as NP ZnO 1HR antes e após 20 L.

Tecidos Amaciados		
Amostras	Crescimento <i>T 0h e T 24HR</i>	Redução do Crescimento
Controle Antibiótico	43%	57 %
Tecidos A e S/L	0 %	99 %
Tecidos A e Lavado	0 %	99%

No teste dos tecidos controle amaciados, quando comparamos o crescimento em 0h e 24h é possível observar um crescimento de 17,84% superior no tempo de 24h quando comparado a 0h.

Os tecidos controles tanto amaciados (S/NP-A) quanto sem amaciar (S/NP-S/A) quando ficaram incubados com os inóculos por 24h à 37°C ambos apresentaram um aumento no crescimento de colônias bacterianas de *S. aureus* em relação ao tempo de 0h. Um possível entendimento para o aumento do crescimento das colônias após a incubação é reportado na literatura, uma vez que os têxteis favorecem a adesão e o crescimento de bactérias, por possuírem uma estrutura rugosa com poros em seu interior, essas condições favorecem a adesão e o crescimento das bactérias (HEMMATIAN; LEE; KIM, 2021).

A Tabela 20 apresenta o percentual do crescimento de colônias bacterianas no tempo de 0h comparando o potencial de redução de crescimento bacteriano imediato dos tecidos impregnados com NP ZnO antes das lavagens e após as lavagens.

Pode-se observar que de imediato os tecidos S/A impregnados com as NP ZnO reduziram em 60,02% o crescimento de *S. aureus*. Entretanto, quando as amostras ficaram incubadas por 24h com o inóculo a redução do crescimento foi 99,9%, demonstrando um excelente potencial biocida das amostras têxteis tanto antes quanto após as lavagens.

Tabela 20: Comparação do crescimento de colônias de *S. aureus* no tempo de 0h e 24HR dos tecidos S/A impregnados com as NP ZnO antes das lavagens e após 20 lavagens.

Tecidos Sem Amaciar			
	Amostras	Crescimento	Redução do Crescimento
T 0h	Tecido S/L Tecido Lavado	39,98 %	60,02 %
T 24HR	Tecido S/L Tecido Lavado	0 %	99,9 %

A Tabela 21 apresenta o percentual do crescimento de colônias bacterianas no tempo de 0h comparando a redução do crescimento de imediato dos tecidos antes e após as lavagens, sendo assim no tempo de 0h os tecidos A reduziram aproximadamente 72% do crescimento e após a incubação das amostras têxteis a redução do crescimento foi 99,9% tanto para as amostras antes das lavagens quanto após as lavagens.

Tabela 21: Comparação do crescimento de colônias de *S. aureus* no tempo de 0h e 24HR dos tecidos A antes das lavagens e após 20 lavagens.

Tecidos Amaciados			
	Amostras	Crescimento	Redução do Crescimento
T 0h	Tecido S/L Tecido Lavado	27,71 %	72,29 %
T 24HR	Tecido S/L Tecido Lavado	0 %	99,9 %

De acordo com a técnica quantitativa quando comparou-se a redução do crescimento dos tecidos antes e após as lavagens no tempo de 0h foi possível observar que tanto tecidos amaciados quanto os tecidos sem amaciar impregnados com as NP ZnO foram capazes de reduzir o crescimento das colônias de *S. aureus*, entretanto o máximo do potencial antibacteriano das amostras foi evidenciado após a incubação por 24h, levando a 99,9% da redução do crescimento de *S. aureus*.

Karthik e colaboradores também reportaram redução do potencial antimicrobiano após 5 e 10 lavagens. A redução da atividade antibacteriana foi atribuído a remoção do ZnO na superfície do tecido (KARTHIK et al., 2017).

No estudo de Rajendra e colaboradores os tecidos tratados com NP ZnO após 10 ciclos de lavagens demonstraram potencial antibacteriano de 75% aproximadamente frente a *S. aureus*. O potencial antimicrobiano foi avaliado novamente após 20 lavagens e a atividade antibacteriana frente a cepa Gram-positiva foi cerca de 12%, ou seja houve uma redução de 90% aproximadamente após os 20 ciclos de lavagens (RAJENDRA *et al.*, 2010).

A Tabela 22 apresenta os resultados das UFC/mL de *E. coli* obtidos através da técnica quantitativa JIS L 1902/ ISO20743 na presença de tecidos de poliamida amaciados e sem amaciar, antes das lavagens e após 20 lavagens, os controles da bactéria e do antibiótico também são apresentados na tabela.

Tabela 22: Número de colônias bacterianas (UFC/mL) de *E. coli* nos tecidos A e S/A impregnados com as NP_ZnO_1HR e os controles nos tempos de 0h e 24HR.

<i>E. coli</i>	Média UFC/mL
Controle da Bactéria 0h	$2,1 \times 10^3$
Controle da Bactéria 24HR	$2,5 \times 10^5$
Controle Antibiótico 0h	1×10^6
Controle Antibiótico 24HR	$3,6 \times 10^6$
Controle Tecido S/A 0h	$1,6 \times 10^6$
Controle Tecido S/A 24HR	$1,1 \times 10^7$
Tecido S/A S/L 0h	$2,3 \times 10^5$
Tecido S/A S/L 24HR	$2,1 \times 10^6$
Tecido S/A L20 0h	$2,6 \times 10^5$
Tecido S/A L20 24HR	$2,9 \times 10^6$
Controle Tecido A 0h	$3,3 \times 10^5$
Controle Tecido A 24HR	$1,2 \times 10^7$
Tecido A S/L 0h	5×10^5
Tecido A S/L 24HR	2×10^6
Tecido A L20 0h	$5,6 \times 10^5$
Tecido A L20 24HR	$2,7 \times 10^6$

Diferentemente da cepa de *S. aureus* após 24 horas o crescimento das colônias em UFC/mL foi maior em relação ao tempo de 0 horas. Entretanto houve uma redução do crescimento de *E. coli* de 80,89% e 74,12% para os tecidos S/L e L20, respectivamente, ambos

sem amaciar tratados com as NP ZnO, em comparação ao tecido controle sem NP ZnO e S/A (S/NP-S/A).

Os tecidos amaciados S/L e L20 impregnados com as NP ZnO reduziram o crescimento celular de *E. coli* 82,78% e 77,5%, respectivamente, em comparação aos tecidos amaciados controle S/NP-A incubados por 24 com o inóculo bacteriano.

Obteve-se como objetivo principal da técnica a avaliação da redução do crescimento celular antes e após os diversos ciclos de lavagens afim de verificar a manutenção e durabilidade da atividade do material. A Tabela 23 apresenta os resultados em percentuais do crescimento e redução do crescimento da bactéria Gram-negativa na presença dos tecidos sem amaciar impregnados com NP ZnO antes e após as 20 lavagens.

Tabela 23: Comparação do crescimento de colônias de *E. coli* no tempo de 0h e 24HR dos tecidos S/A impregnados com NP ZnO antes das lavagens e após 20 lavagens.

Tecidos Sem Amaciar			
	Amostras	Crescimento	Redução do Crescimento
T 0h	Tecido S/L Tecido Lavado	14,30 %	85,70 %
T 24HR	Tecido S/L Tecido Lavado	35,38 %	64,62 %

A Tabela 24 mostra os resultados em percentuais do crescimento e redução do crescimento da bactéria *E. coli* na presença dos tecidos amaciados impregnados com NP ZnO antes e após as 20 lavagens.

Tabela 24: Comparação do crescimento de colônias de *E. coli* no tempo de 0h e 24HR dos tecidos A impregnados com NP ZnO antes das lavagens e após 20 lavagens.

Tecidos Amaciados			
	Amostras	Crescimento	Redução do Crescimento
T 0h	Tecido S/L Tecido Lavado	13,33 %	86,67 %
T 24HR	Tecido S/L Tecido Lavado	30,64 %	69,36 %

Com base nos resultados anteriores pode-se observar uma boa manutenção da atividade antibacteriana dos tecidos de poliamida impregnados com as NP ZnO após repetidos ciclos de lavagens.

Os tecidos impregnados com NP ZnO apresentaram maior desempenho na redução celular da bactéria Gram-positiva em comparação a bactéria Gram-negativa. Este resultado está de acordo com as técnicas da CIM, CBM e Difusão em ágar, uma vez que, os resultados da atividade antibacteriana pelas diferentes técnicas também foram melhores para *S. aureus*.

Um estudo na literatura também reporta menor atividade das NP ZnO frente a cepa de *E. coli*, quando comparada a cepa de *S. aureus* (AZAM et al., 2012). Este resultado corrobora com o trabalho de Premanathan et al. e colaboradores que reportaram menor efeito das NP ZnO a bactérias Gram-negativas (PREMANATHAN et al., 2011). De acordo com Azam e colaboradores o menor efeito das NP ZnO frente as cepas Gram-negativas podem indicar maior resistência/tolerância das cepas Gram-negativas contra os nanomateriais quando comparadas as bactérias Gram-positivas (ANSARI et al., 2012).

O trabalho de Karimi e colaboradores corroboram com este estudo, uma vez que, os tecidos revestidos com NP ZnO de 8 nm demonstraram melhor atividade frente a *S. aureus* quando comparada a *E. coli* (KARIMI; ANSARI, 2018).

Tecidos de algodão foram impregnados com NP ZnO e NP ZnO mais aglutinante. O potencial antibacteriano dos tecidos contendo somente as NP ZnO sem o aglutinante frente a cepa de *S. aureus* foi em torno de 51,76% e frente a *E. coli* foi 45,54%, não foi avaliado a durabilidade da atividade após ciclos de lavagens (TANIA; ALI, 2021). Vale ressaltar que no projeto atual tecidos amaciados e S/A de imediato reduziu 60 e 70% do crescimento celular de *S. aureus* e após 24h esta redução foi de 99,9%. Para *E. coli* de imediato a redução foi em torno de 85% tanto para tecidos amaciados quanto sem amaciar. É importante ressaltar que esses percentuais foram obtidos para os tecidos após passarem por 20 ciclos de lavagens.

Tobola e colaboradores relataram redução celular de *S. aureus* e *E. coli* de aproximadamente 99% para tecidos de poliamida após a impregnação das NP ZnO, entretanto não foi estudado a durabilidade da atividade frente a lavagens (FIEDOT-TOBOLA et al., 2018).

NP ZnO sintetizadas por 0h, 1HR e 2h apresentaram diâmetro médio de 16 nm, 28 nm e 23 nm, respectivamente, ambas impregnadas em tecidos de algodão. A redução do crescimento celular foi mais expressiva para cepa *S. aureus* em relação a Gram-negativa *P. aeruginosa*, apesar de ambas terem uma redução de 100% para o tempo de 1HR, o trabalho não avaliou a redução do crescimento após lavagens (SOUZA et al., 2018).

A técnica quantitativa demonstrou excelente atividade para *S. aureus* com 99,9% de redução do crescimento para tecidos amaciados e sem amaciar, antes e após as lavagens, ou seja, os diversos ciclos não influenciaram na manutenção e durabilidade da atividade das NP ZnO impregnadas nos tecidos com diferentes tratamentos.

Os tecidos sem amaciar S/L e L20 apresentaram uma redução do crescimento de 80,89% e 74,12%, respectivamente, para *E. coli* e os tecidos amaciados reduziu em 82,78% o crescimento antes das lavagens e após 20 lavagens a redução foi de 77,5%, em comparação aos tecidos controles.

Sendo assim, foi possível observar uma boa manutenção da atividade antibacteriana das NP ZnO impregnadas no tecidos mesmo após 20 ciclos de lavagens. Uma explicação plausível pode estar relacionada ao tamanho desta NP ZnO na faixa de 5 nm, já que as NP ZnO de menor diâmetro apresentam melhor distribuição e estabilidade nas fibras têxteis quando comparadas a nanopartículas maiores (KARIMI; ANSARI, 2018), além disso, as partículas menores se aderem mais fortemente as fibras evitando seu desprendimento (ROY *et al.*, 2020).

É importante ressaltar que além de resultados promissores, esse trabalho é inovador, uma vez que, na literatura anteriormente não foram descritos NP ZnO de tamanho tão pequeno empregues em fibras têxteis de poliamida contendo diferente tratamentos, nem tão pouco, foi avaliado a manutenção da atividade frente a diversos ciclos de lavagens.

Dessa forma, este projeto desenvolveu acabamento antibacteriano de tecidos de poliamida contendo diferentes tratamentos após impregnação de NP ZnO na faixa de 5 nm frente a *S. aureus* e *E. coli*, antes e após 20 lavagens, esses têxteis funcionais são capazes de causar a morte dos microrganismos e evitar a proliferação celular contribuindo para redução de infecções e contaminações cruzadas causadas por tecidos usuais que contribuem para o crescimento e proliferação dos microrganismos. Vale ressaltar que a técnica utilizada para o desenvolvimento dos tecidos é uma técnica simples, de fácil reprodutibilidade e de baixo custo, ainda, apresenta vantagens quanto ao uso do nanomaterial ZnO uma vez que apresenta ótimas condições de biodegradabilidade quando comparada a outros agentes inorgânicos.

5. CONCLUSÕES

As NP ZnO foram sintetizadas pelo método sol-gel em baixa temperatura e tiveram a superfície modificada pelo organosilano GPTMS, possibilitando sua dispersão em meios hidrofílicos.

O tamanho das NP ZnO foi avaliado por diferentes técnicas e apresentaram concordância entre os valores obtidos. Através da técnica de espectroscopia na região do Uv-vis calculamos o raio das NP ZnO pelo modelo matemático proposto por Brus. De acordo com os difratogramas de raios-X pode se comprovar a obtenção das NP ZnO na fase hexagonal com estrutura wurtzita e obter o tamanho dos cristalitos para as diferentes direções cristalográficas. As micrografias de MET mostrou NP ZnO com forma esférica e possibilitou avaliar a distribuição do tamanho de 200 partículas.

As técnicas de difração de raios X mostrou picos característicos da estrutura hexagonal wurtzita das NP ZnO para os tecidos após a impregnação, esses picos foram ausentes em tecidos controles. A técnica de FTIR demonstrou banda de ligações de Zn e O para os tecidos de poliamida tratados com as NP ZnO, enquanto nos tecidos controles as bandas eram ausentes.

As microscopias de MEV e TEM demonstraram a presença das partículas ou de aglomerados das NP ZnO, enquanto nos tecidos controles eram ausentes. A técnica de EDS confirmou a presença do elemento zinco para tecidos de poliamida após a impregnação das partículas.

O tempo da síntese sol-gel não ocasionou alterações significativas no tamanho das NP ZnO, na impregnação das NP ZnO nos tecidos e na atividade antibacteriana, tornando a amostra sintetizada por 1 hora a mais promissora.

A atividade antibacteriana das NP ZnO foi mais eficaz no combate de *S. aureus* do que *E. coli*. Os tecidos de poliamida com diferentes tratamentos também apresentaram melhor desempenho bactericida frente a cepa Gram positiva em comparação a Gram-negativa.

Os tecidos impregnados com as NP ZnO não apresentaram alterações significativas na atividade antibacteriana dependentes do tempo de reação das NP ZnO e da presença ou ausência do amaciante na fibra têxtil. A manutenção e durabilidade da atividade antibacteriana dos tecidos com diferentes tratamentos (amaciados, sem amaciar, tingidos e sem tingimento) foi comprovada mesmo após 20 ciclos de lavagens frente a *S. aureus* e *E. coli*.

As NP ZnO sintetizadas na faixa de 5 nm e impregnadas em tecidos apresentaram alto potencial bactericida para acabamento antibacteriano de tecidos de poliamida contendo amaciante e sem amaciar, em tecidos com tingimento e sem tingir, antes e após 20 lavagens. O acabamento antibacteriano foi realizado por um técnica prática, rápida e com boas condições de reprodutibilidade, além disso, vantajosa, uma vez que o ZnO oferece boas

condições de biodegradabilidade em comparação a outros materiais inorgânicos comercializados atualmente.

REFERÊNCIAS

- ABOULAICH, A. *et al.* Physicochemical properties and cellular toxicity of (poly) aminoalkoxysilanes-functionalized ZnO quantum dots. *Nanotechnology*, v. 23, p. 335101, 2012.
- AGARWAL, H. *et al.* Mechanistic study on antibacterial action of zinc oxide nanoparticles synthesized using green route. *Chemico-Biological Interactions*, v. 286, p. 60–70, 2018.
- AGRAWAL, N. *et al.* Durable easy-cleaning and antibacterial cotton fabrics using fluorine-free silane coupling agents and CuO nanoparticles. *Nano Materials Science*, v. 2, n. 3, p. 281–291, 2020.
- AHANGARAN, F.; NAVARCHIAN, A. H. Recent advances in chemical surface modification of metal oxide nanoparticles with silane coupling agents: A review. *Advances in Colloid and Interface Science*, v. 286, p. 102298, 2020.
- ALEAGHIL, S. A. *et al.* Antibacterial activity of Zinc oxide nanoparticles on *Staphylococcus aureus*. *International Journal of Advanced Biotechnology and Research*, v. 7, n. 3, p. 1569–1575, 2016.
- ANSARI, Mohammad Azam *et al.* Synthesis and characterization of the antibacterial potential of ZnO nanoparticles against extended-spectrum β -lactamases-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* isolated from a tertiary care hospital of North India. *Applied Microbiology and Biotechnology*, v. 94, n. 2, p. 467–477, 2012.
- ARAKHA, M. *et al.* The effects of interfacial potential on antimicrobial propensity of ZnO nanoparticle. *Scientific Reports*, v. 15, n. 5, p. 9578, 2015.
- ASOK, A.; GANDHI, M. N.; KULKARNI, A. R. Enhanced visible photoluminescence in ZnO quantum dots by promotion of oxygen vacancy formation. *Nanoscale*, v. 4, n. 16, p. 4943–4946, 2012.
- AZAM, Ameer *et al.* Antimicrobial activity of metal oxide nanoparticles against Gram-positive and Gram-negative bacteria: A comparative study. *International Journal of Nanomedicine*, v. 7, p. 6003–6009, 2012.
- BAEK, Y. W.; AN, Y. J. Microbial toxicity of metal oxide nanoparticles (CuO, NiO, ZnO, and Sb₂O₃) to *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*, and *Streptococcus aureus*. *Science of the Total Environment*, v. 409, n. 8, p. 1603–1608, 2011.
- BARRERA, D. *et al.* Reliable preparation of ZnO nanoparticles by different synthesis methods for bactericidal applications. *Advances in Natural Sciences: Nanoscience and Nanotechnology*, v. 11, n. 2, 2020.
- BASNET, P. *et al.* A review on bio-synthesized zinc oxide nanoparticles using plant extracts as reductants and stabilizing agents. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, v. 183, p. 201–221, 2018.
- BECHERI, A. *et al.* Synthesis and characterization of zinc oxide nanoparticles: Application to textiles as UV-absorbers. *Journal of Nanoparticle Research*, v. 10, n. 4, p. 679–689, 2008.
- BEDELOGLU, A. C.; CIN, Z. I. Functional sol-gel coated electrospun polyamide 6,6/ZnO composite nanofibers. *Journal of Polymer Engineering*, v. 39, n. 8, p. 752–761, 2019.

- BENN, T. M.; WESTERHOFF, P. Nanoparticle Silver Released into Water from Commercially Available Sock Fabrics. *Environmental Science and Technology*, v. 42, n. 18, p. 4133–4139, 2008.
- BONDARENKO, O. *et al.* Toxicity of Ag, CuO and ZnO nanoparticles to selected environmentally relevant test organisms and mammalian cells in vitro: A critical review. *Archives of Toxicology*, v. 87, n. 7, p. 1181–1200, 2013.
- BORDA D'ÁGUA, R. *et al.* Efficient coverage of ZnO nanoparticles on cotton fibres for antibacterial finishing using a rapid and low cost: In situ synthesis. *New Journal of Chemistry*, v. 42, n. 2, p. 1052–1060, 2018.
- BORYSIEWICZ, Michal A. ZnO as a functional material, a review. *Crystals*, v. 9, n. 10, 2019.
- BRUS, L. Electronic wave functions in semiconductor clusters: Experiment and theory. *Journal of Physical Chemistry*, v. 90, n. 12, p. 2555–2560, 1986.
- BURHAN, N.; ABDULRAHMAN, A.; NSSAIF, Z. M. Antimicrobial Activity of Zinc Oxide, titanium Dioxide and Silver Nanoparticles Against Mithicillin-Resistant Staphylococcus aureus Isolates. *Tikrit Journal of Pure Science*, v. 21, n. 3, p. 49–53, 2016.
- BUŞILĂ, M. *et al.* Size-Dependent Biological Activities of Fluorescent Organosilane-Modified Zinc Oxide Nanoparticles. *Journal of biomedical nanotechnology*, v. 16, n. 2, p. 137–152, 2020.
- CAETANO, B. L. *Formação e crescimento de nanopartículas de óxido de zinco via sol-gel*. 2010. 131 f. 2010.
- CAETANO, B. L. *et al.* In situ and simultaneous UV-vis/SAXS and UV-vis/XAFS time-resolved monitoring of ZnO quantum dots formation and growth. *Journal of Physical Chemistry C*, v. 115, n. 11, p. 4404–4412, 2011.
- CHEN, X. *et al.* Plasma-induced PAA-ZnO coated PVDF membrane for oily wastewater treatment: Preparation, optimization, and characterization through Taguchi OA design and synchrotron-based X-ray analysis. *Journal of Membrane Science*, v. 582, p. 70–82, 2019.
- CHEN, Z. L. *et al.* Preparation of Monodisperse Hydrophilic Quantum Dots with Amphiphilic Polymers. *ACS Applied Materials and Interfaces*, v. 9, n. 46, p. 39901–39906, 2017.
- CHERNOV, V. M. *et al.* Omics of antimicrobials and antimicrobial resistance. *Expert Opinion on Drug Discovery*, v. 14, n. 5, p. 455–468, 2019.
- CIERECH, M. *et al.* Zinc oxide nanoparticles cytotoxicity and release from newly formed PMMA–ZNO nanocomposites designed for denture bases. *Nanomaterials*, v. 9, n. 9, p. 1318, 2019.
- CLSI. Reference method for broth dilution. *Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of yeasts. Approved standard, 3th ed.*, v. 28, n. 14, p. 0–13, 2008.
- CLSI, Clinical and Laboratory Standards Institute. M07-A10: Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically; Approved Standard—Tenth Edition. Wayne, PA: CLSI, 2015. (CLSI document M07-A10, v. 35, n. 2).
- CLSI, Clinical and Laboratory Standards Institute. M44-A2: Method for Antifungal Disk Diffusion Susceptibility Testing of Yeasts; Approved Guideline—Second Edition. Wayne, PA: CLSI, 2009. (CLSI document M44-A2, v. 29, n. 17).
- CLSI, Clinical and Laboratory Standards Institute. Padronização dos Testes de Sensibilidade

a Antimicrobianos por Disco-difusão : Norma Aprovada Oitava Edição. Wayne, PA: CLSI, 2003. (NCCLS document M2-A8, v. 23, n. 1, p. 1-58, 2003).

DAS, B. K. *et al.* Structural, bandgap tuning and electrical properties of Cu doped ZnO nanoparticles synthesized by mechanical alloying. *Journal of Materials Science: Materials in Electronics*, v. 28, n. 20, p. 15127–15134, 2017.

DEOPURA, B. L. *et al.* *Polyesters and Polyamides*. Cambridge, England: Woodhead Publishing Limited, 2008. (Woodhead publishing in textiles, serie no. 71.).

DEREWACZ, D. K. *et al.* Antimicrobial drug resistance affects broad changes in metabolomic phenotype in addition to secondary metabolism. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, v. 110, n. 6, p. 2336–2341, 2013.

DHANDAPANI, P. *et al.* Bio-approach: Ureolytic bacteria mediated synthesis of ZnO nanocrystals on cotton fabric and evaluation of their antibacterial properties. *Carbohydrate Polymers*, v. 103, p. 448–455, 2014.

EL-KHATIB, E. M. Antimicrobial and Self-cleaning Textiles using Nanotechnology. *Research Journal of Textile and Apparel*, v. 16, n. 3, p. 156–174, 2012.

EL-NAGGAR, M. E.; SHAARAWY, S.; HEBEISH, A. A. Multifunctional properties of cotton fabrics coated with in situ synthesis of zinc oxide nanoparticles capped with date seed extract. *Carbohydrate Polymers*, v. 181, p. 307–316, 2018.

EL-NAHHAL, I. M. *et al.* Preparation and antimicrobial activity of ZnO-NPs coated cotton/starch and their functionalized ZnO-Ag/cotton and Zn(II) curcumin/cotton materials. *Scientific Reports*, v. 10, n. 5410, 2020.

EL MESSIRY, M.; EL OUFFY, A.; ISSA, M. Microcellulose particles for surface modification to enhance moisture management properties of polyester, and polyester/cotton blend fabrics. *Alexandria Engineering Journal*, v. 54, n. 2, p. 127–140, 2015.

ELAD, Y.; YUNIS, H.; KATAN, T. Multiple fungicide resistance to benzimidazoles, dicarboximides and diethofencarb in field isolates of *Botrytis cinerea* in Israel. *Plant Pathology*, v. 41, n. 1, p. 41–46, 1992.

ELSHIKH, M. *et al.* Resazurin-based 96-well plate microdilution method for the determination of minimum inhibitory concentration of biosurfactants. *Biotechnology Letters*, v. 38, n. 6, p. 1015–1019, 2016.

EREM, A. D.; OZCAN, G.; SKRIFVARS, M. Antibacterial activity of PA6/ZnO nanocomposite fibers. *Textile Research Journal*, v. 81, n. 16, p. 1638–1646, 2011.

FAKHROUEIAN, Z. *et al.* In vitro cytotoxic effects of modified zinc oxide quantum dots on breast cancer cell lines (MCF7), colon cancer cell lines (HT29) and various fungi. *Journal of Nanoparticle Research volume*, v. 16, p. 2483-2493, 2014.

FAROUK, Asmaa *et al.* ZnO-modified hybrid polymers as an antibacterial finish for textiles. *Textile Research Journal*, v. 84, n. 1, p. 40–51, 2014.

FERNÁNDEZ, D.; GARCÍA-GÓMEZ, C.; BABÍN, M. In vitro evaluation of cellular responses induced by ZnO nanoparticles, zinc ions and bulk ZnO in fish cells. *Science of the Total Environment*, v. 452–453, p. 262–274, 2013.

FERNANDO, S.; GUNASEKARA, T.; HOLTON, J. Antimicrobial Nanoparticles: applications and mechanisms of action. *Sri Lankan Journal of Infectious Diseases*, v. 8, n. 1, p.

2–11, 2018.

FIEDOT-TOBOŁA, M. *et al.* Deposition of zinc oxide on different polymer textiles and their antibacterial properties. *Materials*, v. 11, n. 5, p. 707, 2018.

FRUNZA, L. *et al.* Synthetic Fabrics Coated with Zinc Oxide Nanoparticles by Electroless Deposition : Structural Characterization and Wetting Properties. *Journal of Polymer Science Part B: Polymer Physics*, v. 51, n. 19, p. 1427–1437, 2013.

GASI, F; BITTENCOURT, E. Estudo das Propriedades de Conforto em Tecidos de Malha das Fibras Sintéticas de Poliéster e Poliamida 6.6: Permeabilidade ao Vapor, Transporte de Umidade e Proteção Ultravioleta . *Revista Design, Inovação e Gestão Estratégica - REDIGE*, v. 1, n. 1, 2011.

GEDANKEN, A. *et al.* Imparting Pharmaceutical Applications to the Surface of Fabrics for Wound and Skin Care by Ultrasonic Waves. *Current Medicinal Chemistry*, v. 25, n. 41, p. 5739–5754, 2017.

GHASEMI, F; JALAL, R. Antimicrobial action of zinc oxide nanoparticles in combination with ciprofloxacin and ceftazidime against multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii*. *Integrative Medicine Research*, v. 6, p. 118–122, 2016.

GOWRI, V. S. *et al.* Functional finishing of polyamide fabrics using ZnO – PMMA nanocomposites. *Journal of Materials Science*, v. 45, p. 2427–2435, 2010.

GUIDELLI, E. J.; BAFFA, O.; CLARKE, D. R. Enhanced UV Emission From Silver / ZnO And Gold / ZnO Core-Shell Nanoparticles : Radioluminescence , And Optically Stimulated Luminescence. *Scientific Reports*, v. 5, n. 1, 2015.

GUO, L. *et al.* Highly monodisperse polymer-capped ZnO nanoparticles: Preparation and optical properties. *Applied Physics Letters*, v. 76, n. 20, p. 2901–2903, 2000.

HARUN, K. *et al.* Sol-Gel synthesized ZnO for optoelectronics applications: A characterization review. *Materials Research Express*, v. 4, n. 12, 2017.

HASSABO, A. G. *et al.* Development of multifunctional modified cotton fabric with tri-component nanoparticles of silver, copper and zinc oxide. *Carbohydrate Polymers*, v. 210, p. 144–156, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2019.01.066>.

HE, L. *et al.* Antifungal activity of zinc oxide nanoparticles against *Botrytis cinerea* and *Penicillium expansum*. *Microbiological Research*, v. 166, n. 3, p. 207–215, 2011.

HEMMATIAN, T.; LEE, H.; KIM, J. Bacteria adhesion of textiles influenced by wettability and pore characteristics of fibrous substrates. *Polymers*, v. 13, n. 2, p. 223, 2021.

HOLT, B. A. *et al.* Aqueous Zinc Compounds as Residual Antimicrobial Agents for Textiles. *ACS Applied Materials and Interfaces*, v. 10, n. 9, p. 7709–7716, 2018.

HUANG, L.; XIANG, Y. Structures of the tailed bacteriophages that infect Gram-positive bacteria. *Current Opinion in Virology*, v. 45, p. 65–74, 2020.

HUANG, Y. W.; WU, C. H.; ARONSTAM, R. S. Toxicity of transition metal oxide nanoparticles: Recent insights from in vitro studies. *Materials*, v. 3, n. 10, p. 4842–4859, 2010.

IBRAHIM, H. M. *et al.* Preparation of biocompatible chitosan nanoparticles loaded by tetracycline, gentamycin and ciprofloxacin as novel drug delivery system for improvement the antibacterial properties of cellulose based fabrics. *International Journal of Biological*

Macromolecules, v. 161, p. 1247–1260, 2020.

IBRAHIM, N. A. *et al.* Nano-structured metal oxides: Synthesis, characterization and application for multifunctional cotton fabric. *Advances in Natural Sciences: Nanoscience and Nanotechnology*, v. 9, n. 3, 2018.

IMANI, S. M. *et al.* Antimicrobial nanomaterials and coatings: Current mechanisms and future perspectives to control the spread of viruses including SARS-CoV-2. *ACS Nano*, v. 14, n. 10, p. 12341–12369, 2020.

International Standards Organization (2007). ISO 20743:2007. Textiles. Determination of antibacterial activity of textile products.

INTERAGENCY COORDINATION GROUP ON ANTIMICROBIAL RESISTENCE. *No Time to Wait: Securing the Future from Drug-resistant Infections*. Disponível em: <https://www.paho.org/bra/index.php?option=com_content&view=article&id=5922:novo-relatorio-pede-acao-urgente-para-evitar-crise-de-resistencia-antimicrobiana&Itemid=812>. Acesso em: 18 mar. 2021.

ISMAIL, A. M. *et al.* The influence of calcination temperature on structural and antimicrobial characteristics of zinc oxide nanoparticles synthesized by Sol-Gel method. *Journal of Molecular Structure*, v. 1196, p. 332–337, 2019.

JAGGER, J. *et al.* Epidemiology and prevention of blood and body fluid exposures among emergency department staff. *The Journal of Emergency Medicine*, v. 12, n. 6, p. 753–765, 1994.

JANAKI, A. C.; SAILATHA, E.; GUNASEKARAN, S. Synthesis, characteristics and antimicrobial activity of ZnO nanoparticles. *Spectrochimica Acta - Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, v. 144, p. 17–22, 2015.

JAPANESE INDUSTRIAL STANDARD. JIS L 1902 - Testing for antibacterial activity and efficacy on textile products. Tokyo : Japanese Standards Association, 2008.

JAVADI, E. *et al.* Photocatalytic, corrosion protection and adhesion properties of acrylic nanocomposite coating containing silane treated nano zinc oxide: A combined experimental and simulation study. *Progress in Organic Coatings*, v. 135, p. 496–509, 2019.

JAVED, R. *et al.* Effect of capping agents: Structural, optical and biological properties of ZnO nanoparticles. *Applied Surface Science*, v. 386, p. 319–326, 2016.

JIANG, J.; PI, J.; CAI, J. The Advancing of Zinc Oxide Nanoparticles for Biomedical Applications. *Bioinorganic Chemistry and Applications*, v. 2018, Article ID 1062562, 18 pages, 2018. <https://doi.org/10.1155/2018/1062562> 2018.

JIANG, S.; LIN, K.; CAI, M. ZnO Nanomaterials : Current Advancements in Antibacterial Mechanisms and Applications. *Frontiers in Chemistry*, v. 8, 2020.

JIANG, W.; MASHAYEKHI, H.; XING, B. Bacterial toxicity comparison between nano- and micro-scaled oxide particles. *Environmental Pollution*, v. 157, n. 5, p. 1619–1625, 2009.

JOE, A. *et al.* Antimicrobial activity of ZnO nanoplates and its Ag nanocomposites : Insight into an ROS-mediated antibacterial mechanism under UV light. *Journal of Solid State Chemistry*, v. 267, p. 124–133, 2018.

KAIRYTE, K.; KADYS, A.; LUKSIENE, Z. Antibacterial and antifungal activity of photoactivated ZnO nanoparticles in suspension. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, v. 128, p. 78–84, 2013.

KAR, T. R. *et al.* UV protection and antimicrobial finish on cotton khadi fabric using a mixture of nanoparticles of zinc oxide and poly-hydroxy-amino methyl silicone. *Textile Research Journal*, v. 89, n. 11, p. 2260–2278, 2019.

KARIMI, Ebrahim Zohourvahid; ANSARI, Mohammad. Comparison of Antibacterial Activity of ZnO Nanoparticles Fabricated by Two Different Methods and Coated on Tetron Fabric. *The Open Biotechnology Journal*, v. 12, n. 1, p. 166–175, 2018.

KARTHIK, S. *et al.* Acalypha indica-mediated green synthesis of ZnO nanostructures under differential thermal treatment: Effect on textile coating, hydrophobicity, UV resistance, and antibacterial activity. *Advanced Powder Technology*, v. 28, n. 12, p. 3184–3194, 2017.

KATHALEWAR, M.; SABNIS, A.; WAGHOO, G. Effect of incorporation of surface treated zinc oxide on non-isocyanate polyurethane based nano-composite coatings. *Progress in Organic Coatings*, v. 76, n. 9, p. 1215–1229, 2013.

KAUSHIK, M. *et al.* Investigations on the antimicrobial activity and wound healing potential of ZnO nanoparticles. *Applied Surface Science*, v. 479, p. 1169–1177, 2019.

KHAN, M. A. M. *et al.* Modifications in structural, morphological, optical and photocatalytic properties of ZnO:Mn nanoparticles by sol-gel protocol. *Materials Science in Semiconductor Processing*, v. 87, p. 134–141, 2018.

KHURANA, N. *et al.* Surface modification of zinc oxide nanoparticles by vinyltriethoxy silane (VTES). *Inorganic Chemistry Communications*, v. 124, p. 108347, 2021.

KOŁODZIEJCZAK-RADZIMSKA, A.; JESIONOWSKI, T. Zinc oxide-from synthesis to application: A review. *Materials*, v. 7, n. 4, p. 2833–2881, 2014.

KRÓL, A. *et al.* Zinc oxide nanoparticles: Synthesis, antiseptic activity and toxicity mechanism. *Advances in Colloid and Interface Science*, v. 249, p. 37–52, 2017.

KUMAR, R. *et al.* Antimicrobial properties of ZnO nanomaterials: A review. *Ceramics International*, v. 43, n. 5, p. 3940–3961, 2017.

LALLO DA SILVA, B.; CAETANO, B. L.; *et al.* Increased antibacterial activity of ZnO nanoparticles: Influence of size and surface modification. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, v. 177, p. 440–447, 2019.

LALLO DA SILVA, B.; ABUÇAF, M. P.; *et al.* Relationship between structure and antimicrobial activity of zinc oxide nanoparticles: An overview. *International Journal of Nanomedicine*, v. 14, p. 9395–9410, 2019.

LAURENTI, M.; CAUDA, V. ZnO nanostructures for tissue engineering applications. *Nanomaterials*, v. 7, n. 11, p. 374, 2017.

LEUNG, Y. H. *et al.* Antibacterial activity of ZnO nanoparticles with a modified surface under ambient illumination. *Nanotechnology*, v. 23, n. 47, 2012.

LEUNG, Y. H. *et al.* Toxicity of ZnO and TiO₂ to Escherichia coli cells. *Scientific Reports*, v. 6, 2016.

LI, M.; ZHU, L.; LIN, D. Toxicity of ZnO Nanoparticles to Escherichia coli : Mechanism and the Influence of Medium Components. *Environmental Science & Technology*, v. 45, n. 5, p. 1977–1983, 2011.

LI, X. *et al.* Antimicrobial activities of ZnO powder-coated PVC film to inactivate food

pathogens. *International Journal of Food Science and Technology*, v. 44, n. 11, p. 2161–2168, 2009.

LIMA, M. K. *et al.* Co-doped ZnO nanoparticles synthesized by an adapted sol–gel method: Effects on the structural, optical, photocatalytic and antibacterial properties. *Journal of Sol-Gel Science and Technology*, v. 72, p. 301–309, 2014.

LIN, K. F. *et al.* Band gap variation of size-controlled ZnO quantum dots synthesized by sol-gel method. *Chemical Physics Letters*, v. 409, n. 4–6, p. 208–211, 2005.

MAHAMUNI, P. P. *et al.* Synthesis and characterization of zinc oxide nanoparticles by using polyol chemistry for their antimicrobial and antibiofilm activity. *Biochemistry and Biophysics Reports*, v. 17, p. 71–80, 2019.

MAHBOUBEH, M.; FIROUZABADI, F. Antibacterial activity of zinc oxide nanoparticle suspensions on food-borne pathogens. *Dairy Technology*, v. 66, n. 2, p. 291–295, 2013.

MAKVANDI, P. *et al.* Metal-based nanomaterials in biomedical applications: Antimicrobial activity and cytotoxicity aspects. *Advanced Functional Materials*, v. 30, n. 22, 2020.

MALIK, G. K.; MITRA, J. Zinc Oxide Nanoparticle Synthesis, Characterization, and Their Effect on Mechanical, Barrier, and Optical Properties of HPMC-Based Edible Film. *Food and Bioprocess Technology*, v. 14, p. 441–456, 2021.

MARZEC, A. *et al.* Preparation of nanocrystalline composites TiO₂-SnO₂ by sol-gel method. *Composites Theory and Practice*, v. 14, n. 3, p. 169–173, 2014.

MCGUFFIE, M. J. *et al.* Zinc Oxide Nanoparticle Suspensions and Layer-By-Layer Coatings Inhibit Staphylococcal Growth. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology, and Medicine*, v. 12, n. 1, p. 33–42, 2015.

MIJNENDONCKX, Kristel *et al.* Antimicrobial silver: Uses, toxicity and potential for resistance. *BioMetals*, v. 26, n. 4, p. 609–621, 2013.

MIRHOSSEINI, F. *et al.* Antimicrobial Effect of Different Sizes of NanoZinc Oxide on Oral Microorganisms. *Frontiers in Dentistry*, v. 16, n. 2, p. 150–112, 2019.

MIRI, A. *et al.* Zinc oxide nanoparticles: Biosynthesis, characterization, antifungal and cytotoxic activity. *Materials Science and Engineering C*, v. 104, p. 109981, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2019.109981>.

MITCHELL, A.; SPENCER, M.; EDMISTON, C. Role of healthcare apparel and other healthcare textiles in the transmission of pathogens: a review of the literature. *Journal of Hospital Infection*, v. 90, n. 4, p. 285–292, 2015.

MOHAMED, A. A *et al.* Fungal strain impacts the shape, bioactivity and multifunctional properties of green synthesized zinc oxide nanoparticles. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, v. 19, ID: 132592762, 2019. DOI:10.1016/J.BCAB.2019.101103.

MOMOTAZ, F. *et al.* The Effect of Zno Nano Particle Coating and their Finishing Process on the Antibacterial Property of Cotton Fabrics. *Journal of Engineering Science*, v. 11, n. 1, p. 61–65, 2020.

MONTEJANO, A; GERVALDO, M.; BERTOLOTTI, S. G. The excited-states quenching of resazurin and resorufin by p -benzoquinones in polar solvents. *Dyes and pigments*, v. 64, p. 117–124, 2005.

- MULCHANDANI, N.; KARNAD, V. Application of Zinc Oxide nanoparticles on Cotton fabric for imparting Antimicrobial properties. *International Journal for Environmental Rehabilitation and Conservation*, v. 11, n. 1, p. 1–10, 2020.
- MURPHY, F.; TCHETCHIK, A.; FURXHI, I. Reduction of health care-associated infections (Hais) with antimicrobial inorganic nanoparticles incorporated in medical textiles: An economic assessment. *Nanomaterials*, v. 10, n. 5, 999; 2020. doi:10.3390/nano10050999.
- NAVALE, G. R. *et al.* Antimicrobial Activity of ZnO Nanoparticles against Pathogenic Bacteria and Fungi. *JSM Nanotechnol Nanomed*, v. 3, n. 1, 1033, 2015.
- NEDELJKOVLČ, J. M. *et al.* Synthesis and optical properties of quantum-size metal sulfide particles in aqueous solution. *Journal of Chemical Education*, v. 70, n. 4, p. 342–345, 1993.
- NEZAMABADI, V. *et al.* Biosynthesis and Antibacterial Activity of ZnO Nanoparticles by Artemisia Aucheri Extract. *Iranian J Biotech.*, v. 18, n. 2, p. e2426, 2020.
- NGOM, I. *et al.* Biosynthesis of zinc oxide nanoparticles using extracts of Moringa Oleifera: Structural & optical properties. *Materials Today: Proceedings*, v. 36, n. 2, p. 526–533, 2020.
- NOMAN, M.T.; PETRŮ, M. Functional properties of sonochemically synthesized zinc oxide nanoparticles and cotton composites. *Nanomaterials*, v. 10, n. 9, p. 1–14, 2020.
- NOORIAN, S. A.; HEMMATINEJAD, N.; NAVARRO, J. A. R. Ligand modified cellulose fabrics as support of zinc oxide nanoparticles for UV protection and antimicrobial activities. *Biological Macromolecules*, v. 154, p. 1215–1226, 2019.
- OTTER, J. A. *et al.* Transmission of SARS and MERS coronaviruses and influenza virus in healthcare settings: the possible role of dry surface contamination[star]. *Journal of Hospital Infection*, v. 92, n. 3, p. 235–250, 2015.
- OTTO, D. P.; VILLIERS, M. M. Layer-by-Layer Nanocoating of Antiviral Polysaccharides on Surfaces to Prevent Coronavirus Infections. *Molecules*, v. 25, n. 15, p. 3415, 2020.
- PADMAVATHY, N.; VIJAYARAGHAVAN, R. Enhanced bioactivity of ZnO nanoparticles-an antimicrobial study. *Science and technology of advanced materials*, v. 9, n. 3, 035004. 2008. doi: 10.1088/1468-6996/9/3/035004.
- PARASHAR, M.; KUMAR, V.; RANBIR, S. Metal oxides nanoparticles via sol – gel method : a review on synthesis , characterization and applications. *Journal of Materials Science: Materials in Electronics*, v. 31, p. 3729–3749, 2020.
- PASQUET, J. *et al.* Antimicrobial activity of zinc oxide particles on five micro-organisms of the Challenge Tests related to their physicochemical properties. *International Journal of Pharmaceutics*, v. 460, p. 92–100, 2014.
- PATHAK, T. K. *et al.* Influence of Ag, Au and Pd noble metals doping on structural, optical and antimicrobial properties of zinc oxide and titanium dioxide nanomaterials. *Heliyon*, v. 5, n. 3, e01333, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2019.e01333>.
- PATIL, A. H. *et al.* A new method for single step sonosynthesis and incorporation of ZnO nanoparticles in cotton fabrics for imparting antimicrobial property. *Chemical Papers*, v. 75, n. 3, p. 1247–1257, 2021.
- PETERSON, E.; KAUR, P. Antibiotic Resistance Mechanisms in Bacteria : Relationships Between Resistance Determinants of Antibiotic Producers , Environmental Bacteria , and Clinical Pathogens. *Frontiers in Microbiology*, v. 9, 2018.

<https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.02928>.

PINTARIC, L. M. *et al.* Synthesis, Modification and Characterization of Antimicrobial Textile Surface Containing ZnO Nanoparticles. *Polymers*, v. 12, n. 6, p. 1210, 2020.

POMASTOWSKI, P. *et al.* Zinc Oxide Nanocomposites—Extracellular Synthesis, Physicochemical Characterization and Antibacterial Potential. *Materials*, v. 13, n. 19, p. 4347, 2020.

PRADHAN, D. *et al.* A Review of Current Interventions for COVID-19 Prevention. *Archives of Medical Research*, v. 51, n. 5, p. 363–374, 2020.

PRASANNA, V. L.; VIJAYARAGHAVAN, R. Insight into the Mechanism of Antibacterial Activity of ZnO : Surface Defects Mediated Reactive Oxygen Species Even in the Dark. *Langmuir*, v. 31, n. 33, p. 9155–9162, 2015.

PREMANATHAN, Mariappan *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. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.nano.2010.10.001>>.

PUVVADA, R. U. *et al.* Bacterial Growth and Death on Cotton Fabrics Conformally Coated with ZnO Thin Films of Varying Thicknesses via Atomic Layer Deposition (ALD). *JOM*, v. 71, n. 1, p. 178–184, 2019.

RAGHUPATHI, K R.; KODALI, Ranjit T.; MANNA, Adhar C. Size-dependent bacterial growth inhibition and mechanism of antibacterial activity of zinc oxide nanoparticles. *Langmuir*, v. 27, n. 7, p. 4020–4028, 2011.

RAI, M. Nanobiotecnologia verde: biossínteses de nanopartículas metálicas e suas aplicações como nanoantimicrobianos. *Ciência e Cultura*, v. 65, n. 3, p. 44-48, 2013.

RAJENDRA, R. *et al.* Use of zinc oxide nano particles for production of antimicrobial textiles. *International Journal of Engineering, Science and Technology*, v. 2, n. 1, p. 202–208, 2010.

RAMIREZ-BARRON, S. N. *et al.* Preparation and characterization of gelatin-gallic acid/ZnO nanocomposite with antibacterial properties as a promising multi-functional bioadhesive for wound dressing applications. *International Journal of Adhesion and Adhesives*, v. 104, p. 102749, 2021.

RASMUSSEN, J. W. *et al.* Zinc oxide nanoparticles for selective destruction of tumor cells and potential for drug delivery applications. *Expert Opinion*, v. 7, n. 9, p. 1063–1077, 2010.

RASTGOO, M. *et al.* Materials Science in Semiconductor Processing. *Materials Science in Semiconductor Processing*, v. 66, p. 92–98, 2017.

RIBEIRO, A. I. *et al.* Antimicrobial Efficacy of Low Concentration PVP-Silver Nanoparticles Deposited on DBD Plasma-Treated Polyamide 6,6 Fabric. *Coatings*, v. 9, n. 9, p. 581, 2019.

ROJAS, E. R. *et al.* The outer membrane is an essential load-bearing element in Gram-negative bacteria. *Nature*, v. 559, p. 617–621, 2018.

ROY, T. S. *et al.* The Development of ZnO Nanoparticle Coated Cotton Fabrics for Antifungal and Antibacterial Applications. *Materials Sciences and Applications*, v. 11, p. 601–610, 2020.

RUDRAMURTHY, G. R. *et al.* Nanoparticles: Alternatives against drug-resistant pathogenic microbes. *Molecules*, v. 21, n. 7, p. 836, 2016.

- SAHA, R. *et al.* Psidium guajava leaf extract-mediated synthesis of ZnO nanoparticles under different processing parameters for hydrophobic and antibacterial finishing over cotton fabrics. *Progress in Organic Coatings*, v. 124, p. 80–91, 2018.
- SALIANI, M.; JALAL, R.; GOHARSHADI, E. K. Effects of pH and Temperature on Antibacterial Activity of Zinc Oxide Nanofluid Against E. coli O157: H7 and Staphylococcus aureus. *Jundishapur Journal of Microbiology*, v. 8, n. 2, p. 17115, 2015.
- SARTORI, M. *et al.* Transmission of Hepatitis C via Blood Splash into Conjunctiva. *Journal of Infectious Diseases*, v. 25, n. 2, p. 270–271, 1993.
- SAWAI, J. *et al.* Hydrogen Peroxide as an Antibacterial Factor in Zinc Oxide Powder Slurry. *JOURNAL OF FERMENTATION AND BIOENGINEERING*, v. 86, n. 5, p. 521–522, 1998.
- SAWAI, J.; YOSHIKAWA, T. Quantitative evaluation of antifungal activity of metallic oxide powders (MgO, CaO and ZnO) by an indirect conductimetric assay. *Journal of Applied Microbiology*, v. 96, n. 4, p. 803–809, 2004.
- SCHERRER, P. H. *et al.* The Solar Oscillations Investigation - Michelson Doppler Imager. *Solar Physics*, v. 162, p. 129–188, 1995.
- SELVAM, S.; MAHALINGAM, S. Functionalization of cotton fabric with PVP/ZnO nanoparticles for improved reactive dyeability and antibacterial activity. *Carbohydrate Polymers*, v. 87, n. 2, p. 1419–1424, 2012.
- SEVEN, O. *et al.* Solar photocatalytic disinfection of a group of bacteria and fungi aqueous suspensions with TiO₂, ZnO and sahara desert dust. *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry*, v. 165, p. 103–107, 2004.
- SHAHEEN, T. I. *et al.* Durable antibacterial and UV protections of in situ synthesized zinc oxide nanoparticles onto cotton fabrics. *International Journal of Biological Macromolecules*, v. 83, p. 426–432, 2016.
- SHARMA, R. K.; GHOSE, R. Synthesis of zinc oxide nanoparticles by homogeneous precipitation method and its application in antifungal activity against Candida albicans. *Ceramics International*, v. 41, n. 1, p. 967–975, 2014.
- SHINDE, V. V. *et al.* Surfactant free microwave assisted synthesis of ZnO microspheres: Study of their antibacterial activity. *Applied Surface Science*, v. 307, p. 495–502, 2014.
- SINGH, D. E. *et al.* A study of ZnO nanoparticles and ZnO-EG nanofluid. *Journal of Experimental Nanoscience*, v. 8, n. 5, p. 731–741, 2013.
- SINGH, G. *et al.* Evaluation of antibacterial activity of ZnO nanoparticles coated sonochemically onto textile fabrics. *Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences*, v. 2, n. 1, p. 106–120, 2012.
- 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.
- SONG, R.; LIU, Y.; HE, L. Synthesis and characterization of mercaptoacetic acid-modified ZnO nanoparticles. *Solid State Sciences*, v. 10, n. 11, p. 1563–1567, 2008.
- SOOSEN, S. M.; BOSE, L.; KC, G. OPTICAL PROPERTIES OF ZnO NANOPARTICLES. *Academic Review*, v. XVI, n. 1, p. 57–65, 2009.
- SORIA-CASTRO, M. *et al.* Broad spectrum antimicrobial activity of Ca(Zn(OH)₃)₂·2H₂O

and ZnO nanoparticles synthesized by the sol–gel method. *Journal of Sol-Gel Science and Technology*, v. 89, p. 284–294, 2019.

SOUMYA, S. *et al.* Silanated nano ZnO hybrid embedded PMMA polymer coatings on cotton fabrics for near-IR reflective, antifungal cool-textiles. *New Journal of Chemistry*, v. 40, n. 8, p. 7210–7221, 2016.

SOUZA, D. A.R. *et al.* In situ growth of ZnO nanostructures on cotton fabric by solochemical process for antibacterial purposes. *Journal of Nanomaterials*, v. 2018, 2018.

SPANHEL, L.; ANDERSON, M. A. Semiconductor Clusters in the Sol-Gel Process: Quantized Aggregation, Gelation, and Crystal Growth in Concentrated ZnO Colloids. *Journal of the American Chemical Society*, v. 113, p. 2826–2833, 1991.

STANIĆ, V.; TANASKOVIĆ, S. B. Antibacterial activity of metal oxide nanoparticles. *Nanotoxicity*, p. 242–274, 2020.

STONE, P. W. Economic burden of healthcare-associated infections: An American perspective. *Expert Review of Pharmacoeconomics and Outcomes Research*, v. 9, n. 5, p. 417–422, 2009.

SUETENS, C. *et al.* Prevalence of healthcare-associated infections, estimated incidence and composite antimicrobial resistance index in acute care hospitals and long-term care facilities: Results from two european point prevalence surveys, 2016 to 2017. *Eurosurveillance*, v. 23, n. 46, 2018.

SUN, Xiao Zhu *et al.* Development of antibacterial ZnO-loaded cotton fabric based on in situ fabrication. *Applied Physics A: Materials Science and Processing*, v. 122, n. 11, p. 1–9, 2016.

TALAM, S.; KARUMURI, S. R.; GUNNAM, N. Synthesis, Characterization, and Spectroscopic Properties of ZnO Nanoparticles. *ISRN Nanotechnology*, v. 2012, Article ID 372505, 2012. <https://doi.org/10.5402/2012/372505>

TANG, Q. *et al.* Preparation of porous antibacterial polyamide 6 (PA6) membrane with zinc oxide (ZnO) nanoparticles selectively localized at the pore walls via reactive extrusion. *Science of the Total Environment*, v. 715, p. 137018, 2020.

TANIA, Imana Shahrin; ALI, Mohammad. Effect of the coating of zinc oxide (ZnO) nanoparticles with binder on the functional and mechanical properties of cotton fabric. *Materials Today: Proceedings*, v. 38, p. 2607–2611, 2021. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.matpr.2020.08.171>>.

TAYEL, A. A. *et al.* Antibacterial action of zinc oxide nanoparticles against foodborne pathogens. *Journal of Food Safety*, v. 31, n. 2, p. 211–218, 2011.

TEIXEIRA, A. R.; FIGUEIREDO, A. F. C.; FRANÇA, R. F. Resistência Bacteriana Relacionada Ao Uso Indiscriminado De Antibióticos. *Revista Saúde em Foco*, n. 11, p. 853–875, 2019.

TERESHCHENKO, A. *et al.* Optical biosensors based on ZnO nanostructures: Advantages and perspectives. A review. *Sensors and Actuators, B: Chemical*, v. 229, p. 664–677, 2016.

TREMILIOSI, G. C *et al.* Ag nanoparticles-based antimicrobial polycotton fabrics to prevent the transmission and spread of SARS-CoV-2. *BioRxiv*, 2020. doi: <https://doi.org/10.1101/2020.06.26.152520>.

TURLYBEKULY, A. *et al.* Materials Science & Engineering C Synthesis , characterization , in vitro biocompatibility and antibacterial properties study of nanocomposite materials based

on hydroxyapatite- biphasic ZnO micro- and nanoparticles embedded in Alginate matrix. *Materials Science & Engineering C*, v. 104, n. July, p. 109965, 2019.

VALLEE, B. L.; FALCHUK, K. H. The biochemical basis of zinc physiology. *Physiological Reviews*, v. 73, n. 1, p. 79–118, 1993.

VAN DIJKEN, A.; MAKKINJE, J.; MEIJERINK, A. The influence of particle size on the luminescence quantum efficiency of nanocrystalline ZnO particles. *Journal of Luminescence*, v. 92, n. 4, p. 323–328, 2001.

VANHEUSDEN, K. *et al.* Mechanisms behind green photoluminescence in ZnO phosphor powders Mechanisms behind green photoluminescence in ZnO phosphor powders. *American Institute of Physics*, v. 79, p. 7983, 2011.

VERBIČ, A.; GORJANC, M.; SIMONČIČ, B. Zinc oxide for functional textile coatings: Recent advances. *Coatings*, v. 9, n. 9, p. 550, 2019.

VERMA, S. K. *et al.* Molecular aspects of core-shell intrinsic defect induced enhanced antibacterial activity of ZnO nanocrystals. *Nanomedicine*, v. 13, n. 1, p. 43–68, 2017.

VISNAPUU, M. *et al.* UVA-induced antimicrobial activity of ZnO/Ag nanocomposite covered surfaces. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, v. 169, p. 222–232, 2018.

WAINER, P. *et al.* Continuous Growth Synthesis of Zinc Oxide Nanocrystals with Tunable Size and Doping. *Chemistry of Materials*, v. 31, n. 23, p. 9604–9613, 2019.

WANG, C. *et al.* Cotton fabric with plasma pretreatment and ZnO/Carboxymethyl chitosan composite finishing for durable UV resistance and antibacterial property. *Carbohydrate Polymers*, v. 138, p. 106–113, 2016.

WANG, L.; HU, C.; SHAO, L. The antimicrobial activity of nanoparticles : present situation and prospects for the future. *International Journal of Nanomedicine*, v. 12, p. 1227–1249, 2017.

WANG, Y. *et al.* Fabrication of antibacterial casein-based ZnO nanocomposite for flexible coatings. *Materials and Design*, v. 113, p. 240–245, 2017.

WONG, Y. W.H. *et al.* Selected applications of nanotechnology in textiles. *Autex Research Journal*, v. 6, n. 1, p. 1-8, 2006.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. Recomendações sobre o uso de máscaras no contexto da COVID-19. p. 1–17, 2020.

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.

XIONG, Huan-Ming. ZnO Nanoparticles Applied to Bioimaging and Drug Delivery. *Advanced Materials*, v. 25, n. 37, p. 5329–5335, 2013.

XU, X. *et al.* Antimicrobial Mechanism Based on H₂O₂ Generation at Oxygen Vacancies in ZnO Crystals. *Langmuir*, v. 29, n. 18, p. 5573–5580, 2013.

YANG, L. *et al.* Mechanism of Photogenerated Reactive Oxygen Species and Correlation with the Antibacterial Properties of Engineered. *ACS Nano*, v. 6, n. 6, p. 5164–5173, 2012.

YETISEN, A. K. *et al.* Nanotechnology in Textiles. *ACS Nano*, v. 10, n. 3, p. 3042–3068, 2016.

YOUSEF, J. M.; DANIAL, E. N. In Vitro Antibacterial Activity and Minimum Inhibitory

Concentration of Zinc Oxide and Nano-particle Zinc oxide Against Pathogenic Strains. *Journal of Health Sciences*, v. 2, n. 4, p. 38–42, 2012.

YU, J. *et al.* Synthesis, characterization, antimicrobial activity and mechanism of a novel hydroxyapatite whisker/nano zinc oxide biomaterial. *Biomedical Materials*, v. 10, n. 1, p. 15001, 2015.

YUSOF, N. A. A.; ZAIN, N. M.; PAUZI, N. Synthesis of ZnO nanoparticles with chitosan as stabilizing agent and their antibacterial properties against Gram-positive and Gram-negative bacteria. *International Journal of Biological Macromolecules*, v. 124, p. 1132–1136, 2019.

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, p. 939–944, 2008.

ZHANG, Zheng Yong; XIONG, Huan Ming. Photoluminescent ZnO nanoparticles and their biological applications. *Materials*, v. 8, n. 6, p. 3101–3127, 2015.

ZHU, Ping *et al.* *Biomedical Applications of Functionalized ZnO Nanomaterials: From Biosensors to Bioimaging. Advanced Materials Interfaces*. [S.l: s.n.], , 2016

ZILLE, A. *et al.* Size and Aging Effects on Antimicrobial Efficiency of Silver Nanoparticles Coated on Polyamide Fabrics Activated by Atmospheric DBD Plasma. *ACS Applied Materials and Interfaces*, v. 7, n. 25, p. 13731–13744, 2015.

ZEGAOUI, O.; MOUKRAD, N.; DAOU, I.; RHAZI FILALI, F.; LOUAZRI, L.; AHLAFI, H. Study of the influence of the shape and size of the ZnO nanoparticles synthesized from different precursors on the antibacterial activity. *Journal of Advances in Chemistry*, v. 10, n. 2, p. 2146–2161, 2014.

ZOHOORI, S.; KARIMI, L.; AYAZIYAZDI, S. A novel durable photoactive nylon fabric using electrospun nanofibers containing nanophotocatalysts. *Journal of Industrial and Engineering Chemistry*, v. 20, n. 5, p. 2934–2938, 2013.