

**UNIVERSIDADE ESTADUAL DO PIAUÍ**  
CENTRO DE CIÊNCIAS DA NATUREZA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

**INATIVAÇÃO FOTOELETROQUÍMICA DE  
MICROORGANISMOS SOBRE FILMES DE ÓXIDO DE  
ZINCO DOPADO COM NITROGÊNIO**

**MARIA KARINA DA SILVA**

**ORIENTADOR(A): PROF. DR. REGINALDO DA SILVA SANTOS**

Teresina – PI  
2023

**UNIVERSIDADE ESTADUAL DO PIAUÍ**

**CENTRO DE CIÊNCIAS DA NATUREZA**

**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA**

**INATIVAÇÃO FOTOELETROQUÍMICA DE  
MICRORGANISMOS SOBRE FILMES DE ÓXIDO DE  
ZINCO DOPADO COM NITROGÊNIO**

**MARIA KARINA DA SILVA**

Dissertação/Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Estadual do Piauí, como parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Mestre/Doutor em Química – Área de concentração: Química  
Orientador(a): Prof. Dr. Reginaldo da Silva Santos

Teresina – PI

2023

# INATIVAÇÃO FOTOELETROQUÍMICA DE MICRORGANISMOS SOBRE FILMES DE ÓXIDO DE ZINCO DOPADO COM NITROGÊNIO

MARIA KARINA DA SILVA

Dissertação/Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Estadual do Piauí, como parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Mestre/Doutor em Química – Área de concentração: Química.

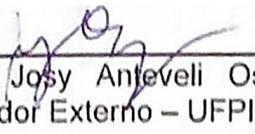
Aprovado em 20 de Dezembro de 2023.

Membros da Banca:



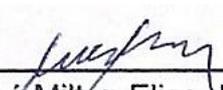
---

Prof. Dr. Reginaldo da Silva Santos  
(Presidente da Banca – UESPI)



---

Profa. Dra. Josy Antevéli Osajima Furtini  
(Examinador Externo – UFPI)



---

Prof. Dr. José Milton Elias de Matos  
(Examinador Externo – UFPI)

---

Prof(a). Dr(a). Marcio Aurélio Pinheiro Almeida  
(Membro Suplente – UFMA)

Teresina – PI

2023

*Este trabalho é dedicado aos meus pais, Celso de Moura e Lúcia Ferreira.*

## AGRADECIMENTOS

---

- ❖ Agradeço aos meus pais, Celso de Moura e Lucia Ferreira, por serem meu alicerce e maiores incentivadores da minha vida acadêmica e profissional. Obrigada por estarem presentes nesse processo de amadurecimento e qualificação, sem vocês nada disso seria possível.
- ❖ Agradeço ao meu orientador, Prof. Dr. Reginaldo da Silva Santos por ser um educador admirável, pela orientação ao longo desses dois anos, por todos os conhecimentos repassados e pela oportunidade de fazer parte de seu grupo de pesquisa. Serei eternamente grata.
- ❖ Agradeço a minha irmã, sobrinha, tia e primos: Adriana Kelly, Laura Silva, Lucélia, Rogean e Gabriel por sempre estarem comigo.
- ❖ Agradeço a minha namorada, Caroline Maria Vasconcelos que durante toda essa etapa respeitou meu tempo de aprendizagem, me aconselhou, me acolheu com muito carinho e me incentivou, sempre.
- ❖ Agradeço a minha amiga, Natasha Alves Rocha, por compartilhar esse sonho de mestrado comigo, proporcionando muitos momentos especiais de diversão e trocas sinceras.
- ❖ Agradeço ao grupo de pesquisa GrEEnteC composta por pessoas incríveis que me proporcionaram muita amizade, companheirismo, apoio e muita diversão.
- ❖ Agradeço ao laboratório GERATEC e aos laboratórios parceiros: Departamento de parasitologia e química – UFPI em especial, a Profa. Dra. Gírlene Soares de Figueiredo.
- ❖ Agradeço a UESPI por ter me acolhido durante sete anos.

*“O correr da vida embrulha tudo, a vida é assim:  
esquenta e esfria, aperta e daí afrouxa, sossega e  
depois desinquieta. O que ela quer da gente é  
coragem.”*

*(Guimarães Rosa)*

## RESUMO

SILVA, M.K. **Inativação fotoeletroquímica de microrganismos sobre filmes de óxido de zinco dopado com nitrogênio** 2023. 62 p. Dissertação (Mestrado em Química) – Universidade Estadual do Piauí. Teresina.

O óxido de zinco (ZnO) é um semicondutor do tipo-n que tem sido investigado em diversas áreas, incluindo tecnologias modernas envolvendo tratamento de água, dispositivos fotovoltaicos, inibição de bactérias e fungos. As propriedades ópticas e catalíticas do ZnO podem ser alteradas pela introdução de dopantes na rede cristalina semicondutora. Neste estudo, investigamos as propriedades estruturais, ópticas e fotoeletroquímicas de filmes de ZnO e ZnO dopados com nitrogênio (ZnO:N), preparados por rota eletroquímica. Os filmes foram preparados com diferentes concentrações de dopagem, com base no controle do fluxo de N<sub>2</sub> utilizado durante a síntese (20, 40 e 60 cm<sup>3</sup> min<sup>-1</sup>). Os padrões de difração de raios X mostraram que os filmes de ZnO e ZnO:N, após tratamento térmico, possuem uma estrutura wurtzita. A presença de nitrogênio alterou os valores de energia de banda proibida (*band gap* - E<sub>bg</sub>) de 3,34 para 3,17 eV, estimados pelo método Wood-Tauc, para amostras de ZnO e ZnO:N, respectivamente. Estudos fotoeletroquímicos mostraram densidade de fotocorrente superior para ZnO:N em comparação ao filme de ZnO, que atingiu 60 μA cm<sup>-2</sup> a 0,70 V (vs. Ag/AgCl). Curvas de cronopotenciometria mostraram que todos os filmes possuem comportamento de semicondutores do tipo-n, adequados para aplicações em processos de oxidação. Os potenciais de banda plana das amostras de ZnO e ZnO:N indicam que os eletrodos possuem potenciais adequados para formação de espécies reativas de oxigênio, capazes inativar os micro-organismos. Nos testes de atividade antimicrobiana, todos os filmes de ZnO:N inibiram a bactéria *Staphylococcus aureus*. Para *Escherichia coli*, os filmes ZnO:N-40 e ZnO:N-60 exibiram uma melhor atividade inibitória. Na avaliação da atividade antifúngica contra a levedura *Candida albicans*, o filme ZnO:N-40 demonstrou a melhor inibição.

**Palavras-chave:** Filmes de ZnO dopados com N; eletrodeposição; atividade antibacteriana; antifúngico.

## ABSTRACT

Zinc oxide (ZnO) is an n-type semiconductor that has been investigated in various fields, including modern technologies involving water treatment, photovoltaic devices, and inhibition of bacteria and fungi. The optical and catalytic properties of ZnO can be altered by introducing dopants into the semiconductor crystal lattice. In this study, we investigated the structural, optical, and photoelectrochemical properties of ZnO films and nitrogen-doped ZnO (ZnO:N) films prepared by electrochemical deposition. The films were prepared with different doping concentrations, based on the control of the N<sub>2</sub> flow during synthesis (20, 40, and 60 cm<sup>3</sup> min<sup>-1</sup>). X-ray diffraction patterns showed that both ZnO and ZnO:N films, after thermal treatment, have a wurtzite structure. The presence of nitrogen altered the values of the bandgap energy ( $E_{bg}$ ) from 3.34 to 3.17 eV, estimated by the Wood-Tauc method, for ZnO and ZnO:N samples, respectively. Photoelectrochemical studies showed higher photocurrent density for ZnO:N compared to ZnO films, reaching 60  $\mu\text{A cm}^{-2}$  at 0.70 V (vs. Ag/AgCl). Chronopotentiometry curves demonstrated that all films exhibit n-type semiconductor behavior, suitable for oxidation processes. The flat-band potentials of ZnO and ZnO:N samples indicate that the electrodes have suitable potentials for generating reactive oxygen species capable of inactivating microorganisms. In antimicrobial activity tests, all ZnO:N films inhibited *Staphylococcus aureus*. For *Escherichia coli*, ZnO:N-40 and ZnO:N-60 films exhibited better inhibitory activity. In the evaluation of antifungal activity against the yeast *Candida albicans*, the ZnO:N-40 film demonstrated the best inhibition.

**Keywords:** N-doped ZnO films; electrodeposition; antibacterial activity; antifungal.

## LISTA DE FIGURAS

---

- Figura 2.1.** Estrutura Cristalina Wurtizita do ZnO: a) vista lateral, b) vista superior.. 19
- Figura 2.2.** Representação esquemática de um diagrama de bandas para semicondutores extrínsecos (a) um intrínseco (b) do tipo n e (c) do tipo p .....21
- Figura 2.3.** Dopagem substitucional e intersticial do nitrogênio na estrutura do ZnO .....23
- Figura 2.4.** Esquema da comparação das estruturas de bandas de ZnO puro, ZnO dopado com metal e ZnO dopado com não metal.....24
- Figura 2.5.** Composição geral da estrutura das bactérias .....26
- Figura 2.6.** Ilustração dos possíveis mecanismos de ZnO .....27
- Figura 2.7.** Ilustração esquemática do mecanismo de degradação bacteriana fotocatalítica do ZnO .....28
- Figura 3.1.** Representação esquemática do processo de síntese eletroquímica por deposição potencioestática para a obtenção de filmes de ZnO .....32
- Figura 4.1.** Padrões de DRX de (a) filmes de ZnO calcinados a 100, 200, 400 e 600 °C; (b) filmes de ZnO:N (20, 40 e 60 cm<sup>3</sup> min<sup>-1</sup>) calcinados a 600 °C. As linhas verticais (|) indicando a posição dos planos do ZnO hexagonal ..36
- Figura 4.2.** Imagens de FE-SEM: a) filmes de ZnO, b) filmes de ZnO:N calcinados a 600°C .....38
- Figura 4.3.** (a) Curvas de transmitância UV-Vis para os filmes finos ZnO calcinados a 100°C, 200°C, 400°C e 600°C, (b) Estimativa da E<sub>bg</sub> pelo método de TAUC para o ZnO, (c) Curvas de transmitância para filmes de ZnO dopado à 20, 40 e 60 cm<sup>3</sup>/min (d) Estimativa da E<sub>bg</sub> para ZnO dopado.....39
- Figura 4.4.** Voltamogramas cíclicos com curvas no escuro e irradiado, coletados a uma varredura 10 mV s<sup>-1</sup> (a) eletrodos de ZnO em diferentes temperaturas (100, 200, 400 °C e 600 °C) e (b) eletrodos de ZnO:N com fluxos de 20, 40, 60 cm<sup>3</sup> /min tratados termicamente a 600 °C .....41
- Figura 4.5.** As curvas cronopotenciométricas dos filmes ZnO e ZnO:N no intervalo escuro-claro-escuro sob a condição de Potencial de Circuito Aberto (corrente zero).....43
- Figura 4.6.** Curvas de densidade de fotocorrente-tempo com interrupção manual de luz a cada 300 s, sob aplicação de potencial de 0,7 V vs. Ag/AgCl para filmes de ZnO e ZnO:N e tempos de decaimento transiente.....44
- Figura 4.7.** Voltagramas de varredura linear (LSV) dos filmes de (a) ZnO e (b) ZnO:N 40 cm<sup>3</sup>/min a 600 °C, sob iluminação sequencial de chopper de 10 s com faixa de potencial anódico de -0,1 - 1,0 V (vs. Ag/AgCl) com uma taxa de varredura de 1,0 mV s<sup>-1</sup>. *Inset:* curvas J<sup>2</sup> vs. V pelo modelo de Butler-Gärtner. ....46

<b>Figura 4.8.</b> Posição das bordas das bandas de valência (BV) e condução (BC) para os filmes finos de ZnO e ZnO:N. ....	47
<b>Figura 4.9.</b> Número de colônias crescidas após semeio em: (A, B) controle do crescimento do S.aureus no escuro e irradiado, (C, D) controle do crescimento da E.coli no escuro e irradiado, (E, F) colônias do S.aureus com ZnO 600°C escuro e irradiado, (G, H) colônias do E.coli com ZnO 600°C escuro e irradiado, (I, J) colônias do S.aureus com ZnO:N-20 escuro e irradiado, (K, L) colônias do E.coli com ZnO:N-20 escuro e irradiado, (M, N) colônias do S.aureus com ZnO:N-40 escuro e irradiado, (O, P) colônias do E.coli com ZnO:N-40 escuro e irradiado, (Q, R) colônias do S.aureus com ZnO:N-60 escuro e irradiado, (S, T) colônias do E.coli com ZnO:N-60 escuro e irradiado, respectivamente .....	49
<b>Figura 4.10.</b> Número de colônias crescidas após semeio em: (A, B) controle do crescimento do C. albicans no escuro e irradiado, (C, D) colônias do C. albicans com ZnO 600°C escuro e irradiado, (E, F) colônias do C. albicans com ZnO:N-20 escuro e irradiado, (G, H) colônias do C. albicans com ZnO:N-40 escuro e irradiado, (I, J) colônias do C. albicans com ZnO:N-60 escuro e irradiado, respectivamente .....	52

## LISTA DE TABELAS

---

- Tabela 4.1.** Valores de fotopotencial ( $\Delta E$ ) de ZnO e ZnO:N. **Indicador não definido.**
- Tabela 4.2.** Atividade bactericida dos filmes de ZnO e ZnO:N (20, 40, 60 cm<sup>3</sup>/min), sob condições de escuro e irradiado contra *S.aureus* e *E.coli*.....50
- Tabela 4.3.** Atividade fungicida dos filmes de ZnO e ZnO:N (20, 40, 60 cm<sup>3</sup>/min), sob condições de escuro e irradiado contra *C. albicans*.....51

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

---

$\lambda$  - Comprimento de onda;

**BC** - Banda de condução;

**BV** - Banda de valência;

**e<sup>-</sup> /h<sup>+</sup>** - Par elétron/lacuna;

**E<sub>bg</sub>** - Energia de banda proibida;

**E<sub>F</sub>** – Potencial de Fermi;

**E<sub>fb</sub>** - Potencial de banda plana (*flat band*);

**ROS** - Espécies reativas do oxigênio;

**BHI** - *Brain Heart Infusion*

**Vidro-FTO** - Vidro condutor transparente de óxido de estanho dopado com flúor

## SUMÁRIO

---

<b>CAPÍTULO 1 - INTRODUÇÃO.....</b>	<b>15</b>
1.1 Introdução .....	15
1.2 Objetivos .....	18
1.4.1 Gerais .....	18
1.4.2 Específicos .....	18
<b>CAPÍTULO 2 – REFERENCIAL TEÓRICO .....</b>	<b>31</b>
2.1 Óxido de Zinco: Estrutura e Propriedades.....	19
2.2 Estratégias de modificações de óxidos semicondutores ....	20
<b>Erro! Indicador não definido.</b>	
2.2.1 Dopagem.....	20
2.2.2 Dopagem com Nitrogênio.....	22
2.3 Aplicações do ZnO .....	25
2.3.1 Atividade Antibacteriana.....	25
2.3.2 Atividade Antifúngica.....	29
<b>CAPÍTULO 3 – METODOLOGIA EXPERIMENTAL .....</b>	<b>31</b>
3.1 Materiais utilizados.....	31
3.2 Limpeza do substrato .....	31
3.3 Síntese Eletroquímica dos Filmes de ZnO e ZnO:N.....	31
3.4 Caracterização dos filmes de ZnO e ZnO:N.....	33
3.4.1 Difração de raio-X.....	33
3.4.2 Caracterização Morfológica.....	33
3.4.3 Estimativa da Energia de Band Gap (E <sub>bg</sub> ) .....	33
3.4.4 Medidas Fotoeletroquímicas.....	33
3.4.5 Investigação da Atividade dos filmes na inativação dos microrganismos.....	34
<b>CAPÍTULO 4 – RESULTADOS E DISCUSSÃO.....</b>	<b>36</b>
4.1 Propriedades Estruturais dos filmes de ZnO e ZnO:N .....	36
4.4.1 Difração de raio-X.....	36
4.4.2 Propriedades morfológicas dos filmes de ZnO e ZnO: N.....	38
4.2 Estimativa da Energia de band gap para os filmes de ZnO e ZnO:N .....	38

4.3 Propriedades fotoeletroquímicas .....	40
4.3 Avaliação da Atividade Antimicrobiana de Filmes de ZnO e ZnO:N.....	48
<b>CAPÍTULO 4 – CONSIDERAÇÕES FINAIS.....</b>	<b>54</b>
<b>CAPÍTULO 5 – REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>56</b>

# Capítulo 1

## INTRODUÇÃO

---

### 1.1 Introdução

A presença de microrganismos patogênicos tais como bactérias e fungos em superfícies de materiais se apresenta como um desafio, do ponto de vista econômico e da saúde pública. Recentemente, a pandemia causada pelo SARS-CoV-2 despertou interesse em estudos de materiais capazes de manter superfícies e ambientes higienizados <sup>[1]</sup>. Assim, superfícies de alto contato humano apresentam muitas possibilidades de transmissão microbiana. Embora muitos métodos de limpeza e produtos desinfetantes apresentem um efeito imediato eficaz, as superfícies limpas tendem a ser contaminadas rapidamente.<sup>[2]</sup> Desse modo, há esforços direcionados para fortalecer a prevenção, por meio do desenvolvimento de revestimentos antibacterianos com compostos orgânicos naturais e sintéticos formados por substâncias inorgânicas.<sup>[3]</sup> Recentemente, BIRKETT et al.<sup>[4]</sup> discutiram que estes revestimentos, quando aplicados em superfícies de alto contato em ambientes de saúde tais como hospitais, são eficazes na redução contra infecções.

Avanços recentes na área de ciência dos materiais têm apresentado pesquisas com semicondutores com potenciais de inibir bactérias, vírus e outros agentes patogênicos. Dentre os compostos semicondutores com essa atividade, destacam-se os compostos que contém prata,<sup>[5,6]</sup> ouro, <sup>[7,8]</sup> titânio <sup>[9,10]</sup>, cobre <sup>[11]</sup> e zinco <sup>[12,13]</sup> em sua composição. O óxido de zinco (ZnO) é um semicondutor do tipo-n, com uma banda de energia proibida (*band gap* -  $E_{bg}$ ) de 3,37 eV e com uma alta energia de ligação de excitação de 60 meV, <sup>[14]</sup> podendo ser encontrada com dois tipos de estruturas: cúbica ou hexagonal (wurtzita). A fase hexagonal é a mais estável termodinamicamente em temperatura ambiente <sup>[15]</sup> e exibe propriedades importantes, que incluem preço baixo, alta atividade fotocatalítica e baixa toxicidade.<sup>[16]</sup> Devido sua alta atividade antimicrobiana, o ZnO representa uma ameaça potencial aos microrganismos ambientais, visto que se trata de um dos agentes antibacterianos

promissor e eficaz contra bactérias Gram-negativas e Gram-positivas.<sup>[17,18]</sup> O ZnO é comumente encontrado em formulações farmacêuticas, como base na composição de pomadas para assaduras de crianças e medicações para tratamento de queimaduras. Neste contexto, recentemente, nosso grupo de pesquisas investigou formulação contendo ZnO, nanopartículas de prata (AgNP) e extrato de Ameixa brava, que foi aplicado no tratamento de ferimentos provocados por queimaduras.<sup>[19]</sup>

Estudos indicaram que diversos materiais contendo ZnO apresentaram atividade contra *Staphylococcus aureus*,<sup>[20]</sup> *Escherichia coli*,<sup>[21]</sup> *Candida albicans*<sup>[22]</sup> e outras cepas. A *S. aureus* é uma bactéria Gram-positiva amplamente difundida e perigosa no organismo, capaz de desencadear várias infecções. Conhecida como a principal causa de infecções hospitalares, apresentando uma ameaça significativa, transmitida por equipamentos contaminados ou fontes ambientais.<sup>[23,24]</sup> A bactéria Gram-negativa *Escherichia coli*, é considerado uma das principais causas de doenças diarreicas e o indicador mais amplamente utilizado de contaminação fecal na água potável. Sendo um patógeno comum, está relacionada a infecções comunitárias e hospitalares, podendo resultar em diversas infecções intestinais e extraintestinais.<sup>[25]</sup> O fungo *C. albicans* é responsável por infecções hospitalares, causando morbidade e mortalidade significativas. Demonstra a capacidade de colonizar diversos tecidos, como a pele, superfícies mucosas, cavidade oral, vagina e trato gastrointestinal, causando infecções mucosas recorrentes e infecções contagiosas com potencial risco de vida e alta taxa de mortalidade.<sup>[26,27]</sup>

A dopagem vem sendo estudada como um método para melhorar as propriedades dos filmes finos de ZnO. Assim, dopantes seletivos adicionados ao ZnO oferecem uma rota significativa para controlar e aprimorar seus efeitos ópticos, elétricos, estruturais, térmicas e biológicas.<sup>[28,29]</sup> A dopagem é realizada incorporando metais e não-metais na estrutura cristalina. Em comparação, a dopagem não metálica se mostra mais eficiente do que dopantes metálicos, devido sua boa estabilidade e uma melhor separação de elétron/buraco. Nesse contexto, o nitrogênio (N) vem sendo considerado uma impureza adequada por apresentar semelhanças nas eletronegatividades e raios iônicos de N e O.<sup>[30]</sup> GUPTA *et al.*<sup>[31]</sup> descreve o ZnO dopado com N através de uma síntese de combustão seguida de um método hidrotérmico para aplicações antibacterianas, resultando em uma atividade fotocatalítica aprimorada contra *Escherichia coli*.

Filmes finos de ZnO dopados e não dopados podem ser obtidos por diferentes metodologias, que incluem sol-gel,<sup>[32]</sup> hidrotermal,<sup>[33]</sup> *magnetron sputtering* de radiofrequência,<sup>[34]</sup> *spray* pirólise,<sup>[35]</sup> solvotermal.<sup>[36]</sup> Em estudo anterior, nosso grupo de pesquisa preparou filmes de ZnO:N por método eletroquímico, que exibiram atividade fotocatalítica superior para a oxidação do corante Rodamina B em solução aquosa. Os estudos desenvolvidos por Reis *et al.* <sup>[37]</sup> indicam que o material dopado com nitrogênio apresenta atividade catalítica e estabilidade superiores. Assim, esta pesquisa tem como objetivo estudar a produção de filmes de ZnO e ZnO:N com base no método investigado anteriormente por nosso grupo de pesquisa. Os filmes (eletrodos) preparados em nosso estudo foram investigados como material para inativação de uma bactéria Gram-positiva (*Staphylococcus aureus*), bactéria Gram-negativa (*Escherichia coli*) e uma espécie de levedura, fungo unicelular (*Candida albicans*), na ausência de luz (escuro) e sob irradiação com uma fonte de luz policromática. Até onde sabemos, este é o primeiro estudo sobre a atividade biocida de eletrodos de ZnO dopados com nitrogênio (ZnO:N) com o objetivo de inativar microrganismos.

## 1.2 Objetivos

### 1.2.1 Objetivo Geral

Investigar a atividade biocida de filmes de óxido de zinco dopado com Nitrogênio para inativação das cepas de microrganismos.

### 1.2.2 Objetivos específicos

- Sintetizar os filmes de ZnO e ZnO:N por rota eletroquímica em substrato condutor de vidro-FTO a partir da técnica de cronoamperometria;
- Caracterizar a cristalinidade das amostras (filmes) preparados sobre vidro condutor;
- Investigar as propriedades ópticas dos filmes dos óxidos pelas técnicas de UV-Vis;
- Avaliar as propriedades eletroquímicas dos filmes nas condições de escuro e sob irradiação policromática;
- Investigar o desempenho dos filmes de ZnO e ZnO:N para inativar os microrganismos: bactéria Gram-positiva *Staphylococcus aureus* (ATCC-25923), a bactéria Gram-negativa *Escherichia coli* (ATCC-25922) e a levedura *Candida albicans* (ATCC -10231).

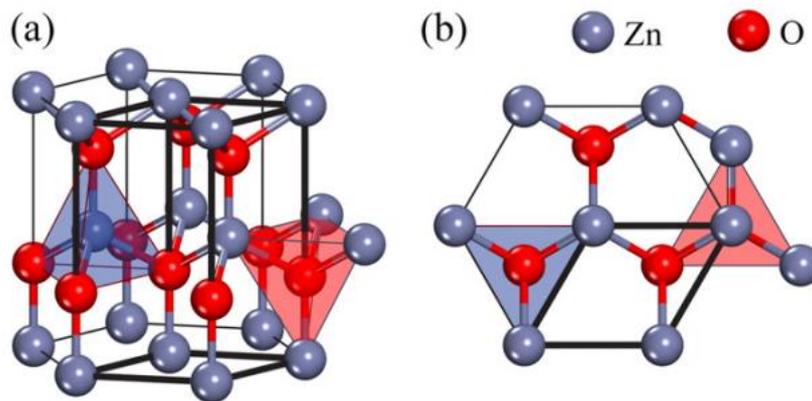
# Capítulo 2

## REFERENCIAL TEÓRICO

---

### 2.1 ÓXIDO DE ZINCO: ESTRUTURA E PROPRIEDADES

O óxido de zinco (ZnO) é classificado como um óxido semiconductor do grupo II-IV da tabela periódica, exibindo uma ionicidade na fronteira entre os semicondutores covalente e iônico. Suas estruturas cristalinas mais encontradas são a hexagonal (wurtzita), sal-gema e zinco blenda. Em condições normais de pressão e temperatura, a estrutura cristalina wurtzita é termodinamicamente mais estável, <sup>[38]</sup> conforme ilustrada na Figura 2.1. A maioria dos semicondutores de compostos binários do grupo II-IV cristaliza na estrutura cúbica zinco blenda ou wurtzita. <sup>[39]</sup>



**Figura 2.1.** Estrutura Cristalina Wurtizita do ZnO: a) vista lateral, b) vista superior (Adptada de SAMADI. M, *et al.* 2016 <sup>[40]</sup>)

A estrutura cristalina wurtzita, pertence ao grupo de simetria  $C^{4}_{6v}$  e ao grupo espacial  $p6_{3mc}$ , apresenta uma configuração de ligação tetraédrica, ou seja, os átomos de zinco ( $Zn^{2+}$ ) são coordenados tetraedricamente a quatro átomos de oxigênio ( $O^{2-}$ ), e vice-versa. Essa configuração tetraédrica do composto é característica de ligações covalentes do tipo  $sp^3$ . <sup>[39,41]</sup>

O ZnO é considerado um material semicondutor do tipo-n, com uma energia de banda proibida na faixa de 3,3 a 3,4 eV. <sup>[37]</sup> Disposto de uma foto-atividade para radiação com  $\lambda < 380$  nm, com absorção na região do ultravioleta (UV), o que corresponde a 5% do espectro da energia solar. <sup>[42]</sup> Uma característica particularmente interessante é sua alta energia de ligação de excitação de 60 meV, permite uma emissão excitônica eficiente à temperatura ambiente. <sup>[43,44]</sup> Além de, possuir excelentes propriedades optoeletrônicas, piezelétricas, biocompatibilidade, baixa toxicidade e estabilidade térmica e alta atividade antimicrobiana. O ZnO representa uma ameaça potencial aos microrganismos ambientais, visto que se trata de um dos agentes antibacterianos promissor e eficaz contra bactérias Gram-negativos e Gram-positivos. <sup>[17,18,30]</sup>

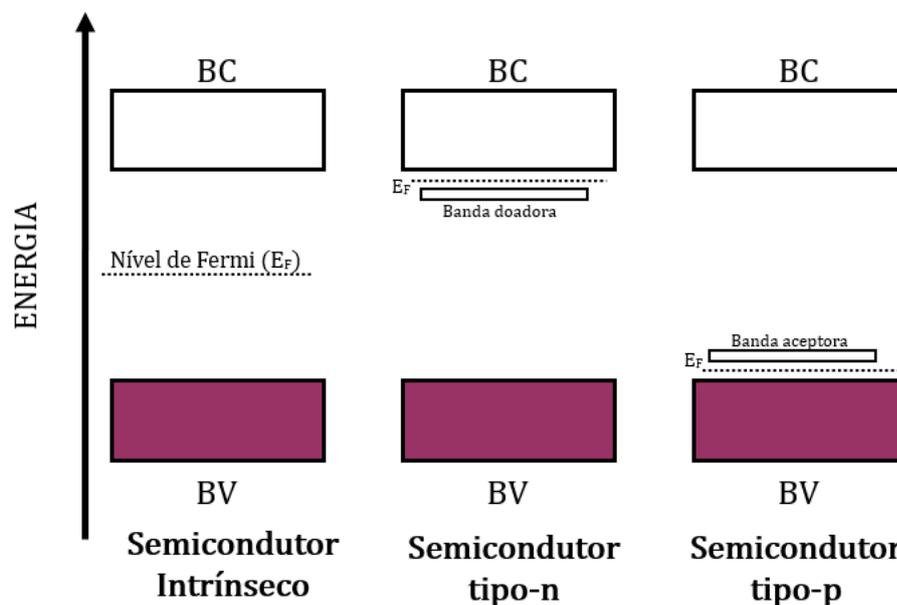
No entanto, a principal desvantagem do ZnO é sua baixa atividade fotocatalítica sob luz visível, o que limita a eficiência desse material em possíveis aplicações. Portanto, muitos esforços têm sido feitos para estender a absorbância de ZnO para a região da luz visível e simultaneamente reduzir a recombinação de portadores fotogerados. Considerando o aproveitamento da radiação solar pelo ZnO, estudos têm apresentado estratégias que propõe a modificações das propriedades ópticas desse semicondutor. Dentre as estratégias pode-se destacar a mistura de óxidos com a formação de compósitos, <sup>[45]</sup> modificação de superfície por impregnação de metal <sup>[46]</sup> e inserção de impurezas ou dopagem do óxido com íons metálicos <sup>[47]</sup> ou de não metais. <sup>[48]</sup>

## **2.2 ESTRATÉGIAS DE MODIFICAÇÕES DE ÓXIDOS SEMICONDUTORES**

### **2.2.1 DOPAGEM**

O processo de dopagem de um semicondutor se dá através da adição de uma pequena quantidade de impureza, de forma que altera determinadas propriedades do semicondutor. Assim, é uma estratégia de modificação de propriedades ópticas, elétricas e magnéticas. <sup>[49]</sup>

Através da dopagem de um semicondutor, a posição do nível de Fermi ( $E_F$ ) e a sua estrutura eletrônica são alteradas. Desse modo, existem dois tipos de semicondutores, os quais são intrínsecos e extrínsecos. Os semicondutores intrínsecos não possuem impurezas, apresentando um comportamento elétrico relacionando a estrutura de um material puro. O nível de Fermi deste material encontra-se localizado na metade do intervalo entre as bordas de banda de valência (BV) e banda de condução (BC). Os semicondutores extrínsecos são obtidos pela adição de impurezas (dopantes) na sua rede cristalina, podem ser do tipo-n ou do tipo-p. Em semicondutores extrínsecos do tipo-n, o  $E_F$  localiza-se próximo à BC do semicondutor, ou seja, o dopante fornece elétrons, sendo considerado uma impureza doadora. Para os semicondutores do tipo-p, o  $E_F$  localiza-se logo acima da BV do semicondutor, ocorrendo a adição de uma impureza acceptora de elétrons. <sup>[50]</sup> Na figura 2.2 é representando um esquema da estrutura de banda de energia para um semicondutor intrínseco e extrínseco.



**Figura 2.2.** Representação esquemática de um diagrama de bandas para semicondutores extrínsecos (a) um intrínseco (b) do tipo n e (c) do tipo p (Adptada de BACCARO, A. *et al.* 2018<sup>[51]</sup>)

A inserção de níveis intermediários entre as bandas de condução e valência em um semicondutor pode ser realizado através da incorporação de impurezas de espécies metálicas e não-metálicas.

A dopagem com metais contribui para um melhor desempenho em aplicações fotocatalíticas, além de produzir níveis aceitadores de elétrons e limitar a recombinação de pares elétron-buraco fotogerados no processo de fotodegradação, também alteram o ambiente interno do cristal de ZnO, o que pode ajustar a estrutura de banda e aumentar a absorção de luz. [52,53]

PENG. *et al.* [54] descreve a síntese de fotocatalisadores de ZnO dopados com íons  $\text{Li}^+$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Al}^{3+}$  e  $\text{Ti}^{4+}$ , foram sintetizados pelo método sol-gel. A influência da dopagem de íons metálicos na atividade fotocatalítica do ZnO foi avaliada através da inativação de uma bactéria Gram-negativa, *Escherichia coli K-12* sob irradiação de luz visível. Comparando os materiais, a dopagem de Al e de Ti, promoveram a atividade de inativação bacteriana fotocatalítica de ZnO, enquanto a dopagem com Li e a dopagem com Mg impediram a atividade de inativação bacteriana dos fotocatalisadores de ZnO. Além disso, O ZnO dopado com Al exibiu a melhor atividade fotocatalítica dirigida por luz visível, inativando completamente a *Escherichia coli K-12* em 4h.

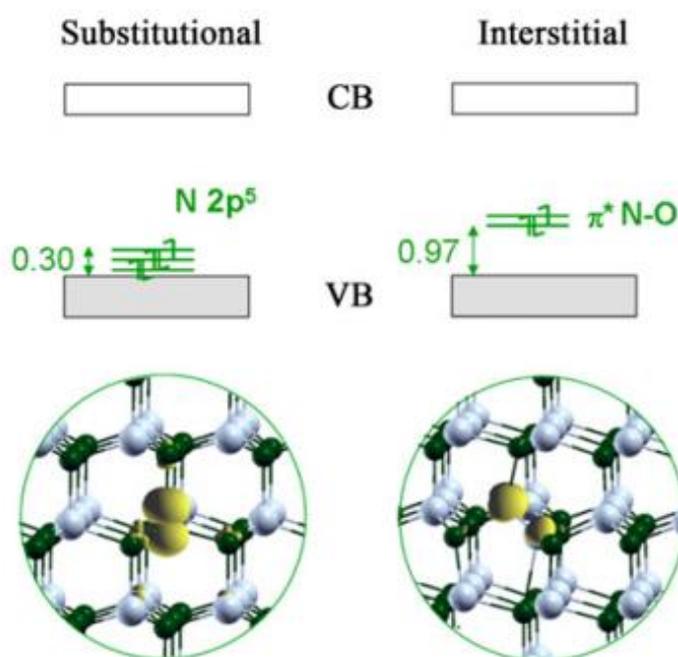
Segundo um estudo de HAMDY *et al.* [55], 4% ZnO dopado com Mg conseguiu degradar 96% de verde de metila (MG) em 60 minutos e apresentou aumento na atividade antibacteriana, assim como aumento na concentração de dopantes  $\text{Mg}^{2+}$  para bactérias patogênicas Gram-positivas (*Staphylococcus aureus* e *Bacillus subtilis*) e bactérias patogênicas Gram-negativas (*Pseudomonas aeruginosa* e *Escherichia coli*). Os resultados da pesquisa conduzida por KHALID *et al.* [56] mostraram que ZnO dopado com Cu tem melhor atividade antibacteriana do que ZnO não dopado e é eficaz para inibir bactérias Gram-positivas (*Staphylococcus aureus* e *Streptococcus pyogenes*) do que bactérias Gram-negativas (*Escherichia coli* e *Klebsiella pneumonia*).

### **2.2.2 DOPAGEM COM NITROGÊNIO**

Para o ZnO, as principais vias de dopagem do nitrogênio na estrutura incluem a substituição de oxigênio por nitrogênio (sítios substitutivos) ou ocupação de sítios intersticiais, conforme esquematizado na Figura 2.3. LU. *et al.* [57] usaram cálculos de estrutura eletrônica uma densidade funcional híbrida (DFT) e descobriram que a

dopagem substitucional do nitrogênio por si só não é responsável por expandir a borda da banda de valência para comprimento de onda mais longos. Em vez disso, o dopante de nitrogênio causa a formação de lacunas de oxigênio e intersticiais de Zn durante a dopagem, o que cria uma estrutura eletrônica apropriada para estreitamento da E<sub>bg</sub>.

Lee. *et al.* [58], concluiu que para a estrutura cristalina seja mantida é necessário um baixo nível de dopagem com nitrogênio resultaria da incorporação de N usando uma fonte normal de N<sub>2</sub>, com os aceitadores de N sendo compensados principalmente por lacunas de oxigênio. Em níveis elevados de dopagem, os aceitadores de N seriam compensados pela formação de complexos de defeitos com substituições de Zn.

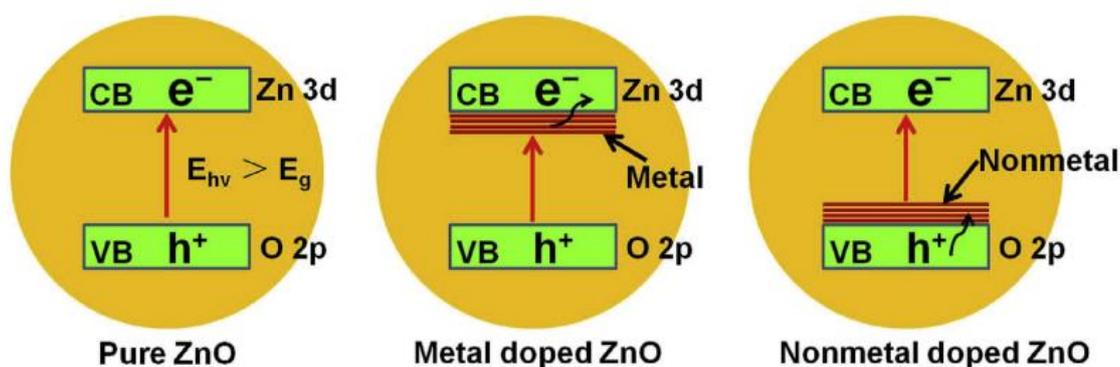


**Figura 2.3.** Dopagem substitucional e intersticial do nitrogênio na estrutura do ZnO. (Adaptada de SAMADI *et al.*, 2016 [40])

Sendo assim, o Nitrogênio está se tornando um elemento de dopagem muito importante em vários óxidos semicondutores. No caso do ZnO, a incorporação de nitrogênio é considerada uma alternativa significativa para diminuir o E<sub>bg</sub>, devido a semelhança dos raios iônicos do Nitrogênio ( $r = 1,46 \text{ \AA}$ ) e Oxigênio ( $r = 1,38 \text{ \AA}$ ). Dessa forma, o nitrogênio proporciona a hibridização dos estados N 2p e O 2p no ZnO, que

favorece a elevação da borda da banda de valência, que impulsiona o estreitamento do intervalo de banda proibida <sup>[59-61]</sup> como apresentado na figura 2.4.

Devido ao processo de dopagem, as transições eletrônicas que ocorriam apenas com fonte de radiação UV, podem ocorrer também com fonte de radiação visível, contribuindo para aplicações do ZnO em processos fotocatalíticos com aproveitamento de luz solar. <sup>[62]</sup> Lu *et al.* <sup>[63]</sup> usaram partículas de ZnO e ZnO:N em testes antibacterianos e avaliaram suas propriedades fotocatalíticas sob luz fluorescente. Os autores observaram que ZnO:N promoveu de forma eficiente a eliminação das bactérias *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus* quando comparado ao teste de referência com o ZnO sem dopante.



**Figura 2.4.** Esquema da comparação das estruturas de bandas de ZnO puro, ZnO dopado com metal e ZnO dopado com não metal. (Adaptada de QI, K et al. 2017 <sup>[30]</sup>)

RAJBONGSHI *et al.* <sup>[64]</sup> sintetizaram nanopartículas de ZnO pelo método sol-gel e utilizando gás N<sub>2</sub> como fonte de dopagem de nitrogênio. A atividade fotocatalítica dos materiais foi analisada pela degradação dos poluentes azul de metileno e fenol sob radiação visível. Os autores avaliaram que ZnO:N apresentou maior atividade fotocatalítica comparado com os semicondutores ZnO e TiO<sub>2</sub> Degussa P-25 comercial. A alta atividade fotocatalítica de ZnO:N foi atribuída à presença de vacâncias de oxigênio e a formação de defeitos com a dopagem com N.

Diferentes rotas de síntese e fontes de nitrogênio tem sido utilizado para a obtenção do ZnO dopado. Dependendo da fonte de dopagem de nitrogênio e do método de preparação, propriedades variadas do ZnO dopado com N podem ser observadas. Podendo ocorrer presença de NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub> como fonte de nitrogênio,<sup>[65]</sup>

método RF magnetron sputtering, <sup>[48]</sup> método de eletrodeposição<sup>[37]</sup> e etc. Dentre os métodos descritos para obtenção de filmes de ZnO na presença de N<sub>2</sub>, no proposto trabalho a obtenção de filmes é a partir da síntese direta pelo método de eletrodeposição.

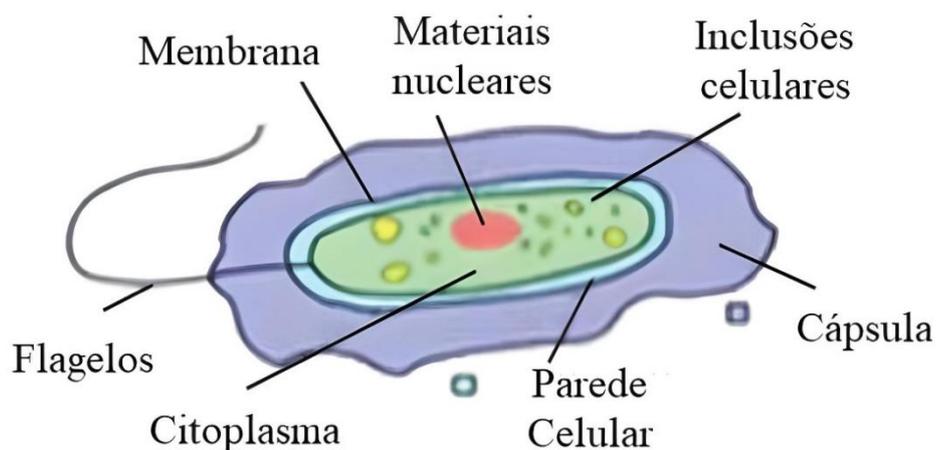
## **2.3 APLICAÇÕES DO ZnO**

Na literatura é relatado diversos tipos de aplicações dos filmes de ZnO, como produção de células solares, diodos emissores de luz UV, detecção de gás, capacitores, fotocatalise, fotocatalise eletroquimicamente assistida, podendo ser utilizado para combater tanto bactérias quanto fungos. Entretanto, o foco geral deste trabalho de dissertação será abordar a aplicação do semicondutor em atividade antibacteriana e antifúngica.

### **2.3.1 Atividade Antibacteriana**

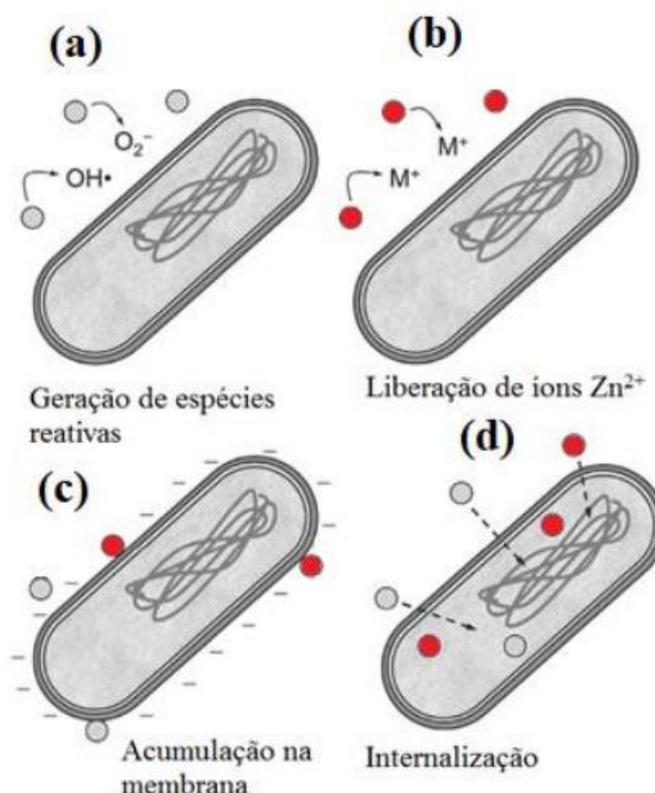
As bactérias geralmente são caracterizadas por uma membrana celular, uma parede celular e um citoplasma. A parede celular é uma camada externa que envolve a membrana celular, composta principalmente por uma camada homogênea de peptidoglicano, constituída por aminoácidos e açúcares. Esta parede celular desempenha um papel crucial na manutenção da pressão osmótica do citoplasma e na preservação da forma característica da célula. A membrana plasmática é formada por uma dupla camada de fosfolípidios, que além de preservar o material citoplasmático dentro da célula, mas atua como uma barreira seletiva, regulando o movimento de moléculas e íons para dentro e para fora da célula.<sup>[66]</sup>

O citoplasma, por sua vez, é um líquido gelatinoso que preenche o interior da célula e envolve todos os componentes celulares, com exceção do núcleo. Suas funções são: o crescimento celular, o metabolismo e a realização da replicação celular. Portanto, o citoplasma contém uma variedade de componentes, incluindo proteínas, carboidratos, ácidos nucleicos, sais, íons e água.<sup>[67,68]</sup> A Figura 2.5 mostra a composição geral da estrutura das bactérias.



**Figura 2.5.** Composição geral da estrutura das bactérias (Adaptada de Muzaffar, S. *et al.* 2020<sup>[67]</sup>)

Sendo assim, o óxido semiconductor ZnO é um agente antibacteriano promissor devido à sua excelente propriedade antimicrobiana e boa biocompatibilidade. Apresentando efeitos antibacterianos, tanto para as bactérias Gram-negativas, quanto para as bactérias Gram-positivas. QI *et al.*<sup>[30]</sup>, descreve que os principais mecanismos dos efeitos antibacterianos são: (a) liberação de espécies reativas de oxigênio (ERO), (b) liberação de íons de  $Zn^{2+}$ , (c) disfunção na membrana bacteriana e (d) internalização, mecanismos apresentados na Figura 2.3.

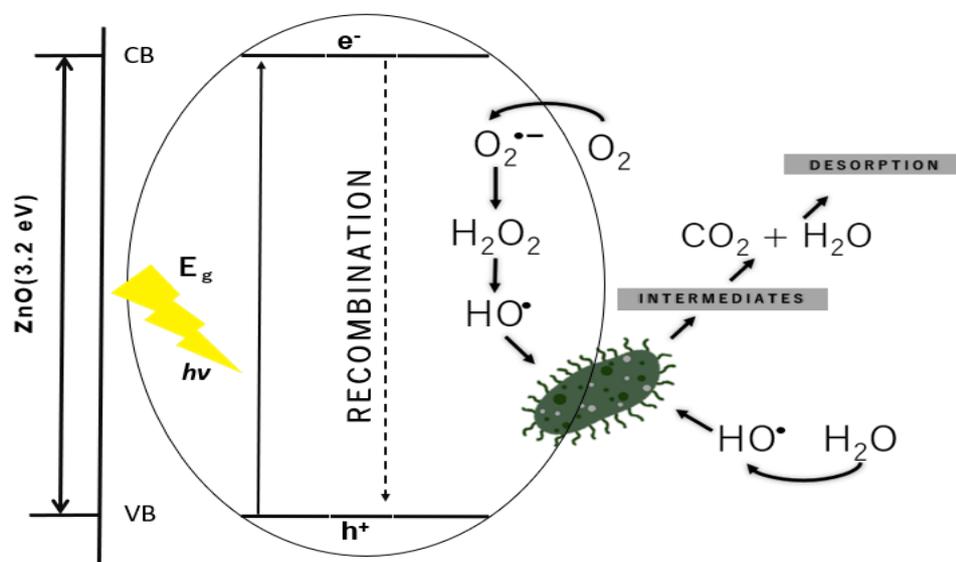


**Figura 2.6.** Ilustração dos possíveis mecanismos de ZnO (QI et al., 2017<sup>[30]</sup>).

As espécies reativas de oxigênio (ERO) são consideradas os agentes contribuidores mais importante para a atividade antibacteriana. <sup>[68]</sup> Em um semicondutor, o intervalo de banda entre os elétrons condutores e de valência desempenham um papel de alocação na produção de ERO, causando danos na superfície da membrana do microrganismo e destruindo a integridade das células bacterianas. <sup>[69]</sup>

Óxidos metálicos semicondutores participam de reações de oxirredução catalisadas pela luz, pois apresentam uma banda de valência (BV) preenchida e uma banda de condução (BC) vazia, formando os pares elétron-buraco ( $e^-/h^+$ ). Cada fotocatalisador apresenta uma  $E_{bg}$  que absorve o comprimento de onda característico da luz para a geração de  $e^-/h^+$  na BC e BV, respectivamente. De tal forma, que os  $e^-/h^+$  produzidos têm a probabilidade de recombinar em segundos ou reagir com outras espécies, como  $O_2$  e  $H_2O$  adsorvidos na superfície dos óxidos metálicos. <sup>[70-72]</sup> Através de diferentes reações redox em cadeia formam o que chamamos de ROS, sendo elas: radical hidroxila ( $OH^{\bullet}$ ), peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ) e superóxido ( $O_2^{\bullet-}$ ), de modo, que essas espécies tenham a capacidade de degradar células bacterianas em  $CO_2$ ,

H<sub>2</sub>O e outros minerais não tóxicos, levando eventualmente à morte de bactérias [73,74] (Figura. 5). CADET. *et al.* [75] relata que essas espécies reativas de oxigênio podem causar danos ao DNA e proteínas celulares e até levar à morte de moléculas. TIWARI. *et al.* [76] demonstraram a inativação de *A. baumannii*, um patógeno oportunista, por ZnO-NPs via ERO gerados. Eles relataram um aumento quatro vezes maior na geração de ERO em *A. baumannii* tratada com ZnO em comparação com a não tratada.



**Figura 2.7.** Ilustração esquemática do mecanismo de degradação bacteriana fotocatalítica do ZnO.

No entanto, essa reação redox depende das posições da BV e BC dos óxidos metálicos e dos potenciais redox das espécies receptoras. Além disso, a parcial dissolução das partículas de ZnO resulta na liberação de íons Zn<sup>2+</sup> em suspensão aquosa. Esses íons têm a habilidade de interferir na membrana celular e penetrar nos componentes intracelulares, apresentando outro potencial mecanismo de ação bactericida. [77,78] JOE. *et al.* [79] atribuíram a fonte de Zn<sup>2+</sup> à dissolução do ZnO no meio. Esses íons Zn<sup>2+</sup> livres podem interagir com biomoléculas, como carboidratos e proteínas, o que pode causar danos no sistema enzimático.

Diante disso, para os estudos sobre a melhoria das propriedades antibacterianas pela dopagem de não-metals, GUPTA *et al.* [31] descreve o ZnO dopado com N através de uma síntese de combustão seguida de um método

hidrotérmico para aplicações antibacterianas, resultando em uma atividade fotocatalítica aprimorada contra *Escherichia coli*.

### **2.3.2 Atividade Antifúngica**

Em diversos estudos, o óxido de zinco é aplicado ao combate de diversos fungos potencialmente indesejáveis ao homem. MIRI. *et al.*<sup>[22]</sup>, estudaram a atividade antifúngica das NP ZnO em *Cândida albicans* e atribuíram que os efeitos antifúngicos são provenientes 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 é dose-dependentes, ou seja, a medida que aumenta a concentração da suspensão diminui o crescimento dos fungos.

As paredes celulares em fungos são estruturas dinâmicas necessárias para a viabilidade celular, morfogênese e patogenicidade. O primeiro local de interação de uma molécula antifúngica com uma célula fúngica é a parede celular. As paredes celulares fúngicas são compostas principalmente por 1,3- e 1,6- $\beta$ -glucanos, quitina e glicoproteínas e desempenham uma variedade de atividades, incluindo rigidez e forma celular, metabolismo, troca de íons e interações com mecanismos de defesa do hospedeiro. A robustez mecânica da parede celular fúngica a torna uma estrutura crítica na proteção contra diversas ameaças bióticas e abióticas.<sup>[80]</sup>

LI. *et al.*<sup>[81]</sup> relataram que os mecanismos antifúngicos das nanopartículas de ZnO se devem à geração de espécies reativas de oxigênio (ERO). No entanto, as informações sobre o mecanismo molecular subjacente à geração de ERO pelas nanopartículas ainda são escassas. Outro estudo também relatou que a exposição de fungos a nanopartículas de ZnO leva a danos oxidativos que alteram a função das mitocôndrias, possivelmente por meio de alterações no potencial de membrana das mitocôndrias e na expressão de enzimas antioxidantes.<sup>[82]</sup>

Apesar de inúmeros estudos relatados na literatura sobre as atividades antifúngicas, os mecanismos sobre seus modos de ação ainda não são totalmente compreendidos, todavia, o mecanismo de combate aos fungos está relacionado às mudanças estruturais do microrganismo. Podendo ser explicada através de um dos seguintes meios: ruptura da célula membrana, ligação a proteínas e DNA, geração de espécies reativas do oxigênio, interrupção dos processos de amplificação do DNA

bacteriano e alteração (muitas vezes regulação negativa) da expressão em uma ampla gama de genes <sup>[83-85]</sup>, sendo os mesmos mecanismos apresentados no subcapítulo 2.1.1 se aplicam para fungos.

# Capítulo 3

## METODOLOGIA EXPERIMENTAL

---

---

### 3.1 Materiais e Reagentes

- Substrato condutor de óxido de estanho dopado com enxofre, vidro-FTO (Aliy IQI, 8  $\Omega$ /sq)
- O precursor acetato de zinco ( $\text{Zn}(\text{CH}_3\text{COO})_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ) a 99%,
- Eletrólito suporte cloreto de potássio (KCl) a 99%,
- Eletrólito suporte sulfato de sódio ( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ) a 99%,
- Água deionizada obtida em deionizador Purelab Option-Q Elga modelo DV-25.
- Cepas de microrganismos: bactéria Gram-positiva *Staphylococcus aureus* (ATCC- 25923), a bactéria Gram-negativa *Escherichia coli* (ATCC-25922) e a levedura *Candida albicans* (ATCC -10231).

### 3.2 Limpeza do substrato

A limpeza do vidro-FTO foi realizada em três etapas sucessivas: inicialmente em mistura de água e detergente neutro, seguido de água deionizada e por último em álcool isopropílico. Todo o processo de limpeza foi realizado em banho ultrassônico com tempo de 15 min para cada uma delas.

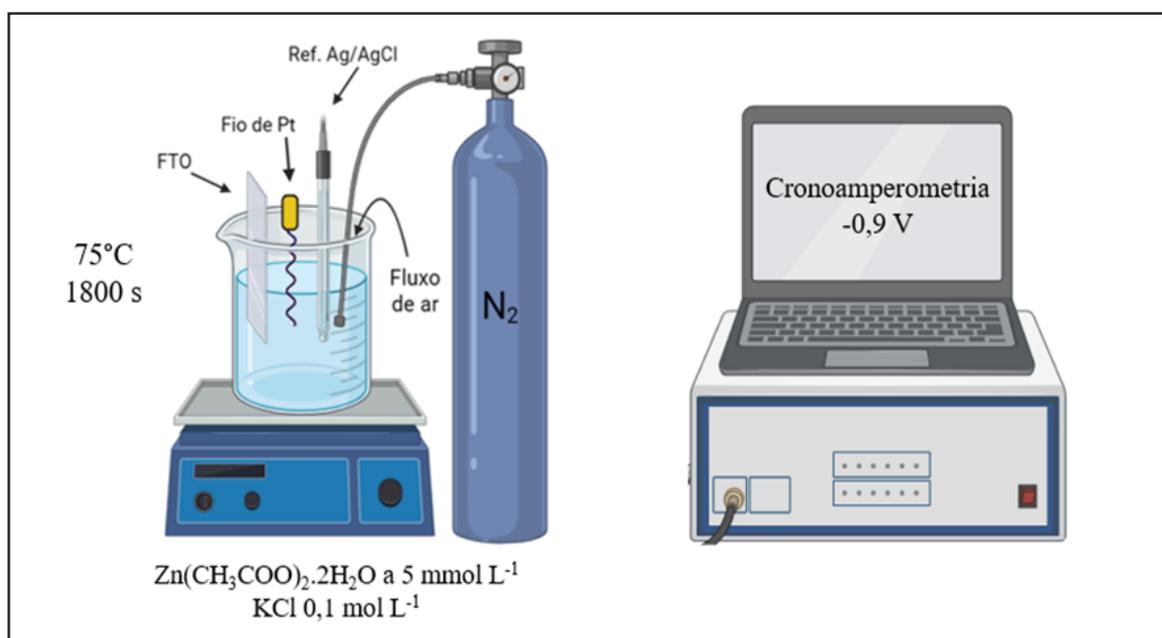
### 3.3 Síntese Eletroquímica dos Filmes de ZnO e ZnO:N

Filmes de ZnO e ZnO:N foram depositados em um substrato de vidro contendo uma camada condutora transparente de óxido de estanho dopado com flúor (vidro-FTO) por eletrodeposição, sob controle potencioestático. Os filmes foram depositados em uma célula eletroquímica configurada com três eletrodos, utilizando o vidro-FTO como eletrodo de trabalho. Como referência e contra-eletrodo foram utilizados um eletrodo de Ag/AgCl e fio de platina, respectivamente.

Para o filme de ZnO (na ausência de gás  $\text{N}_2$ ), a deposição eletroquímica foi realizada por imersão do vidro-FTO em 5 mmol  $\text{L}^{-1}$  de acetato de zinco di-hidratado ( $\text{Zn}(\text{CH}_3\text{COO})_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ); 99%) tendo 0,1 mol  $\text{L}^{-1}$  de KCl como eletrólito de suporte. O

ZnO foi depositado pela aplicação de um potencial constante de  $-0,90\text{ V}$  (vs. Ag / AgCl) por um tempo de 30 min. A solução precursora foi mantida a uma temperatura de  $75\text{ }^{\circ}\text{C}$  sob agitação constante com borbulhamento de ar ao longo do processo de deposição. O borbulhamento de ar sintético foi mantido num fluxo de  $100\text{ mL min}^{-1}$ . Após a secagem em temperatura ambiente, os filmes finos de ZnO foram tratados termicamente em diferentes temperaturas ( $100, 200, 400$  e  $600\text{ }^{\circ}\text{C}$ ) em forno mufla.

Na eletrodeposição dos filmes de óxido de zinco dopados com nitrogênio (ZnO:N), o processo foi realizado em condições semelhantes às descritas anteriormente. Porém, além do borbulhamento de ar sintético, a síntese será realizada com gás nitrogênio ( $\text{N}_2$ ) borbulhando com taxas de fluxos variando de  $20, 40$  e  $60\text{ cm}^3\text{ min}^{-1}$ . No preparo dos filmes de ZnO:N a mistura de ar sintético e gás  $\text{N}_2$  foi realizada de tal forma que o fluxo total foi mantido em  $100\text{ mL min}^{-1}$ . Por exemplo, para o fluxo de  $\text{N}_2$  de  $40\text{ mL min}^{-1}$ , o fluxo de ar sintético foi reduzido para  $60\text{ mL min}^{-1}$ . Os filmes de ZnO:N foram submetidos ao tratamento térmico de  $600\text{ }^{\circ}\text{C}$ , a uma taxa de  $10\text{ }^{\circ}\text{C min}^{-1}$ , durante 1,0 hora em forno tipo mufla. Os filmes de ZnO:N foram denominados de ZnO:N-20, ZnO:N-40 e ZnO:N-60 de acordo com o fluxo de  $\text{N}_2$  utilizado no preparada amostra.



**Figura 3.1:** Representação esquemática do processo de síntese eletroquímica por deposição potencioestática para a obtenção de filmes de ZnO.

## 3.4 Caracterização dos filmes de ZnO e ZnO:N

### 3.4.1 Difração de raio-X

Os padrões de difração de Raio X (DRX) dos filmes foram obtidos usando um difratômetro de raios X D8-Advance ECO (Burker), usando Cu-K $\alpha$  ( $\lambda = 0.154$  nm) a 40 kV a 25 mA, ângulo incidente de difração  $2\theta$  de  $20^\circ$  a  $90^\circ$  com velocidade de varredura de  $0.02^\circ$ . Os padrões de difração foram comparados com os dados do *Inorganic Crystal Structure Database* (ICSD). As medidas foram realizadas pelo Laboratório de Caracterização Estrutural (LCE) – UFSCAR.

### 3.4.2 Caracterização morfológica

A morfologia dos fotoeletrodos foi caracterizada por Microscopia Eletrônica de Varredura por Emissão de Campo (FE-SEM). As imagens foram obtidas com tensão de trabalho de 5.0 kV.

### 3.4.3 Estimativa da Energia de banda proibida ( $E_{bg}$ )

As medidas em espectrofotômetro UV-Vis (Shimadzu, Modelo UV- 2600) serão feitas para avaliar o comportamento óptico das amostras. A partir dos resultados obtidos dos espectros de transmitância do ZnO será possível estimar o valor de energia da “banda de energia proibida” ( $E_{bg}$  óptico) deste material, calculados pelo método TAUC, assumindo que ocorre transição óptica indireta.

### 3.4.4 Medidas Fotoeletroquímicas

As propriedades fotoeletroquímicas foram investigadas em célula fotoeletroquímica (PEC-photoelectrochemical cell) equipada com uma janela óptica de vidro (100% de transmitância para  $\lambda > 360$  nm), usando a configuração de três eletrodos e uma solução aquosa de Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0,1 mol L<sup>-1</sup>, como eletrólito de suporte. Os eletrodos de trabalho são os filmes ZnO e ZnO:N, um fio Pt<sup>0</sup> foi utilizado como contra-eletrodo e Ag/AgCl como eletrodo de referência (em um capilar *Luggin*). Para a realização deste estudo foi utilizando um potenciostato/Galvanostato (Autolab PGSTAT 320-N Metrohm) e o software NOVA 1.7 tanto na ausência de luz (escuro) quanto sob irradiação, com fonte de irradiação policromática. A densidade de fotocorrente foi medida por voltametria cíclica (CV) no escuro e sob irradiação

policromática. Potenciais de banda plana ( $E_{fb}$ ) dos óxidos foram ser determinados seguindo o método de Burtler-Gärtner, utilizando voltametria de varredura linear claro-escuro (LSV), usando dados coletados na faixa de potencial anódico de -0,1 a 1,0 V, com uma taxa de varredura de  $1,0 \text{ mV s}^{-1}$  e um *chopper* manual operando a uma frequência de 0,1 Hz. A corrente gerada pelos eletrodos de ZnO e ZnO:N foi medida pelo método de cronoamperometria sob condições de escuro e luz, polarizados a um potencial de 0,7 V (em relação a Ag/AgCl). Para fins de comparação, o potencial registrado utilizando o eletrodo de referência Ag/AgCl foi convertido para a escala de Eletrodo de Hidrogênio Reversível (RHE), de acordo com a equação 1: [86]

$$E \text{ (vs. RHE)} = E \text{ (vs. Ag/AgCl)} + 0.0591 \text{ V} \times \text{pH} + 0.199 \text{ V} \quad (1)$$

Além disso, os potenciais após o ajuste em relação ao RHE (em volts) foram convertidos para elétron-volts (eV) usando a equação 2:

$$E(\text{eV}) = [-4.5 \text{ eV} - eE(\text{RHE})] \quad (2)$$

### **3.4.5 Investigação da atividade dos filmes na inativação dos microrganismos**

Para os testes de inativação fotocatalítica do ZnO e ZnO:N foram usadas três cepas microbianas padrões, sendo estas: *Staphylococcus aureus* – ATCC 25923 (uma bactéria Gram-positiva), *Escherichia coli* ATCC 25922 (uma bactéria Gram-negativa) e o fungo *Candida albicans* ATCC 10231 (uma espécie de levedura, fungo unicelular).

As espécies microbianas foram mantidas em meio de cultura da marca KASVI, sendo o Ágar BHI (*Brain Heart Infusion*) para as espécies bacterianas e o meio Ágar Sabouraud para a espécie de levedura. Todas as espécies foram mantidas em incubadora tipo BOD (sob controle de Demanda Bioquímica de Oxigênio) em temperatura de  $37^\circ \text{C}$  por um período de 24 horas para as bactérias e de 48 horas para a levedura. Foram preparadas suspensões de células microbianas em NaCl a 0,8%, contendo  $10^8$  células/mL, que corresponde a escala 0,5 de MacFarland. As inativações foram investigadas em célula fotoeletroquímica contendo 13,5 ml de  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  e 500  $\mu\text{L}$  das suspensões microbianas. Os testes fotoeletrocatalíticos foram realizados utilizando um potenciostato/Galvanostato, em modo de cronoamperometria

com um potencial de 0,7 V, na ausência de luz (escuro) e sob irradiação com fonte de irradiação policromática, utilizou-se uma lâmpada com potência nominal de 150 W para irradiar as amostras. Posteriormente foram retiradas alíquotas de 100µL nos intervalos de 10, 20 e 30 minutos. Estas alíquotas foram semeadas em placas de Petri contendo meios BHI (para as bactérias) e Sabouraud (para a levedura) e em seguida mantidas em incubadora tipo BOD por 24 e 48 horas, para as bactérias e fungos respectivamente. Após esse período de incubação foram feitas as contagens das colônias crescidas nestas placas. Como grupo controle utilizou-se placas contendo o meio de cultura e a suspensão de microrganismos em Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, sem o ZnO no escuro e irradiado.

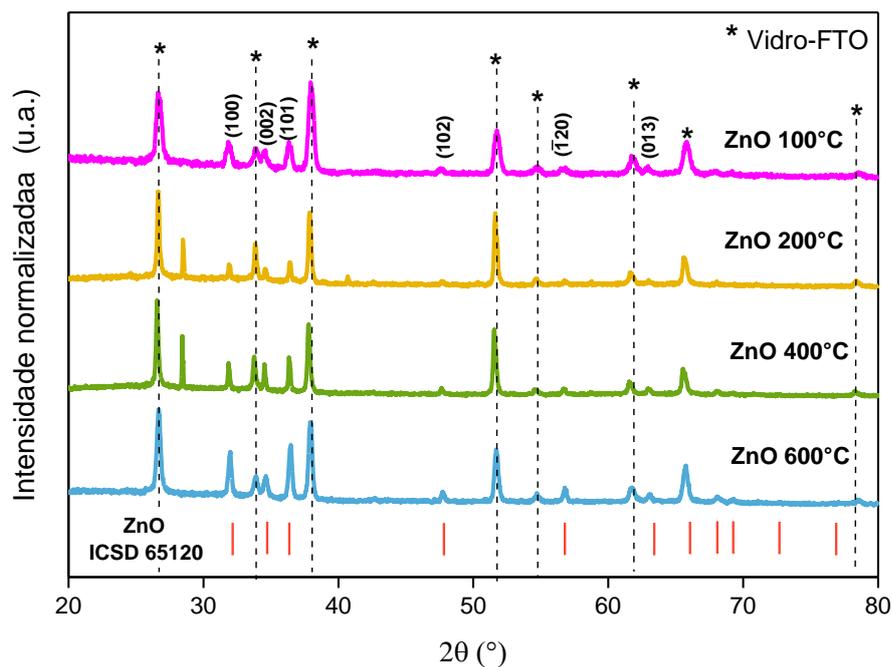
# Capítulo 4

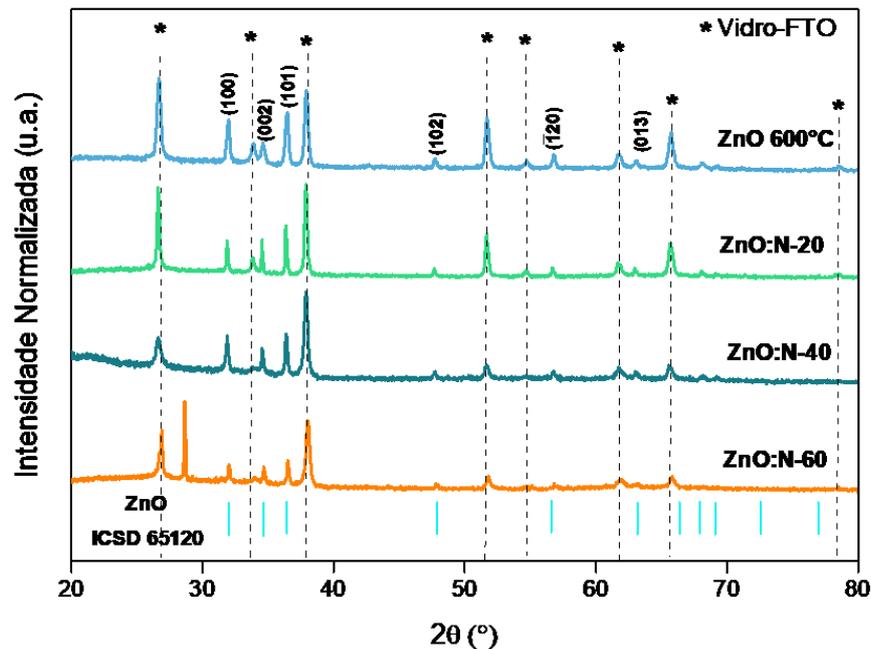
## RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1 Propriedades estruturais dos filmes de ZnO e ZnO:N

#### 4.1.1 Difração de raio X

As medições de difração de raios X (DRX) foram realizadas nos filmes submetidos a tratamento térmico a 100, 200, 400 e 600 °C, assim como no ZnO preparado na presença de N<sub>2</sub> com fluxos de 20, 40 e 60 cm<sup>3</sup> min<sup>-1</sup> e calcinados a 600 °C. Tais resultados podem ser vistos na Figura 4.1.



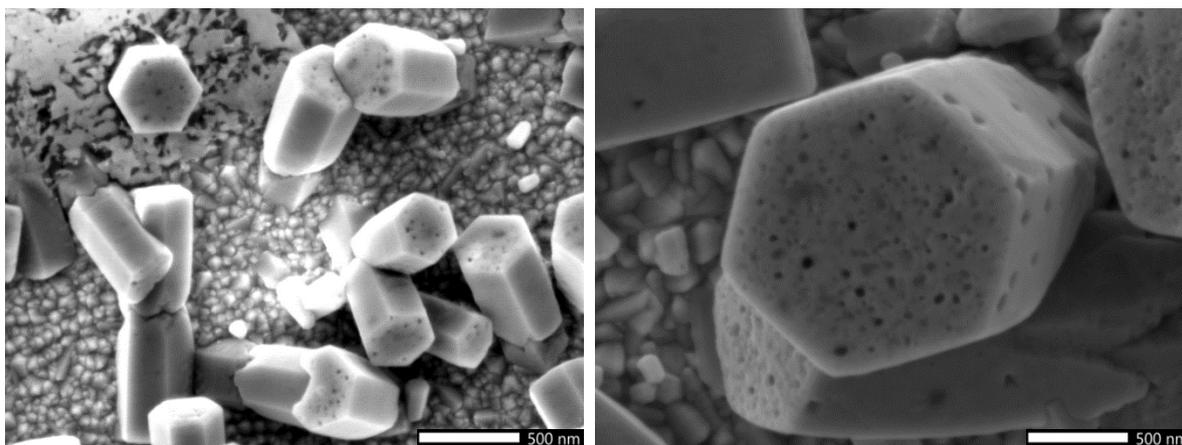


**Figura 4.1:** Padrões de DRX de (a) filmes de ZnO calcinados a 100, 200, 400 e 600 °C; (b) filmes de ZnO:N (20, 40 e 60 cm<sup>3</sup> min<sup>-1</sup>) calcinados a 600 °C. As linhas verticais (|) indicando a posição dos planos do ZnO hexagonal.

Com base na análise da Figura 4.1, nota-se que todos os filmes sintetizados apresentam sinais de DRX que foram indexados com excelente concordância a estrutura hexagonal wurtzita do ZnO. As posições dos sinais de DRX dispostos nos difratogramas estão de acordo com os resultados registrados no *Inorganic Crystal Structure Database* (ICSD), cartão de número 65120, [87] com os picos de difração coincidentes com os planos de reflexão (100), (002), (101), (102), (120) e (013) para o ZnO. Para ambos os filmes (dopados e não dopados) foram registrados sinais em  $2\theta$  iguais a 26,8; 33,8; 37,9; 51,5; 54,6; 61,7; 65,7 e 78,4°, que podem ser atribuídos ao SnO<sub>2</sub> que compõe a camada condutora (FTO). Estes sinais foram observados em todas as amostras e estão destacados por linha vertical tracejada e asterisco (\*).

#### 4.4.2 Propriedades morfológicas dos filmes de ZnO e ZnO: N

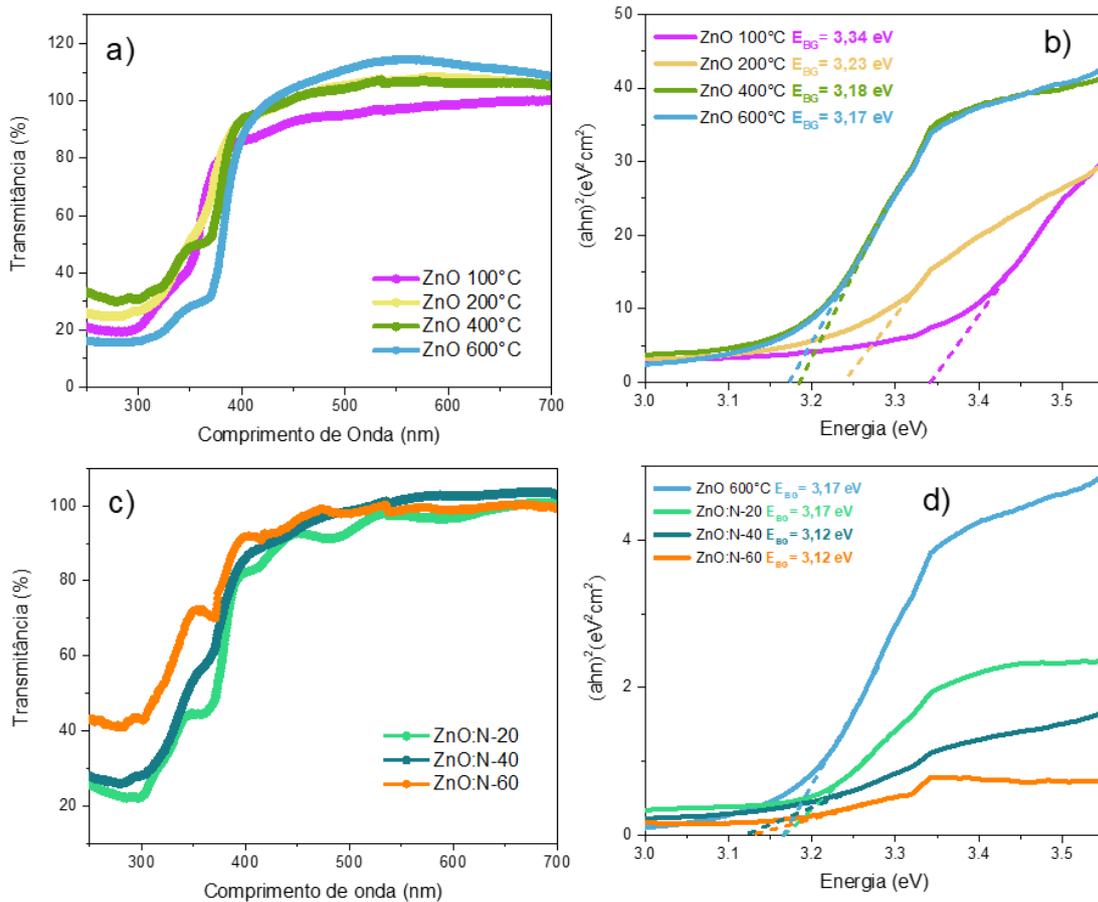
A caracterização morfológica dos filmes de ZnO e amostras de ZnO preparadas na presença de N<sub>2</sub> depositados em um vidro FTO e calcinados a 600°C, são apresentados na figura 4.2. A morfologia de ambos os materiais se apresentam em forma de bastões, exibindo a estrutura hexagonal, o que também é confirmado pela análise de DRX. Observa-se também que os filmes exibem poros que podem ter surgido durante o processo de tratamento térmico.



**Figura 4.2:** Imagens de FE-SEM: a) filmes de ZnO, b) filmes de ZnO:N calcinados a 600°C.

#### 4.3 Estimativa da energia de band gap para os filmes de ZnO e ZnO:N

A espectroscopia UV-Vis foi empregada para investigar o comportamento óptico dos filmes preparados em diferentes condições de temperatura e fluxo de nitrogênio. As figuras 4.3 a e c mostram que ambos os filmes exibiram alta transmitância em  $\lambda > 450$  nm. No entanto, uma absorção abrupta é observada perto de 400 nm. Para amostras de ZnO, o tratamento térmico deslocou a região de absorção da luz para comprimentos de onda mais longos, sugerindo que o material se tornou mais cristalino. Assim, filmes de ZnO:N, preparados em diferentes condições de fluxo de nitrogênio foram calcinados a 600°C.



**Figura 4.3.** (a) Curvas de transmitância UV-Vis para os filmes finos ZnO calcinados a 100°C, 200°C, 400°C e 600°C, (b) Estimativa da  $E_{bg}$  pelo método de TAUC para o ZnO, (c) Curvas de transmitância para filmes de ZnO dopado à 20, 40 e 60  $\text{cm}^3 \text{min}^{-1}$  (d) Estimativa da  $E_{bg}$  para ZnO dopado.

A partir dos resultados obtidos dos espectros de transmitância do ZnO é possível estimar o valor de energia da “banda de energia proibida” ( $E_{bg}$  óptico) deste material, calculados pelo método TAUC, assumindo que ocorre transição óptica indireta, de acordo com a equação 3: [88]

$$(\alpha h\nu)^n = C (h\nu - E_{bg}) \quad (3)$$

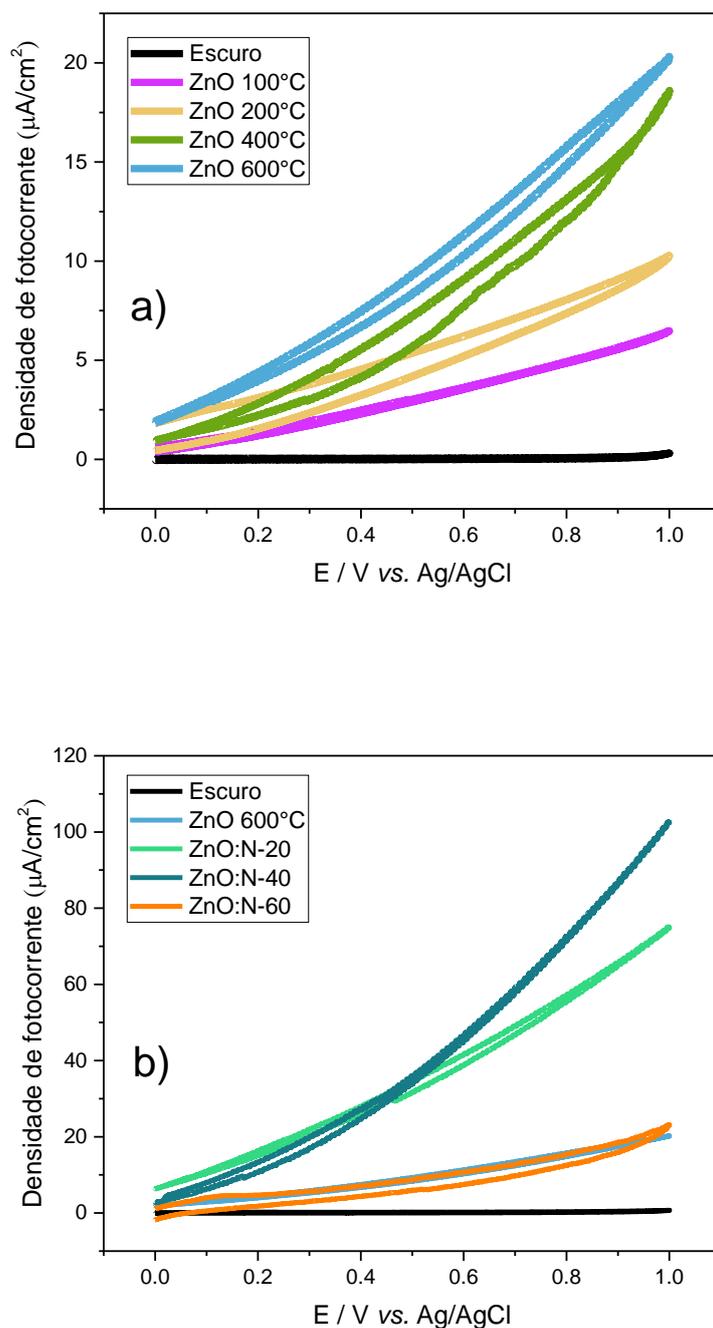
Onde,  $\alpha$  é o coeficiente de absorção óptica do filme,  $h\nu$  é a energia do fóton incidente,  $C$  é uma constante de proporcionalidade,  $E_{bg}$  é o intervalo de banda proibida entre o fundo da banda de condução e o topo da banda de valência e  $n$  é igual a 1/2

para uma transição indireta. O  $E_{bg}$  foi calculado extrapolando a parte linear do gráfico para onde  $(\alpha h\nu)^{1/2}$  é igual a zero, conforme mostrado a figura 4.3 b e d.

Os valores de intervalo de banda para os filmes de ZnO Puro calcinados a 100, 200, 400 e 600 °C (Fig.4.3 (a)) foram 3,34, 3,23, 3,17 e 3,17 eV, respectivamente. Estes valores estão em concordância com os valores encontrados na literatura. [89] Para os filmes preparados com N<sub>2</sub> nos fluxos de 20, 40 e 60 cm<sup>3</sup> min<sup>-1</sup> (Fig.4.3 (b)) o valor de  $E_{bg}$  foi de 3,17, 3,12 e 3,12 eV, respectivamente. Os dados de  $E_{bg}$  indicam que a dopagem com nitrogênio não resultou em uma alteração significativa nos valores dos intervalos de banda proibida.

#### 4.4 Propriedades fotoeletroquímicas

As propriedades fotoeletroquímicas dos filmes ZnO tratados termicamente a 100, 200, 400 e 600 °C e ZnO:N a 600°C (20, 40 e 60 cm<sup>3</sup> min<sup>-1</sup>) foram investigados no escuro e sob irradiação policromática. Os estudos foram investigados em uma célula eletroquímica de três eletrodos, utilizando uma solução aquosa de Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> a 0,1 mol L<sup>-1</sup> como eletrólito suporte. A Figura 4.4 estão representadas as densidades de fotocorrente para os eletrodos usando voltamogramas cíclicos sob condição de escuro e irradiação policromática (10 mVs<sup>-1</sup>).

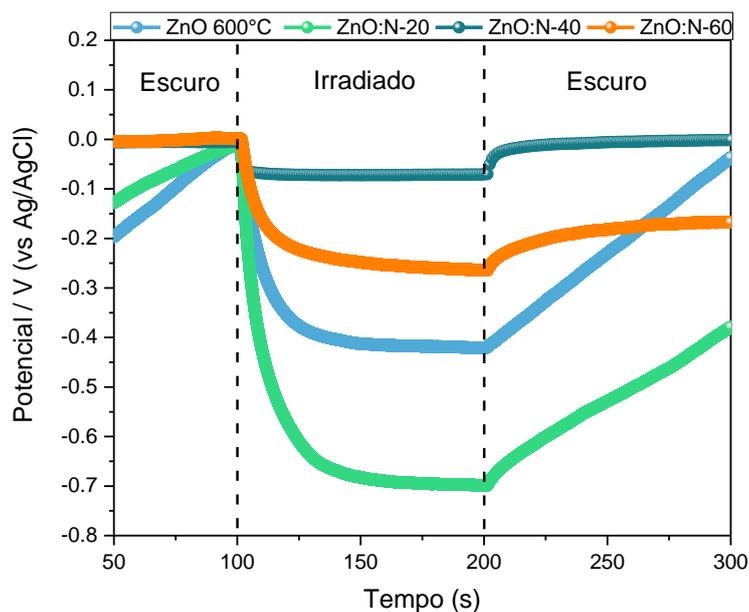


**Figura 4.4.** Voltamogramas cíclicos com curvas no escuro e irradiado, coletados a uma varredura  $10 \text{ mV s}^{-1}$  (a) eletrodos de ZnO em diferentes temperaturas (100, 200, 400 °C e 600 °C) e (b) eletrodos de ZnO:N com fluxos de 20, 40, 60  $\text{cm}^3/\text{min}$  tratados termicamente a 600 °C.

As curvas de voltametria cíclica para os eletrodos em condições de escuro mostraram uma corrente capacitiva quase nula. Para investigar a influência da temperatura de calcinação na resposta fotoeletroquímica de filmes de ZnO, os eletrodos de ZnO foram tratados termicamente em 100, 200, 400 e 600 °C, os resultados são mostrados na Figura 4.4 (a). Sob irradiação policromática, observou-se que o aumento da temperatura de calcinação favoreceu o aumento da densidade de fotocorrente dos filmes. Os eletrodos de ZnO calcinados a 100, 200, 400 e 600° C apresentam valores de fotocorrente baixos. O eletrodo de ZnO a 600 °C apresentou melhor valor de densidade fotocorrente de c.a  $12 \mu\text{A cm}^{-2}$  a 0,7 V (vs. Ag/AgCl), assim, todos os estudos fotoeletroquímicos posteriores foram realizados tratando termicamente os eletrodos dopados com N<sub>2</sub> a 600 °C.

A Figura 4.4 (b) mostra os voltamogramas para os filmes de ZnO preparado em N<sub>2</sub> com fluxo de a 20, 40 e 60 cm<sup>3</sup> min<sup>-1</sup>, em comparação ao ZnO não dopado. Os filmes com fluxos de 20, 40 e 60 cm<sup>3</sup> min<sup>-1</sup> apresentaram valores de fotocorrente de ca. 47, 60 e 38  $\mu\text{A cm}^{-2}$  em 0,7 V (vs. Ag/AgCl), respectivamente. O aumento do fluxo de N<sub>2</sub> de 20 para 40 cm<sup>3</sup>/min em um aumento significativo de fotocorrente. O eletrodo de ZnO:N com fluxo de 40 cm<sup>3</sup>/min demonstrou uma densidade de fotocorrente superior, indicando que os filmes preparados na presença de N<sub>2</sub> possibilitaram uma maior mobilidade dos elétrons e uma melhoria na eficiência na transferência de elétrons. Considerando que haja uma possível substituição dos átomos de O por átomos de N na estrutura do ZnO ou a presença de átomos de N nos interstícios. [37]

Medidas eletroquímicas de filmes podem oferecer dados importantes sobre as propriedades de transferência de carga, especialmente para a aplicação de filmes como fotoeletrodos. Na Figura 4.5, são apresentadas as curvas de cronopotenciometria registradas em intervalos de escuro-claro, em uma solução 0,1 mol L<sup>-1</sup> de Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, na condição de Potencial de Circuito Aberto (OCP) por 300 s. Inicialmente, o sistema eletroquímico está no escuro, com um equilíbrio de cargas na interface eletrólito-eletródo. Após a irradiação, ocorre a transição de elétrons da banda de valência (BV) para a banda de condução (BC) do material.



**Figura 4.5.** As curvas cronopotenciométricas dos filmes ZnO e ZnO:N no intervalo escuro-claro-escuro sob a condição de Potencial de Circuito Aberto (corrente zero).

**Tabela 4.1:** Valores de fotopotencial ( $\Delta E$ ) de ZnO e ZnO:N.

Amostra	Fotopotencial ( $\Delta E$ )
ZnO 600°C	-0,42 V
ZnO:N-20	-0,69 V
ZnO:N-40	-0,065 V
ZnO:N-60	-0,26 V

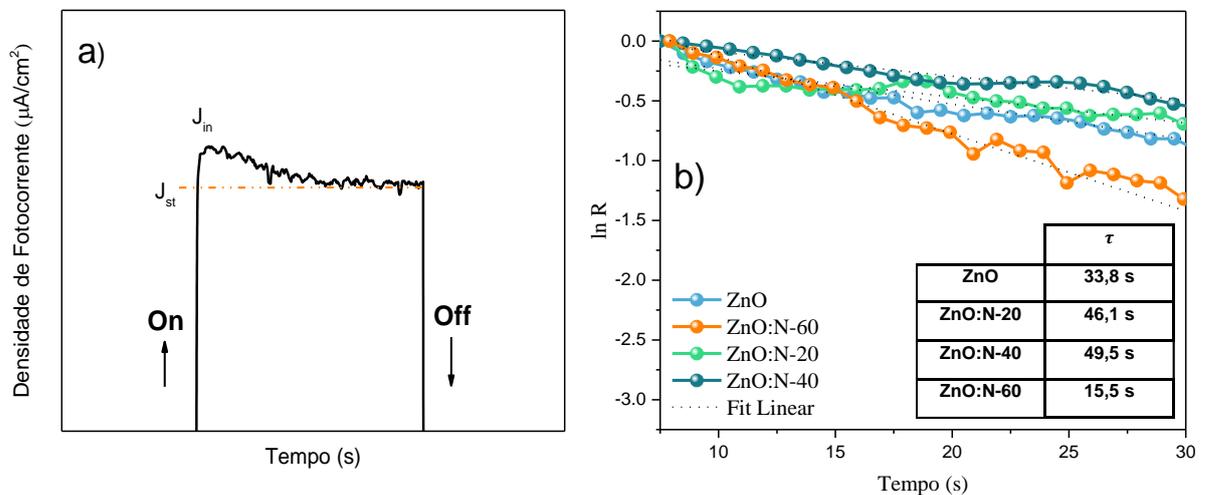
Valores de fotopotencial negativos ( $\Delta E < 0$ ) são indicativos do semiconductor do tipo-n. Contudo, somente os filmes de ZnO:N-40 e ZnO:N-60 conseguem retornar um estado estacionário de fotopotencial após cessada a exposição à radiação. Esse resultado sugere que o ZnO dopado com uma quantidade mais elevada de nitrogênio apresenta um maior número de defeitos (armadilhas), que geram níveis localizados entre as bandas de valência e de condução, impedindo a rápida transferência de elétrons. Indica ainda que a concentração de dopante conseguida com o fluxo de 40 mL min<sup>-1</sup> de gás nitrogênio foi a mais adequada para o preparo dos filmes. Considerando a teoria de bandas e de transferência de cargas na interface eletrólito-

eletrodo, quando a irradiação cessa, os elétrons retornam da BC para BV, superando os defeitos do material. Nesse contexto, apenas o filme de ZnO calcinado a 600 °C apresenta a maior taxa de recombinação de cargas, demonstrando que o material tem um menor número de defeitos, conforme evidenciado na Tabela 4.1. Isso sugere que os demais eletrodos necessitam de mais tempo para que os elétrons retornem aos níveis intermediários de energia.

O tempo de recombinação das cargas elétron-buraco pode ser estimado a partir de curvas de corrente em função do tempo. A partir de curvas cronoamperométricas registradas para os filmes de ZnO e ZnO:N sob condições de interrupção de luz a cada 300 s, potencial 0,7 V (vs Ag/ AgCl) foi possível calcular o tempo recombinação de cargas, apresentadas na Figura 4.6, é possível obter o tempo de recombinação do par ( $e^-$  BC/ $h^+$  BV) dos filmes de ZnO e ZnO:N, seguindo a representação esquemática (Figura 4.6) e usando a Equação (4):

$$R = \exp^{-t/\tau} \tag{4}$$

Esta equação corresponde à equação cinética da corrente transiente ( $\tau$ ), expressa pela razão (R),  $R = \frac{J_t - J_{st}}{J_{in} - J_{st}}$ , onde  $J_t$  é o valor de fotocorrente no tempo "t",  $J_{st}$  é a fotocorrente estacionária e  $J_{in}$  é a fotocorrente inicial. Um gráfico de  $\ln R$  em relação ao tempo possui como coeficiente angular o termo ( $-1/\tau$ ), expresso em unidades de tempo em segundos.



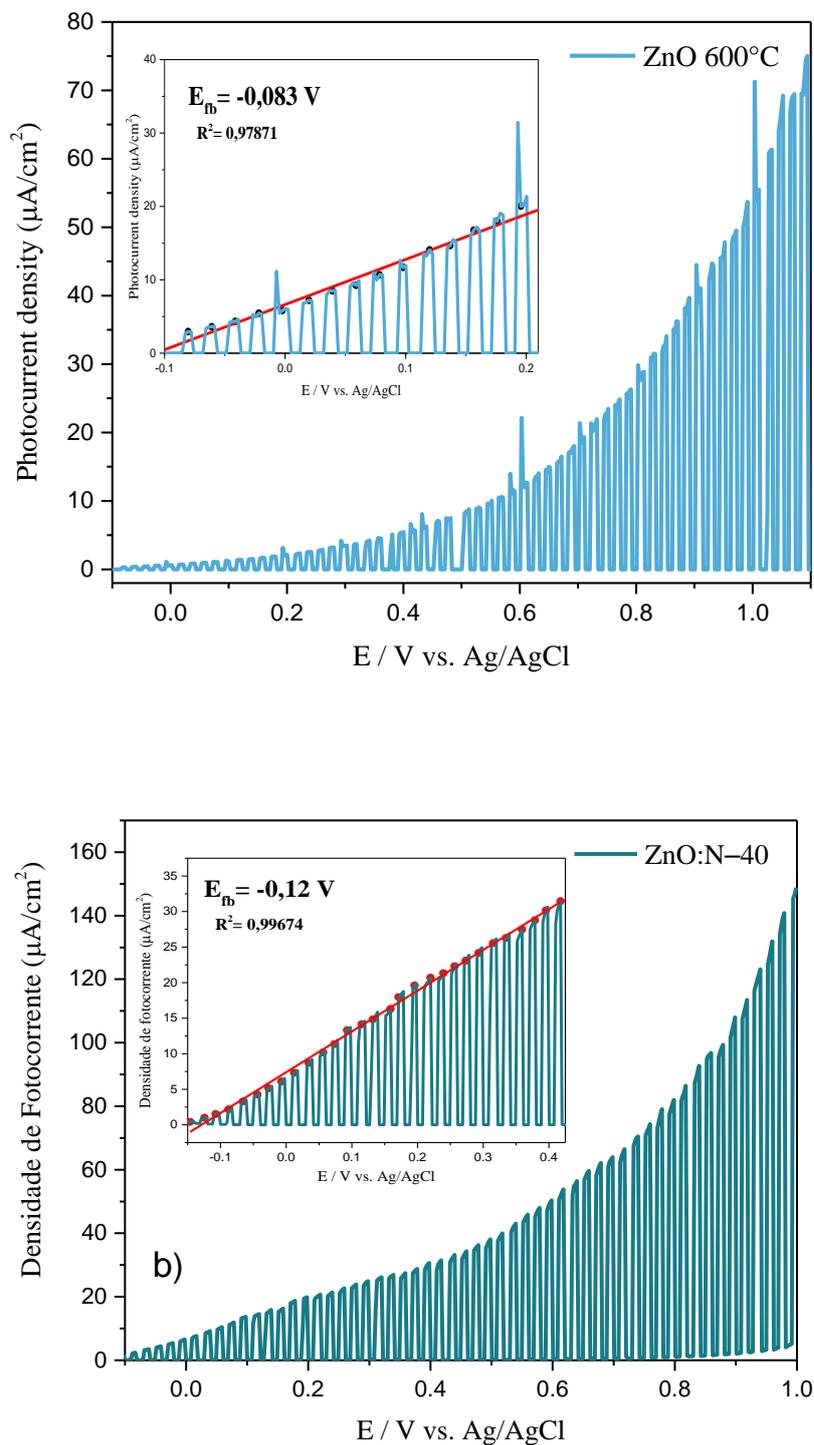
**Figura 4.6.** a) Representação esquemática da curva de fotocorrente transiente e gráfico normalizado da dependência fotocorrente-tempo (j-t) b) Curvas de densidade de fotocorrente-tempo com interrupção manual de luz a cada 300 s, sob aplicação de potencial de 0,7 V vs. Ag/AgCl para filmes de ZnO e ZnO:N e tempos de decaimento transiente.

Quando sujeito à irradiação, um pico inicial de fotocorrente é gerado, indicando a ocorrência de um processo de separação de cargas com a injeção de elétrons na banda de condução (BC), formando o par elétron-lacuna. A redução gradual da fotocorrente ao longo do tempo, atingindo um estado de corrente estacionária associado a uma concentração constante de elétrons, devido às condições de irradiação e polarização do semiconductor, sugere a ocorrência do processo de recombinação das cargas fotogeradas.<sup>[90]</sup> O filme de ZnO:N-60 apresentou o menor tempo de recombinação, justificando a redução em seu valor de fotocorrente nas curvas de voltametrias cíclicas apresentadas na Figura 4.4. Por outro lado, o filme ZnO:N-40 apresentou o maior tempo para a recombinação de cargas, indicando que as cargas passam mais tempo separadas; fato que justifica a maior fotocorrente das curvas de VC irradiadas, apresentadas anteriormente.

O comportamento da fotocorrente foi registrado usando os voltamogramas de varredura linear (LSV) para eletrodos de ZnO e ZnO:N-40 calcinados a 600 °C usando *chopper* manual de 10 s de intervalo de irradiação são mostrados na Figura 4.7 (a-b). A partir das curvas de fotocorrentes, foi possível estimar o potencial de banda plana (flat band -  $E_{fb}$ ), que pode ser considerado, com aproximação, ao potencial do nível de Fermi, aplicando-se o modelo de Burter-Gärtner (B-G), ou seja, a variação do quadrado da corrente.<sup>[91]</sup> Assim, o modelo de B-G pode ser representado pela equação 4:

$$I_{ph} = \alpha W_0 q \varphi_0 \sqrt{E - E_{fb}} \quad (4)$$

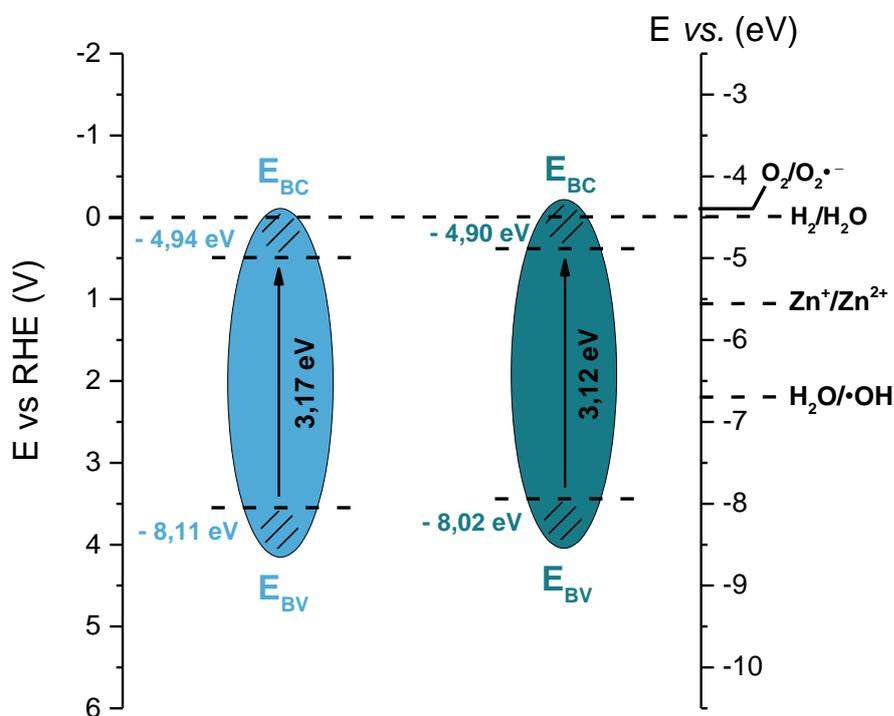
onde ( $\varphi_0$ ) é a intensidade irradiação, ( $\alpha$ ) o coeficiente de absorção, ( $q$ ) a carga do elétron, ( $W_0$ ) a largura da camada de depleção e ( $E_{fb}$ ) é o potencial da banda plana. Os valores de  $E_{fb}$  (fig. 4.7) determinados para os eletrodos de ZnO e ZnO:N-40 são de -0,083 e -0.12 V, respectivamente.



**Figura 4.7.** Voltagramas de varredura linear (LSV) dos filmes de (a) ZnO e (b) ZnO:N 40  $\text{cm}^3/\text{min}$  a 600 °C, sob iluminação sequencial de chopper de 10 s com faixa de

potencial anódico de -0,1 - 1,0 V (vs. Ag/AgCl) com uma taxa de varredura de 1,0 mV s<sup>-1</sup>. *Inset*: curvas J<sup>2</sup> vs. V pelo modelo de Butler-Gärtner.

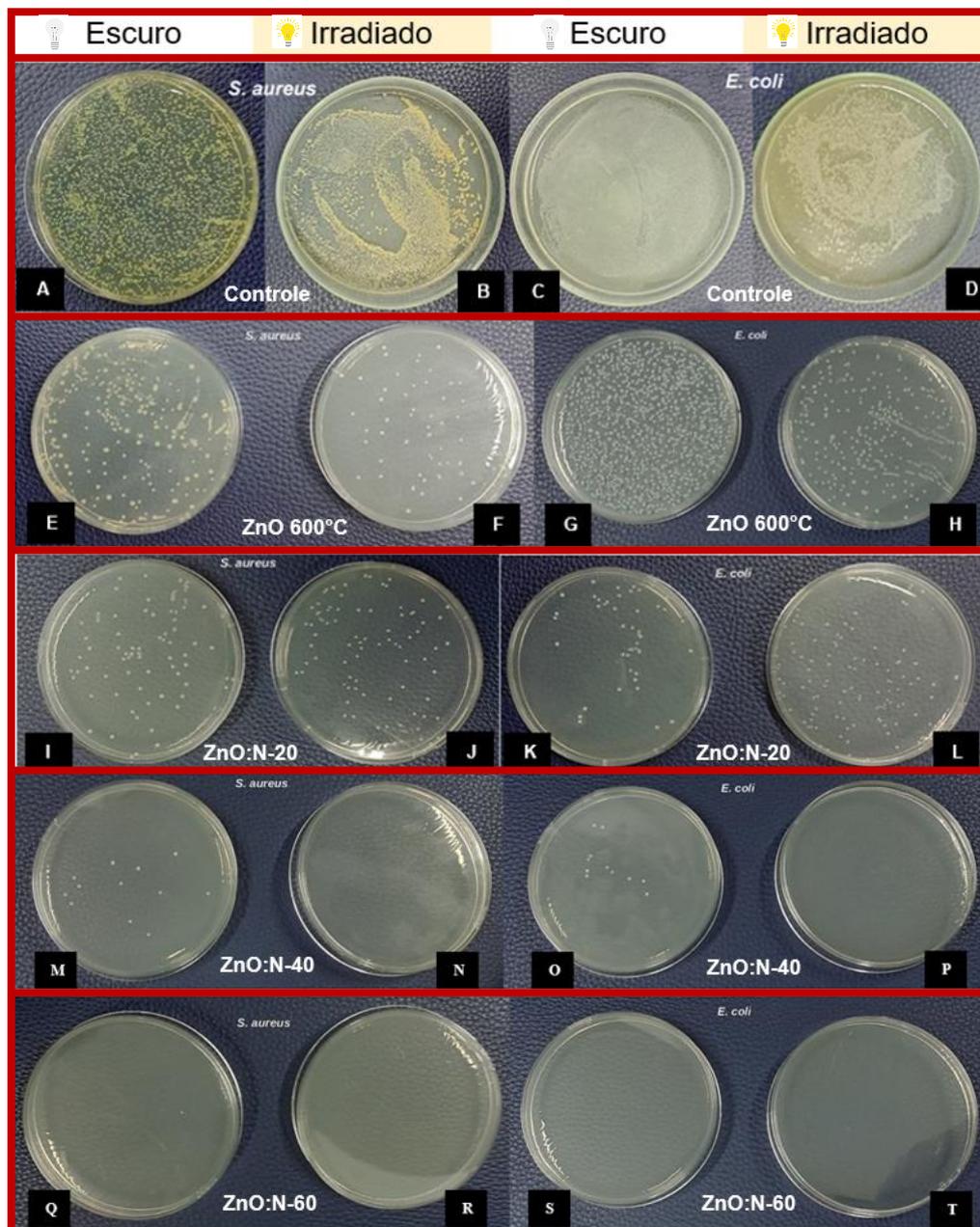
Em um semicondutor do tipo-n, o nível de Fermi está localizado muito próximo à banda de condução (BC), improvável no semicondutor do tipo-p, banda de valência (BV). Assim, o conhecimento do  $E_{fb}$  pode dar a posição de uma das duas bandas e consequentemente da outra conhecendo a  $E_{bg}$  do semicondutor. [92] A Fig. 4.8 representa as posições relativas do ZnO e ZnO:N-40 bordas das bandas de condução e valência, estimadas na energia do vácuo escala relativa ao RHE usando a Eq. 1 e Eq. 2. Com base nesses valores de  $E_{fb}$  e  $E_{bg}$ , foi possível estabelecer as posições relativas da BC e da BV na escala do Eletrodo de Hidrogênio Reversível (RHE). Através dessa representação, é possível determinar os potenciais de oxidação de cada fotoânodo em processos fotoeletrocatalíticos. Através das posições de banda, pode-se observar se as reações de geração de espécies reativas de oxigênio (ROS) são termicamente favoráveis. [93]



**Figura 4.8.** Posição das bordas das bandas de valência (BV) e condução (BC) para os filmes finos de ZnO e ZnO:N-40.

### **3.3 Avaliação da Atividade Antimicrobiana de Filmes de ZnO e ZnO:N**

A atividade antibacteriana das amostras de ZnO e ZnO:N (20, 40, 60 cm<sup>3</sup>/min) foi testada contra bactérias Gram positivas (*S.aureus*) e Gram negativa (*E.coli*). Os testes foram realizados na ausência de luz (escuro) e sob irradiação policromática. Foi utilizado o método de contagens das colônias como indicativo da atividade dos filmes na inibição bacteriana. A Figura 4.9 apresenta fotografias dos testes antibacteriano contra *S.aureus* e *E.coli* do grupo controle realizado em solução aquosa de Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> em condições de escuro e irradiado, além dos resultados dos estudos feitos com filmes de ZnO e ZnO:N. Uma sumarização dos resultados obtidos se encontra na Tabela 4.2.



**Figura 4.9.** Número de colônias crescidas após semeio em: (A, B) controle do crescimento do *S.aureus* no escuro e irradiado, (C, D) controle do crescimento da *E.coli* no escuro e irradiado, (E, F) colônias do *S.aureus* com ZnO 600°C escuro e irradiado, (G, H) colônias do *E.coli* com ZnO 600°C escuro e irradiado, (I, J) colônias do *S.aureus* com ZnO:N-20 escuro e irradiado, (K, L) colônias do *E.coli* com ZnO:N-20 escuro e irradiado, (M, N) colônias do *S.aureus* com ZnO:N-40 escuro e irradiado, (O, P) colônias do *E.coli* com ZnO:N-40 escuro e irradiado, (Q, R) colônias do *S.aureus* com ZnO:N-60 escuro e irradiado, (S, T) colônias do *E.coli* com ZnO:N-60 escuro e irradiado, respectivamente.

**Tabela 4.2.** Atividade bactericida dos filmes de ZnO e ZnO:N (20, 40, 60 cm<sup>3</sup>/min), sob condições de escuro e irradiado contra *S.aureus* e *E.coli*.

TRATAMENTO	<i>S. aureus</i>			<i>E. coli</i>		
	REPETIÇÃO			REPETIÇÃO		
	1	2	3	1	2	3
Controle (escuro)	*	*	*	*	*	*
Controle (irradiado)	*	*	768	*	*	*
ZnO (escuro)	202	131	178	*	*	*
ZnO (irradiado)	26	46	50	314	362	252
ZnO-N 20cm <sup>3</sup> /min. (escuro)	50	27	24	152	100	100
ZnO-N 20cm <sup>3</sup> /min. (irradiado)	74	30	34	70	60	40
ZnO-N 40cm <sup>3</sup> /min. (escuro)	15	11	11	7	6	10
ZnO-N 40cm <sup>3</sup> /min. (irradiado)	-	-	-	-	-	-
ZnO-N 60cm <sup>3</sup> /min. (escuro)	4	2	-	-	-	-
ZnO-N 60cm <sup>3</sup> /min. (irradiado)	-	-	-	-	-	-

\* Superpopulação - Incontável

- Não houve crescimento

A análise dos dados coletados das amostras testadas em *S. aureus* e *E. coli* apresentou claramente que a presença do dopante resultou em um efeito inibitório significativo. Especificamente, as amostras ZnO:N-40 irradiado e ZnO:N-60 no escuro e irradiado exibem uma concentração mais elevada de nitrogênio, o que contribuiu para danos na membrana celular.

As membranas celulares de *S. aureus* e *E. coli* apresentam diferenças significativas. *Staphylococcus aureus* é uma bactéria Gram-positiva, destaca-se por possuir uma camada de peptidoglicano mais rígida do que as bactérias Gram-

negativas. <sup>[94,95]</sup> *Escherichia coli* é uma bactéria Gram-negativa, caracterizada por uma fina camada de peptidoglicano e uma membrana externa adicional composta por lipopolissacarídeo. <sup>[96]</sup>

Zheng *et al.*<sup>[97]</sup> avaliaram a atividade antibacteriana de nanocristais de ZnO dopado com nitrogênio em cepas de *S. aureus* e *E. coli*. Sugerindo que a incorporação de nitrogênio na estrutura cristalina do ZnO melhorou a resposta óptica do ZnO e aumentou a atividade antibacteriana. Além disso, também foi observado que a atividade antibacteriana contra *S. aureus* e *E. coli* pode ser alcançada mesmo sem irradiação. Na literatura encontra-se alguns mecanismos que explique essa ação bactericida do ZnO. Os mecanismos gerais antibacterianos podem ser elucidados pelo estresse oxidativo, um processo que resulta na morte celular, causado pelas espécies reativas de oxigênio geradas durante a reação fotocatalítica, <sup>[98]</sup> liberação de íons metálicos, agindo por meio da desnaturação de proteínas, <sup>[77]</sup> entre outros. Não se conhece um mecanismo definitivo que desempenha a função principal na atividade antibacteriana.

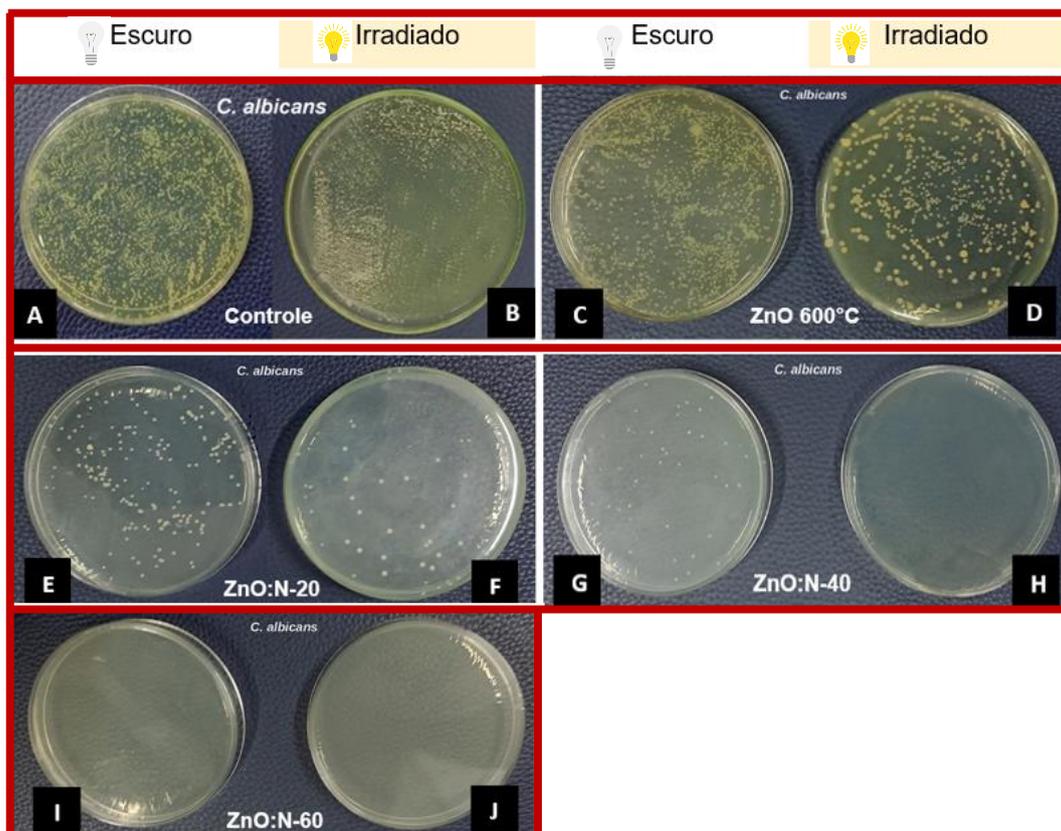
Além da atividade bactericida, avaliou-se a atividade fúngica para a levedura *C. albicans*, na figura 4.10 ilustram fotografias dos testes antifúngicos e os resultados obtidos se encontram na Tabela 4.3.

**Tabela 4.3.** Atividade fungicida dos filmes de ZnO e ZnO:N (20, 40, 60 cm<sup>3</sup>/min), sob condições de escuro e irradiado contra *C. albicans*.

TRATAMENTO	<i>C. albicans</i>		
	REPETIÇÃO		
	1	2	3
Controle (escuro)	*	*	*
Controle (irradiado)	*	*	*
ZnO (escuro)	442	388	400
ZnO (irradiado)	286	286	120
ZnO-N 20cm <sup>3</sup> /min. (escuro)	115	92	41
ZnO-N 20cm <sup>3</sup> /min. (irradiado)	37	24	17

ZnO-N 40cm <sup>3</sup> /min. (escuro)	57	27	11
ZnO-N 40cm <sup>3</sup> /min. (irradiado)	-	-	-
ZnO-N 60cm <sup>3</sup> /min. (escuro)	6	2	-
ZnO-N 60cm <sup>3</sup> /min. (irradiado)	3	-	-

- Não houve crescimento



**Figura 4.10.** Número de colônias crescidas após semeio em: (A, B) controle do crescimento do *C. albicans* no escuro e irradiado, (C, D) colônias do *C. albicans* com ZnO 600°C escuro e irradiado, (E, F) colônias do *C. albicans* com ZnO:N-20 escuro e irradiado, (G, H) colônias do *C. albicans* com ZnO:N-40 escuro e irradiado, (I, J) colônias do *C. albicans* com ZnO:N-60 escuro e irradiado, respectivamente.

Pereira-Silva *et al.* [99] investigaram filmes de ZnO, e apresentaram atividade antifúngica significativa, demonstrando uma forte capacidade de inibir o crescimento de células. Filmes finos de ZnO, mostraram-se capazes de reduzir a taxa de crescimento e inibir a *C. albicans*, diminuindo a integridade da membrana e redução da

atividade enzimática. <sup>[100]</sup> RAO *et al.* <sup>[101]</sup> relata que amostras de ZnO dopada com Na exibiram uma melhor ação antifúngica do que as de ZnO puro, ocorrendo devido ao aumento da concentração de dopante nas estruturas do óxido de zinco.

O efeito antifúngico dos filmes finos de ZnO pode ser atribuído aos íons de  $Zn^{2+}$  liberados pelo ZnO, <sup>[102]</sup> a formação de espécies reativas de oxigênio pela radiação UV, <sup>[103]</sup> e a desestabilização das membranas microbianas pela interação eletrostática entre ZnO e a parede celular dos microrganismos. <sup>[104]</sup> Além disso, DEVIRGILIIS *et al.* <sup>[105]</sup> relataram que os  $Zn^{2+}$  podem acumular-se rapidamente em vacúolos ou nos zincossomos de fungos, que servem como um mecanismo de proteção celular essencial para equilibrar o excesso e a deficiência de zinco. Sendo assim, os mecanismos de liberação de  $Zn^{2+}$  é influenciado por dois parâmetros principais: (i) as propriedades físico-químicas das partículas, incluindo porosidade, concentração, tamanho de partícula e morfologia. (ii) A química do meio: o pH, a iluminação UV, o tempo de exposição e a presença de elementos adicionais. <sup>[106]</sup> Neste estudo, a liberação de  $Zn^{2+}$  pode vir do processo de iluminação UV.

# Capítulo 5

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

---

Conclui-se que o presente trabalho possibilitou a investigação de filmes de ZnO pela técnica de eletrodeposição, os efeitos da dopagem dos filmes em variados fluxos de nitrogênio (20, 40 e 60 cm<sup>3</sup> min<sup>-1</sup>), e a influência da temperatura de calcinação nas propriedades ópticas e fotoeletroquímicas dos filmes. Além disso, investigou-se a eficácia dos filmes puro e dopados com N<sub>2</sub> para inativação de uma bactéria Gram-positiva (*Staphylococcus aureus*); Gram-negativa (*Escherichia coli*) uma espécie de levedura, fungo unicelular (*Candida albicans*), na ausência de luz e sob irradiação. Todos os filmes preparados apresentaram estrutura hexagonal wurtzita. Todos os filmes preparados sem dopante e em presença de N<sub>2</sub> apresentaram uma morfologia hexagonal e em forma de bastões.

Os estudos ópticos, realizados pela técnica de espectroscopia de UV-Vis, evidenciaram valores de intervalo de banda de 3,34; 3,23; 3,17 e 3,17 eV para os filmes de ZnO Puros calcinados a 100; 200; 400 e 600 °C, respectivamente, os valores obtidos estão em concordância com os parâmetros reportados na literatura. Já para os filmes dopados com N<sub>2</sub> com fluxos de 20, 40 e 60 cm<sup>3</sup>/min, os valores de E<sub>bg</sub> foi de 3,17, 3,12 e 3,12 eV, respectivamente, indicando que o processo de dopagem com N<sub>2</sub> não causou uma modificação significativa no valor de intervalo de banda proibida. Nos estudos fotoeletroquímicos, através da cronopotenciometria evidenciou que semicondutor e do tipo-n. Por meio dos voltamogramas cíclicos, sob irradiação policromática, mostraram que a densidade de fotocorrente para ZnO:N foi superior ao filme de ZnO, atingindo 60 cm<sup>-2</sup> a 0,70 V (vs. Ag/AgCl). Ainda nos voltamogramas cíclicos, notou-se que houve um aumento significativo de fotocorrente com o aumento do fluxo de N<sub>2</sub> de 20 para 40 cm<sup>3</sup>/min, enquanto o de 60 cm<sup>3</sup>/min apresentou um valor inferior aos outros dois. O tempo de recombinação das cargas elétron-buraco pode-se estimado a partir de curvas de corrente em função do tempo, na qual o ZnO:N-40 obteve maior tempo de recombinação de 49,5 s. A técnica de voltametria de varredura linear para os filmes ZnO e ZnO:N (40cm<sup>3</sup>/min) a 600 °C, realizada sob irradiação e

com chopper de 10 s possibilitou estimar os valores de banda plana ( $E_{fb}$ ), sendo estes -0,083 V e -0.12 V, respectivamente. O valor de  $E_{fb}$  obtido para o ZnO:N indica o deslocamento das bordas das bandas, favorecendo o material para processos fotoeletrocatalíticos. Para os testes de atividade antimicrobiana, todos os filmes dopados com nitrogênio sob irradiação mostraram eficácia na inibição da atividade bactericida de *S. aureus*. Para *E. Coli*, o ZnO:N 40 e 60 cm<sup>3</sup>/min apresentaram capacidade de inibição. O ZnO no escuro teve menor eficácia por conta das baixas concentrações de espécies Zn solubilizadas liberadas na dissolução do ZnO. Na avaliação da atividade antifúngica para a levedura *C. albicans*, o ZnO:N 40 cm<sup>3</sup>/min apresentou inibição ao fungo.

---

# REFERÊNCIAS

---

1. CATALANO, P. N., PEZZONI, M., COSTA, C., SOLER, G. J. D. A. A., BELLINO, M. G., DESIMONE, M. F. Optically transparent silver-loaded mesoporous thin film coating with long-lasting antibacterial activity. **Microporous and Mesoporous Materials**, v. 236, p. 158-166, 2016.
2. EJERHED, L., ROSHANI, L., ANDERSSON, A. E. Antimicrobial coating is associated with significantly lower aerobic colony counts in high-touch areas in an orthopedic ward environment. **Annals of clinical microbiology and antimicrobials**, v. 19, n. 1, p. 1-7, 2020.
3. COSTA, D., BORGES, J., MOTA, M. F., RODRIGUES, M. S., PEREIRA-SILVA, P., FERREIRA, A., VAZ, F. Effect of microstructural changes in the biological behavior of magnetron sputtered ZnO thin films. **Journal of Vacuum Science & Technology A**, v. 37, n. 1, 2019.
4. BIRKETT, M., DOVER, L., CHERIAN LUKOSE, C., WASY ZIA, A., TAMB UWALA, M. M., SERRANO-AROCA, Á. Recent advances in metal-based antimicrobial coatings for high-touch surfaces. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 23, n. 3, p. 1162, 2022.
5. KHARE, T., OAK, U., SHRIRAM, V., VERMA, S. K., KUMAR, V. Biologically synthesized nanomaterials and their antimicrobial potentials. *Engineered Nanomaterials And Phytonanotechnology: Challenges for Plant Sustainability*, p. 263-289, 2019.
6. CAMARGO, L. D. O., FONTOURA, I., VERIATO, T. S., RANIERO, L., CASTILHO, M. L. Antibacterial activity of silver nanoparticles functionalized with amikacin applied against multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii*. **American Journal of Infection Control**, v. 51, n. 8, p. 871-878, 2023.
7. AHMAD, T., WANI, I. A., MANZOOR, N., AHMED, J., ASIRI, A. M. Biosynthesis, structural characterization and antimicrobial activity of gold and silver nanoparticles. **Colloids And Surfaces B: Biointerfaces**, v. 107, p. 227-234, 2013.
8. BALESTRI, A., CARDELLINI, J., BERTI, D. Gold and Silver Nanoparticles as Tools to Combat Multidrug-Resistant Pathogens. **Current Opinion in Colloid & Interface Science**, p. 101710, 2023.

- 
9. ESCÁRCEGA-GONZÁLEZ, C. E., GARZA-CERVANTES, J. A., VAZQUEZ-RODRÍGUEZ, A., MONTELONGO-PERALTA, L. Z., TREVIÑO-GONZALEZ, M. T., DÍAZ BARRIGA CASTRO, E., MORONES-RAMIREZ, J. R. In vivo antimicrobial activity of silver nanoparticles produced via a green chemistry synthesis using *Acacia rigidula* as a reducing and capping agent. **International Journal Of Nanomedicine**, v. 13, p. 2349-2363, 2018.
  10. TANG, J., WEI, F., ZHAO, L., YANG, L., LI, J., SUN, Z., LIU, B. Superior antibacterial properties of copper-doped titanium oxide films prepared by micro-arc oxidation. **Ceramics International**. 2023.
  11. AMIRI, M., ETEMADIFAR, Z., DANESHKAZEMI, A., NATEGHI, M. Antimicrobial Effect of Copper Oxide Nanoparticles on Some Oral Bacteria and Candida Species. **Journal of Dental Biomaterials**, p. 347-352, 2017.
  12. PATHAK, T. K., KROON, R. E., CRACIUN, V., POPA, M., CHIFIRIUC, M. C., SWART, H. C. 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, 2019.
  13. ANTONETTE, L. CATHELENE; SHANTHI, J. Degradation of methylene blue using Methyltrimethoxysilane doped ZnO nanoparticles and inactivation of Gram (+ve) and (-ve) bacteria. **Results in Chemistry**, p. 100998, 2023.
  14. CHEN, X., WU, Z., LIU, D., GAO, Z. Preparation of ZnO Photocatalyst for the Efficient and Rapid Photocatalytic Degradation of Azo Dyes. **Nanoscale Research Letters**, v. 12, n. 1, p. 143, 2017.
  15. HESSIEN, M. Recent progress in zinc oxide nanomaterials and nanocomposites: From synthesis to applications. **Ceramics International**, v. 48, n. 16, p. 22609-22628, 2022.
  16. KABIR, R., SAIFULLAH, M. A. K., AHMED, A. Z., MASUM, S. M., MOLLA, M. A. I. Synthesis of N-Doped ZnO Nanocomposites for Sunlight Photocatalytic Degradation of Textile Dye Pollutants. **Journal Of Composites Science**, v. 4, n. 2, p. 49, 2020.
  17. APPLEROT, G., LIPOVSKY, A., DROR, R., PERKAS, N., NITZAN, Y., LUBART, R., GEDANKEN, A. Enhanced Antibacterial Activity of Nanocrystalline ZnO Due to Increased ROS-Mediated Cell Injury. **Adv. Funct. Mater.** p. 842–852, 2009.

18. PASQUET, J., CHEVALIER, Y., PELLETIER, J., COUVAL, E., BOUVIER, D., BOLZINGER, M. A. The contribution of zinc ions to the antimicrobial activity of zinc oxide. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v. 457, p. 263-274, 2014.
19. CARNEIRO, R. S., CANUTO, M. R., RIBEIRO, L. K., FERREIRA, D. C. L., ASSUNÇÃO, A. F. C., COSTA, C. A. C. B., UCHÔA, V. T. Novel antibacterial efficacy of ZnO nanocrystals/Ag nanoparticles loaded with extract of *Ximenia americana* L.(stem bark) for wound healing. **South African Journal of Botany**, v. 151, p. 18-32, 2022.
20. BIRON, D. S., SANTOS, V., BERGMANN, C. P. Tubular ceramic membranes coated with ZnO and applied in the disinfection of water contaminated with *Staphylococcus aureus*. **CERAMICS INTERNATIONAL**, v. 47, n. 19, p. 27082-27090, 2021.
21. KUMAR, P., DEV, S., KUMAR, A., THAKUR, R., DHAR, R. Impact of indium doping on the anti-biofilm activity of ZnO thin films against *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. **Superlattices and Microstructures**, v. 150, p. 106741, 2021.
22. MIRI, A., MAHDINEJAD, N., EBRAHIMY, O., KHATAMI, M., SARANI, M. Zinc oxide nanoparticles: Biosynthesis, characterization, antifungal and cytotoxic activity. **Materials Science and Engineering: C**, v. 104, p. 109981, 2019.
23. KHATOON, A., HUSSAIN, S. F., SHAHID, S. M., KUMAR, S., KHAN, S. A., SHAIKH, O. A., NASHWAN, A. J. Emerging Novel Sequence Types of *Staphylococcus aureus* in Pakistan. **Journal of Infection and Public Health**, 2023.
24. ZHANG, G., ZHANG, N., XU, J., YANG, T., YIN, H., CAI, Y. Efficacy and Safety of Vancomycin for the Treatment of *Staphylococcus aureus* Bacteremia: a Systematic Review and Meta-analysis. **International Journal of Antimicrobial Agents**, p. 106946, 2023.
25. BASU, A., MISRA, A. J., BEHERA, M., BEHERA, S. K., NAYAK, A. K., DHAL, N. K., TRIPATHY, S. K. Photocatalytic disinfection of extended-spectrum beta-lactamase producing *Escherichia coli* using Alumina/ZnO heterostructures. **Journal of Environmental Chemical Engineering**, v. 9, n. 6, p. 106334, 2021
26. DANANJAYA, S. H. S., KUMAR, R. S., YANG, M., NIKAPITIYA, C., LEE, J., ZOYSA, M. Synthesis, characterization of ZnO-chitosan nanocomposites and evaluation of its antifungal activity against pathogenic *Candida*

- 
- albicans. **International journal of biological macromolecules**, v. 108, p. 1281-1288, 2018.
27. SACHIVKINA, N., PODOPRIGORA, I., BOKOV, D. Morphological characteristics of *Candida albicans*, *Candida krusei*, *Candida guilliermondii*, and *Candida glabrata* biofilms, and response to farnesol. **Veterinary World**, v. 14, n. 6, p. 1608, 2021.
28. MU, J., SHAO, C., GUO, Z., ZHANG, Z., ZHANG, M., ZHANG, P., LIU, Y. High photocatalytic activity of ZnO– Carbon nanofiber heteroarchitectures. **ACS applied materials & interfaces**, v. 3, n. 2, p. 590-596, 2011.
29. GU, X. Q., ZHU, L. P., CAO, L., YE, Z. Z., HE, H. P., & CHU, P. K. Optical and electrical properties of ZnO: Al thin films synthesized by low-pressure pulsed laser deposition. **Materials science in semiconductor processing**, v. 14, n. 1, p. 48-51, 2011.
30. QI, K., CHENG, B., YU, J., HO, W. Review on the improvement of the photocatalytic and antibacterial activities of ZnO. **Journal Of Alloys And Compounds**, v. 727, p. 792-820, 2017.
31. GUPTA, R.; ESWAR, N. K.; MODAK, J. M.; MADRAS, G. Visible light driven efficient N and Cu co-doped ZnO for photoinactivation of *Escherichia coli*. **Rsc Advances**, v. 6, n. 89, p. 85675-85687, 2016.
32. SINORNATE, W., MIMURA, H., PECHARAPA, W. Structural, optical and electrical properties of Sb-doped ZnO/ZnO homojunction thin film structures prepared by sol-gel based coating process under nitrogen annealing atmosphere. **Optik**, v. 265, p. 169445, 2022.
33. ZHANG, X., ZHOU, L., TU, X., HU, F. Hydrothermal Synthesis of ZnO Crystals: Diverse Morphologies and Characterization of the Photocatalytic Properties. **Polyhedron**, p. 116668, 2023.
34. HOPOĞLU, H., AYDINOĞLU, H. S., ÖZER, A., TÜZEMEN, E. Ş. Investigation of nitrogen doped ZnO thin films: Effects on their structural and optical properties. **Optical Materials**, v. 122, p. 111685, 2021.
35. ARDEKANI, S. R., ROUHAGHDAM, A. S., NAZARI, M. N-doped ZnO-CuO nanocomposite prepared by one-step ultrasonic spray pyrolysis and its photocatalytic activity. **Chemical Physics Letters**, v. 705, p. 19-22, 2018.
36. WU, C., ZHANG, Y. C., HUANG, Q. Solvothermal synthesis of N-doped ZnO microcrystals from commercial ZnO powder with visible light-driven photocatalytic activity. **Materials Letters**, v. 119, p. 104-106, 2014.

- 
37. REIS, R. Y., LIMA, A. E., COSTA, M. J., CRUZ-FILHO, J. F., MOURA, J. P., SANTOS, R. S., LUZ JR, G. E. Enhanced photoelectrocatalytic performance of ZnO films doped with N<sub>2</sub> by a facile electrochemical method. **Surfaces and Interfaces**, v. 21, p. 100675, 2020.
  38. SHARMA, D. K., SHUKLA, S., SHARMA, K. K., KUMAR, V. A review on ZnO: fundamental properties and applications. **Materials Today: Proceedings**, v. 49, p. 3028-3035, 2020.
  39. ÖZGÜR, Ü.; ALIVOV, Ya. I.; LIU, C.; TEKE, A.; RESHCHIKOV, M. A.; DOĞAN, S.; AVRUTIN, V.; CHO, S.-J.; MORKOÇ, H.A comprehensive review of ZnO materials and devices. **Journal Of Applied Physics**, v. 98, n. 4, p. 041301, 2005.
  40. SAMADI, M.; ZIRAK, M.; NASERI, A.; KHORASHADIZADE, E.; MOSHFEG, A. Z. Recent progress on doped ZnO nanostructures for visible-light photocatalysis. **Thin Solid Films**, v. 605, p. 2-19, 2016.
  41. HESSIEN, M. Recent progress in zinc oxide nanomaterials and nanocomposites: from synthesis to applications. **Ceramics International**, v. 48, n. 16, p. 22609-22628, 2022.
  42. SANAKOUSAR, F.M.; VIDYASAGAR, C.C.; JIMÉNEZ-PÉREZ, V.M.; PRAKASH, K.. Recent progress on visible-light-driven metal and non-metal doped ZnO nanostructures for photocatalytic degradation of organic pollutants. **Materials Science In Semiconductor Processing**, v. 140, p. 106390, 2022.
  43. WANG, Z. L. Zinc oxide nanostructures: growth, properties and applications. **Journal Of Physics: Condensed Matter**, v. 16, n. 25, p. 829-858, 2004.
  44. AJANOTTI, A.; WALLE, C. G. V. Fundamentals of zinc oxide as a semiconductor. **Reports On Progress In Physics**, v. 72, n. 12, p. 126501, 2009.
  45. ASLAM, M., ISMAIL, I. M., ALMEELBI, T., SALAH, N., CHANDRASEKARAN, S., HAMEED, A. Enhanced photocatalytic activity of V<sub>2</sub>O<sub>5</sub>-ZnO composites for the mineralization of nitrophenols. **Chemosphere**, v. 117, p. 115-123, 2014. 27.
  46. ISMAIL, I. M., ASLAM, M., ALMEELBI, T., CHANDRASEKARAN, S., HAMEED, A. Ce<sup>3+</sup> impregnated ZnO: a highly efficient photocatalyst for sunlight mediated mineralization. **Rsc Adv.**, v. 4, n. 31, p. 16043-16046, 2014.
  47. REHMAN, S., ULLAH, R., BUTT, A., GOHAR, N. D. Strategies of making TiO<sub>2</sub> and ZnO visible light active. **Journal Of Hazardous Materials**, v. 170, n. 2-3, p. 560-569, 2009.

- 
48. SALAH, N., HAMEED, A., ASLAM, M., ABDEL-WAHAB, M. S., BABKAIR, S. S., BAHABRI, F. S. Flow controlled fabrication of N doped ZnO thin films and estimation of their performance for sunlight photocatalytic decontamination of water. **Chemical Engineering Journal**, v. 291, p. 115-127, 2016.
49. YOUSEFI, R.; JAMALI-SHEINI, F.; ZAK, A. K.; AZARANG, M. Growth and optical properties of ZnO–In<sub>2</sub>O<sub>3</sub> heterostructure nanowires. **Ceramics International**, v. 39, n. 5, p. 5191-5196, 2013.
50. SHRIVER, D.F.; ATKINS, P.W. Química Inorgânica. Porto Alegre: Bookman, 2003.
51. BACCARO, A. L. B; GUTZ, I. G. R. Fotoeletrocatalise em semicondutores: dos princípios básicos até sua conformação à nanoescala. **Química Nova**, v. 41, p. 326-339, 2018.
52. MA, Q.; YANG, X.; LV, X.; JIA, H.; WANG, Y. Cu doped ZnO hierarchical nanostructures: morphological evolution and photocatalytic property. **Journal Of Materials Science: Materials in Electronics**, v. 30, n. 3, p. 2309-2315, 2018.
53. 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.
54. PENG, Z.; WU, D.; WANG, W.; TAN, F.; WANG, X.; CHEN, J.; QIAO, X. Effect of metal ion doping on ZnO nanopowders for bacterial inactivation under visible-light irradiation. **Powder Technology**, v. 315, p. 73-80, 2017.
55. HAMDY, M. S., CHANDEKAR, K. V., SHKIR, M., ALFAIFY, S., IBRAHIM, E. H., AHMAD, Z., AL-NAMSHAH, K. S. Novel Mg@ ZnO nanoparticles synthesized by facile one-step combustion route for anti-microbial, cytotoxicity and photocatalysis applications. **Journal of Nanostructure in Chemistry**, v. 11, p. 147-163, 2021.
56. KHALID, A., AHMAD, P., ALHARTHI, A. I., MUHAMMAD, S., KHANDAKER, M. U., FARUQUE, M. R. I., KHAN, A. Synergistic effects of Cu-doped ZnO nanoantibiotic against Gram-positive bacterial strains. **Plos one**, v. 16, n. 5, p. e0251082, 2021.
57. LU, Y. H.; RUSSO, S. P.; FENG, Y. P. Effect of nitrogen and intrinsic defect complexes on conversion efficiency of ZnO for hydrogen generation from water. **Physical Chemistry Chemical Physics**, v. 13, n. 35, p. 15973, 2011.
58. LEE, E-C.; KIM, Y-S.; JIN, Y-G.; CHANG, K. J. Compensation mechanism for N acceptors in ZnO. **PHYSICAL REVIEW B**, v. 64, n. 8, p. 327-365, 2001.

- 
59. KUMARI, R.; SAHAI, A.; GOSWAMI, N. Effect of nitrogen doping on structural and optical properties of ZnO nanoparticles. **Progress in Natural Science: Materials International**, v. 25, n. 4, p. 300–309, 2015.
  60. RAMOS-CORONA, A.; RANGEL, R.; LARA-ROMERO, J.; RAMOS-CARRAZCO, A. Nitrogen-plasma doped ZnO-graphene oxide compounds production and their photocatalytic performance. **Advanced Powder Technology**, v. 33, n. 11, p. 103829, 2022.
  61. YU, Z.; YIN, L. C. L. C.; XIE, Y.; LIU, G.; MA, X.; CHENG, H. M. H. M. Crystallinity-dependent substitutional nitrogen doping in ZnO and its improved visible light photocatalytic activity. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 400, p. 18–23, 2013.
  62. SHANKAR, K.; TEP, K. C.; MOR, G. K.; GRIMES, C. A. An electrochemical strategy to incorporate nitrogen in nanostructured TiO<sub>2</sub> thin films: Modification of bandgap and photoelectrochemical properties. **Journal of Physics D: Applied Physics**, v. 39 (11), p. 2361–2366, 2006.
  63. LU, J., ZHANG, Q., WANG, J., SAITO, F., UCHIDA, M. Synthesis of N-Doped ZnO by grinding and subsequent heating ZnO-urea mixture. **Powder technology**, v. 162, n. 1, p. 33-37, 2006.
  64. RAJBONGSHI, B. M.; RAMCHIARY, A.; SAMDARSHI, S. Influence of N-doping on photocatalytic activity of ZnO nanoparticles under visible light irradiation. **Materials Letters**, v. 134, p. 111–114, 2014.
  65. WU, C. Facile one-step synthesis of N-doped ZnO micropolyhedrons for efficient photocatalytic degradation of formaldehyde under visible-light irradiation. **Applied Surface Science**, v. 319(1), p. 237-243, 2014.
  66. SIRELKHATIM, A., MAHMUD, S., SEENI, A., KAUS, N. H. M., ANN, L. C., BAKHORI, S. K. M., MOHAMAD, D. Review on zinc oxide nanoparticles: antibacterial activity and toxicity mechanism. **Nano-micro letters**, v. 7, n. 3, p. 219–242, 2015.
  67. MUZAFFAR, S. NAEEM ASLAM, M.; REHMAN; S.; UMER, S.; AHMED, S.; ZAHRA, S. R.; ANWAR, H. A simple and low-cost purification method for microbial-free water using zinc oxide nanoparticles. **IOP Conference Series: Materials Science and Engineering**, v. 863, n.1, p. 012037, 2020.
  68. SHI, L. E., LI, Z. H., ZHENG, W., ZHAO, Y. F., JIN, Y. F., & TANG, Z. X. Synthesis, antibacterial activity, antibacterial mechanism and food applications of ZnO

- nanoparticles: a review. **Food Additives & Contaminants: Part A**, v. 31, n. 2, p. 173-186, 2014.
69. SELVAM, S., SUNDRARAJAN, M. 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.
70. YEMMIREDDY, V. K., HUNG, Y. C. Using photocatalyst metal oxides as antimicrobial surface coatings to ensure food safety—Opportunities and challenges. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 16, n. 4, p. 617-631, 2017.
71. MAO, H., ZHANG, B., NIE, Y., TANG, X., YANG, S., ZHOU, S. Enhanced antibacterial activity of V-doped ZnO@ SiO<sub>2</sub> composites. **Applied Surface Science**, v. 546, p. 149127, 2021.
72. SUN, Y., ZHANG, W., LI, Q., LIU, H., WANG, X. Preparations and applications of zinc oxide based photocatalytic materials. **Advanced Sensor and Energy Materials**, p. 100069, 2023.
73. MESAROS, A., VASILE, B. S., TOLOMAN, D., POP, O. L., MARINCA, T., UNGURESAN, M., IORDACHE, F. Towards understanding the enhancement of antibacterial activity in manganese doped ZnO nanoparticles. **Applied Surface Science**, v. 471, p. 960-972, 2019.
74. TOLOSSA, W. K., SHIBESHI, P. T. Structural, optical and enhanced antibacterial activities of ZnO and (Co, Fe) co-doped ZnO nanoparticles by sol-gel combustion method. **Chemical Physics Letters**, v. 795, p. 139519, 2022.
75. CADET, J., TEOULE, R. Comparative study of oxidation of nucleic acid components by hydroxyl radicals, singlet oxygen and superoxide anion radicals. **Photochemistry and Photobiology**, v. 28, n. 4-5, p. 661-665, 1978.
76. TIWARI, V., MISHRA, N., GADANI, K., SOLANKI, P. S., SHAH, N. A., TIWARI, M. Mechanism of anti-bacterial activity of zinc oxide nanoparticle against carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii*. **Frontiers in microbiology**, v. 9, p. 1218, 2018.
77. SASI, S., FASNA, P. F., SHARMILA, T. B., CHANDRA, C. J., ANTONY, J. V., RAMAN, V., RAMANATHAN, H. N. Green synthesis of ZnO nanoparticles with enhanced photocatalytic and antibacterial activity. **Journal of Alloys and Compounds**, v. 924, p. 166431, 2022.
78. SMAOUI, S.; CHÉRIF, I.; HLIMA, H. B.; KHAN, M. U.; REBEZOV, M.; THIRUVENGADAM, M.; SARKAR, T.; SHARIATI, M. A.; LORENZO, J. M. Zinc

- oxide nanoparticles in meat packaging: a systematic review of recent literature. **Food Packaging And Shelf Life**, v. 36, p. 101045, 2023.
79. JOE, A., PARK, S. H., SHIM, K. D., KIM, D. J., JHEE, K. H., LEE, H. W., JANG, E. S. Antibacterial mechanism of ZnO nanoparticles under dark conditions. **Journal of Industrial and Engineering Chemistry**, v. 45, p. 430-439, 2017.
80. GOW, N. A.; LATGE, J-P.; MUNRO, C. A. The fungal cell wall: structure, biosynthesis, and function. **Microbiology spectrum**, v. 5, n. 3, p. 10.1128, 2017.
81. LI, J.; SANG, H.; GUO, H.; POPKO, J. T.; HE, L.; WHITE, J. C.; DHANKHER, O. P.; JUNG, G.; XING, B. Antifungal mechanisms of ZnO and Ag nanoparticles to *Sclerotinia homoeocarpa*. **Nanotechnology**, v. 28, n. 15, p. 155101, 2017.
82. TEODORO, J. S.; SIMÕES, A. M.; DUARTE, F. V.; ROLO, A. P.; MURDOCH, R. C.; HUSSAIN, S. M.; PALMEIRA, C. M. Assessment of the toxicity of silver nanoparticles in vitro: a mitochondrial perspective. **Toxicology In Vitro**, v. 25, n. 3, p. 664-670, 2011.
83. CHOUDHURY, D., DOBHAL, P., SRIVASTAVA, S., KUNDU, S. Role of botanical plant extracts to control plant pathogens-A review. **Indian Journal of Agricultural Research**, v. 52, n. 4, p. 341-346, 2018.
84. DHIMAN, S., VARMA, A., PRASAD, R., GOEL, A. Mechanistic Insight of the Antifungal Potential of Green Synthesized Zinc Oxide Nanoparticles against *Alternaria brassicae*. *Journal of Nanomaterials*, v. 2022, 2022.
85. GUDKOV, S.V., BURMISTROV, D.E., SEROV, D.A., REBEZOV, M.B., SEMENOVA, A.A., LISITSYN, A.B. A mini review of antibacterial properties of ZnO nanoparticles. **Frontiers in Physics**, v. 9, p. 641481, 2021.
86. PITOMBEIRA, D. R., COSTA, M. J., ANTUNES, R. A., FERREIRA, R. O., SILVA, R. M., SANTOS, R. S. Crystalline S-doped TiO<sub>2</sub> photoanodes from amorphous titanium oxysulfide (TiO<sub>x</sub>S<sub>y</sub>) for photo-oxidation reactions. **Optical Materials**, v. 142, p. 114081, 2023.
87. ALBERTSSON, J.; ABRAHAMS, S. C.; KVICK, Å. Atomic displacement, anharmonic thermal vibration, expansivity and pyroelectric coefficient thermal dependences in ZnO. **Acta Crystallographica Section B: Structural Science**, v. 45, n. 1, p. 34-40, 1989.
88. BARBOSA, M. L., COSTA, M. J. S., LIMA, A. E. B., BATISTA, A. M., LONGO, E., CAVALCANTE, L. S., SANTOS, R. S. Anionic and cationic dyes removal by

- degradation via photoelectrocatalysis using a WO<sub>3</sub>/CuWO<sub>4</sub> heterojunction film as a photoanode. **Nano-Structures & Nano-Objects**, v. 35, p. 100993, 2023.
89. TIRON, V., VELICU, I. L., STANESCU, D., MAGNAN, H., SIRGHI, L. High visible light photocatalytic activity of nitrogen-doped ZnO thin films deposited by HiPIMS. **Surface and Coatings Technology**, v. 324, p. 594-600, 2017.
90. RESENDE, A. L., COSTA, A. G., LIMA, A. E., COSTA, M. J., LONGO, E., CAVALCANTE, L. S., SANTOS, R. S. An investigation of photovoltaic devices based on p-type Cu<sub>2</sub>O and n-type  $\gamma$ -WO<sub>3</sub> junction through an electrolyte solution containing a redox pair. **International Journal of Energy Research**, v. 45, n. 2, p. 2797-2809, 2021.
91. COSTA, M. J. S., COSTA, G. S.; LIMA, A. E. B.; JUNIOR, G. E. L.; LONGO, E.; CAVALCANTE, L. S.; SANTOS, R. S. Photocurrent Response and Progesterone Degradation by Employing WO<sub>3</sub> Films Modified with Platinum and Silver Nanoparticles. **ChemPlusChem**, v. 83, n. 12, p. 1153–1161, 2018.
92. MINELLA, M., MAURINO, V., MINERO, C., PELIZZETTI, E. Thin Film Nanocrystalline TiO<sub>2</sub> Electrodes: Dependence of Flat Band Potential on pH and Anion Adsorption. **Journal of Nanoscience and Nanotechnology**. v. 15, n. 5, p. 3348–3358, 2015.
93. LI, Y., ZHANG, W., NIU, J., CHEN, Y. Mechanism of photogenerated reactive oxygen species and correlation with the antibacterial properties of engineered metal-oxide nanoparticles. *ACS nano*, v. 6, n. 6, p. 5164-5173, 2012.
94. KONG, J., ZHANG, J., SHEN, M., ZHANG, S., SHEN, P., REN, C. Preparation of manganese (II) oxide doped zinc oxide nanocomposites with improved antibacterial activity via ROS. **Chemical Physics Letters**, v. 806, p. 140053, 2022.
95. RANJITHKUMAR, B., KUMAR, E. R., SRINIVAS, M., RAMALINGAM, H. B., SRINIVAS, C., MAGESH, G., CHANDARSHEKAR, B. Evaluation of structural, surface morphological and thermal properties of Ag-doped ZnO nanoparticles for antimicrobial activities. **Physica E: Low-dimensional Systems and Nanostructures**, v. 133, p. 114801, 2021.
96. ROCHA, M., ARAUJO, F. P., CASTRO-LOPES, S., DE LIMA, I. S., SILVA-FILHO, E. C., OSAJIMA, J. A., PEÑA-GARCIA, R. Synthesis of Fe–Pr co-doped ZnO nanoparticles: Structural, optical and antibacterial properties. **Ceramics International**, v. 49, n. 2, p. 2282-2295, 2023.

- 
97. ZHENG, M., WU, J. One-step synthesis of nitrogen-doped ZnO nanocrystallites and their properties. **Applied Surface Science**, v. 255, n. 11, p. 5656-5661, 2008.
  98. SINGH, R., CHENG, S., & SINGH, S. Oxidative stress-mediated genotoxic effect of zinc oxide nanoparticles on *Deinococcus radiodurans*. **3 Biotech**, v. 10, p. 1-13, 2020.
  99. PEREIRA-SILVA, P., COSTA-BARBOSA, A., COSTA, D., RODRIGUES, M. S., CARVALHO, P., BORGES, J., SAMPAIO, P. Antifungal activity of ZnO thin films prepared by glancing angle deposition. **Thin Solid Films**, v. 687, p. 137461, 2019
  100. COSTA, D., BORGES, J., MOTA, M. F., RODRIGUES, M. S., PEREIRA-SILVA, P., FERREIRA, A., VAZ, F. Effect of microstructural changes in the biological behavior of magnetron sputtered ZnO thin films. **Journal of Vacuum Science & Technology A**, v. 37, n. 1, 2019.
  101. RAO, B. N.; RAO, P. T.; VASUDHA, K.; BASHA, S. E.; PRASANNA, D. S. L.; RAO, T. B.; SAMATHA, K.; RAMACHANDRA, R. K.. Physiochemical characterization of sodium doped zinc oxide nano powder for antimicrobial applications. **Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, v. 291, p. 122297, 2023.
  102. KASEMETS, K., IVASK, A., DUBOURGUIER, H. C., KAHRU, A. Toxicity of nanoparticles of ZnO, CuO and TiO<sub>2</sub> to yeast *Saccharomyces cerevisiae*. **Toxicology in vitro**, v. 23, n. 6, p. 1116-1122, 2009.
  103. JALAL, R., GOHARSHADI, E. K., ABARESHI, M., MOOSAVI, M., YOUSEFI, A., NANCARROW, P. ZnO nanofluids: green synthesis, characterization, and antibacterial activity. **Materials Chemistry and Physics**, v. 121, n. 1-2, p. 198-201, 2010.
  104. ZHANG, L., DING, Y., POVEY, M., YORK, D. ZnO nanofluids—A potential antibacterial agent. **Progress in Natural Science**, v. 18, n. 8, p. 939-944, 2008.
  105. DEVIRGILIIS, C., MURGIA, C., DANSCHER, G., PEROZZI, G. Exchangeable zinc ions transiently accumulate in a vesicular compartment in the yeast *Saccharomyces cerevisiae*. **Biochemical and biophysical research communications**, v. 323, n. 1, p. 58-64, 2004.
  106. PASQUET, J., CHEVALIER, Y., COUVAL, E., BOUVIER, D., NOIZET, G., MORLIÈRE, C., BOLZINGER, M. A. 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, n. 1-2, p. 92-100, 2014.