



ARTIGO ORIGINAL

OPEN ACCESS

NANOCOMPÓSITOS HÍBRIDOS BASEADOS EM CeO_2 , Ag_{NANO} E CELULOSE: PREPARAÇÃO, CARACTERIZAÇÃO E ESTUDO ANTIMICROBIANO

HYBRID NANOCOMPOSITES BASED ON CeO_2 , Ag_{NANO} AND CELLULOSE: PREPARATION, CHARACTERIZATION AND ANTIMICROBIAL STUDY

NANOCOMPOSITOS HÍBRIDOS A BASE DE CeO_2 , Ag_{NANO} Y CELULOSA: PREPARACIÓN, CARACTERIZACIÓN Y ESTUDIO ANTIMICROBIANO

Gustavo Teixeira Machado¹, **Carla da Silva Meireles**², & **George Ricardo Santana Andrade**^{3*}

^{1,2,3} Universidade Federal do Espírito Santo, Centro Universitário Norte do Espírito Santo

¹gustavo.t.machado@edu.ufes.br ²carla.meireles@ufes.br ^{3*}george.andrade@ufes.br

PALAVRAS-CHAVE: Nanomateriais; Atividade antibacteriana; Curativos de pele.

KEYWORDS: Nanomaterials; Antibacterial activity; Skin dressings.

PALABRAS CLAVE: Nanomateriales; Actividad antibacterial; Apósitos para la piel.

*Autor Correspondente: Andrade, G. R. S.

RESUMO

A cicatrização de feridas é foco de inúmeros estudos na literatura, uma vez que a exposição de ferimentos ou lesões na pele torna o organismo suscetível a ataques biológicos, como bactérias e fungos, afetando diretamente a qualidade de vida e os sistemas de saúde em diversas esferas. Nesse contexto, a busca por estratégias inovadoras para o tratamento de feridas cutâneas tem sido intensificada, com foco principal na utilização de biomateriais. A utilização da celulose como matriz polimérica, incorporando óxido de cério (CeO_2) e nanopartículas de prata (Ag_{NANO}), oferece ao biocurativo propriedades curativas, como atividade antioxidante e antibacteriana, respectivamente. Estudos conduzidos por meio de técnicas como UV-vis e DRX revelaram que a energia de *bandgap* das nanopartículas de CeO_2 é de aproximadamente 2,98 eV, com uma geometria de cristalito do tipo fluorita de simetria cúbica e um diâmetro médio de 6,64 nm. O teor de lignina, determinado pelo método de Klason, foi de 3,1%. Discos preparados a partir de membranas de celulose puras e impregnadas com NPs $\text{CeO}_2/\text{Ag}_{\text{NANO}}$ demonstraram atividade antimicrobiana contra bactérias como *S. aureus* e *E. coli*.

ABSTRACT

Wound healing is the focus of numerous studies in the literature, since the exposure of wounds or lesions to the skin makes the body susceptible to biological attacks, such as bacteria and fungi, directly affecting the quality of life and health systems in different spheres. In this context, the search for innovative strategies for the treatment of skin wounds has been intensified, with a main focus on the use of biomaterials. The use of cellulose as a polymeric matrix, incorporating cerium oxide (CeO_2) and silver nanoparticles (Ag_{NANO}), offers the biodressing healing properties, such as antioxidant and antibacterial activity, respectively. Studies conducted using techniques such as UV-vis and XRD revealed that the *bandgap* energy of CeO_2 nanoparticles is approximately 2.98 eV, with a fluorite-type crystallite

*geometry of cubic symmetry and an average diameter of 6.64 nm. The lignin amount was 3.1%. Discs prepared from pure cellulose and membranes impregnated with $\text{CeO}_2/\text{Ag}_{\text{NANO}}$ NPs demonstrated antimicrobial activity against bacteria such as *S. aureus* and *E. coli*.*

RESUMEN

La cicatrización de heridas es foco de numerosos estudios en la literatura, ya que la exposición de heridas o lesiones en la piel hace que el organismo sea susceptible a ataques biológicos, como bacterias y hongos, afectando directamente la calidad de vida y los sistemas de salud en diferentes ámbitos. En este contexto, se ha intensificado la búsqueda de estrategias innovadoras para el tratamiento de heridas cutáneas, con especial foco en el uso de biomateriales. El uso de celulosa como matriz polimérica, incorporando óxido de cerio (CeO_2) y nanopartículas de plata (Ag_{NANO}), ofrece al bioapósito propiedades curativas, como actividad antioxidante y antibacteriana, respectivamente. Estudios realizados utilizando técnicas como UV-vis y XRD revelaron que la energía de banda prohibida de las nanopartículas de CeO_2 es de aproximadamente 2,98 eV, con una geometría de cristalito tipo fluorita de simetría cúbica y un diámetro promedio de 6,64 nm. El contenido de lignina, determinado según el método Klason, fue del 3,1%. Los discos preparados a partir de membranas de celulosa pura impregnadas con NP de $\text{CeO}_2/\text{Ag}_{\text{NANO}}$ demostraron actividad antimicrobiana contra bacterias como *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*.



INTRODUÇÃO

Ferimentos ou lesões expostas prejudicam a integridade da pele, tornando-a susceptível a ataques biológicos, tais como bactérias e fungos. Desse modo, a busca por materiais e compostos, que em conjunto possam favorecer a proliferação e a remodelação do tecido afetado, tem sido elevada, tornando uma área emergente na Ciência de Materiais e na Medicina Regenerativa (Zarei & Hassanzadeh-Tabrizi, 2023). Os materiais celulósicos podem ser amplamente utilizados como matriz polimérica para ancoragem de materiais bioativos, devido ao seu baixo custo e sua boa adesão em diferentes tipos de topografias (Ma et al., 2023; C. Yang et al., 2024). Infecções bacterianas e elevada produção de espécies reativas de oxigênio (EROs) estão dentre as complicações mais comuns em ferimentos, logo, a incorporação de nanopartículas (NPs) de óxido de Cério (CeO₂) e de prata (Ag_{NANO}) na matriz, pode garantir ao curativo propriedades antioxidantes e antibacteriana (Grizzo et al., 2023; Z. Yang et al., 2021).

Esse trabalho tem como objetivo a preparação dos nanocristais de CeO₂ utilizando um método hidrotérmico, assim como a caracterização dessa amostra por difração de raios X (DRX), calculando, pela equação de Scherrer, o tamanho médio do cristalito a partir do pico de maior intensidade, além da observação da absorção na região do UV-vis da amostra no estado sólido. Ademais, tem-se a preparação dos sistemas nanoestruturados de CeO₂/Ag por fotodeposição e a obtenção da celulose para posterior uso como matriz de ancoragem das nanopartículas. Avaliou-se também o teor de lignina, através do método lignina de Klason, assim como a atividade antimicrobiana dos filmes de celulose com NPs de CeO₂/Ag, utilizando o método de difusão em disco.

METODOLOGIA

PREPARAÇÃO DAS AMOSTRAS

Os nanocristais de CeO₂ foram preparados através de uma adaptação do método hidrotérmico reportado por Lei et al. (Lei et al., 2015). Já a preparação das Ag_{NANO} *in situ* na superfície dos nanocristais de CeO₂, utilizou-se um método da fotodeposição descrito previamente na literatura (Andrade et al., 2017). Neste método, a suspensão aquosa de CeO₂ e nitrato de prata foi irradiada com luz UV utilizando uma lâmpada de luz negra (365 nm). As amostras foram caracterizadas por DRX e Espectroscopia na região do UV-vis.

A celulose utilizada neste trabalho foi obtida do bagaço de cana-de-açúcar *in natura*. 20g do bagaço, triturado e seco, foram colocados sob refluxo com 300 mL de HCl 1%(v/v) durante 1 hora, a 70 °C. Após, o material passou por um tratamento sob refluxo com 300 mL de solução de NaOH 1 mol/L por 1 hora a 90 °C. Em seguida, a mistura foi submetida a um processo de branqueamento com peróxido de hidrogênio 15% (pH ajustado em 11) a 50°C durante 1 h. Por fim, o material foi filtrado e seco em estufa por 3 h a aproximadamente 100 °C. A quantidade de lignina foi mensurada pelo método lignina de Klason (EMBRAPA, 2011).

Os filmes baseados em celulose e CeO₂/Ag_{NANO} foram preparados pelo método de *casting* através da solubilização da celulose em uma solução ternária de NaOH, tiourea e água destilada (5/6/89% m/m, respectivamente) e adição de uma quantidade conhecida de



CeO₂/Ag_{NANO}. Em seguida, realizou-se o espalhamento do gel em placa de petri, onde permaneceu até a secagem.

ESTUDO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA

Para este estudo, adotou-se o teste de difusão em disco de Bauer et al. (Bauer et al., 1966). Os filmes, esterilizados sob radiação UV, foram cortados em discos de 6 mm de diâmetro. Em seguida, culturas de microorganismos do tipo *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli* foram espalhadas em estrias em placas de petri e os discos dos filmes foram adicionados a cada placa contendo as bactérias. Após incubação por 24 horas a 37 °C, mediu-se os diâmetros da zona de inibição. Para fins comparativos, os ensaios foram realizados com filmes de celulose, ciprofloxacina e oxacilina.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

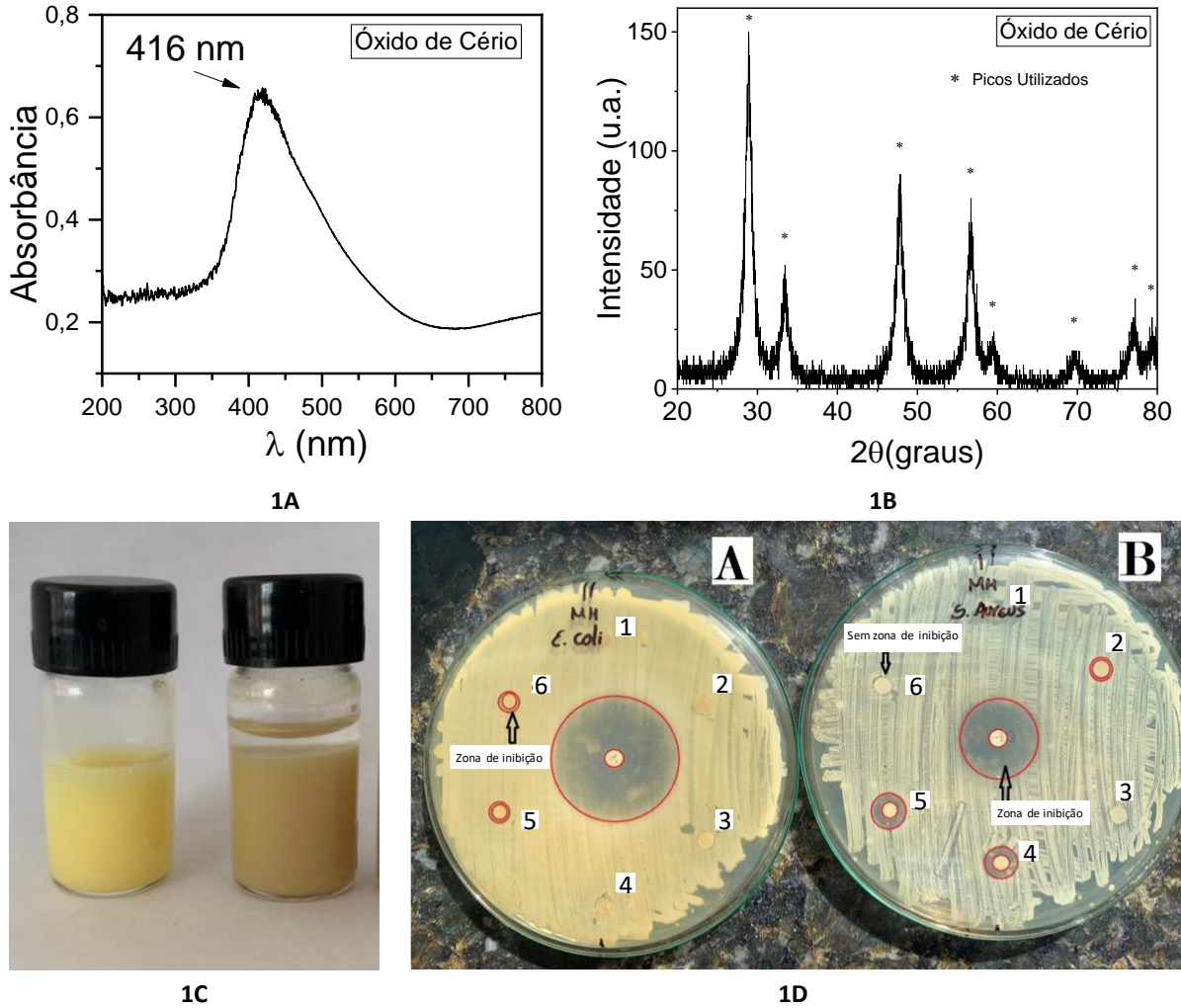
Os nanocristais de CeO₂ foram caracterizadas pela espectroscopia de absorção no UV-vis e DRX. A partir do valor máximo de absorção da amostra (ver Figura 1A), calculou-se o valor de *bandgap*, estimado em, aproximadamente, 2,98 eV. Este resultado sugere que houve a diminuição do tamanho da partícula e aumento da sua energia de *bandgap* ao comparar com sua forma macrocristalina (Fudala et al., 2022; Nath et al., 2022). As análises de DRX (ver Figura 1B) mostraram a presença de uma fase de CeO₂ com simetria cúbica (JCPDS 43-1002). Nota-se picos de difração largos e de baixa intensidade que, junto com os resultados de espectroscopia no UV-vis, sugerem um material nanoestruturado. O tamanho médio do cristalito, estimado pela equação de Scherrer, foi de 6,64 nm. As nanopartículas de prata foram preparadas *in situ* nas nanoestruturas de CeO₂, onde os íons Ag⁺, adsorvidos na superfície, sofreram redução, alterando a cor original da suspensão do CeO₂ (ver Figura 1C), indicando a formação das Ag_{NANO}, como reportado previamente na literatura (Murugadoss et al., 2021). O teor de lignina do biopolímero foi determinado a partir da massa da lignina insolúvel em meio ácido, obtendo o valor de 3,1%.

O material foi submetido a um tratamento ácido e posteriormente básico, visando desmembrar o complexo ligninacelulose-poliose e facilitar o acesso a suas regiões cristalinas, respectivamente. A análise da atividade antibacteriana foi realizada com colônias de bactérias do tipo *Escherichia coli* (Gram-negativas) e *Staphylococcus aureus* (Gram-positivas). Essas cepas bacterianas foram escolhidas por serem patógenos comumente encontradas em casos de infecções secundárias em ferimentos de pele (Naskar & Kim, 2020). Os resultados deste estudo estão disponíveis na Figura 1D e no Quadro 1. Como pode ser observado, os discos feitos apenas com o material celulósico extraído do bagaço da cana-de-açúcar, apresentaram inibição em ambas bactérias. O papel filtro impregnado com o composto híbrido CeO₂/Ag_{NANO} apresentou fraca ação antibacteriana, e apenas contra *E. coli*. Já o *S. aureus* apresentou sensibilidade contra os discos feitos com celulose extraído tanto do bagaço e da polpa, além do disco que continha CeO₂/Ag_{NANO} ancorados na celulose extraída do bagaço da cana-de-açúcar.



Citação (APA): Machado, G. T., Meireles, C. da S., & Andrade, G. R. S. (2023). Nanocompósitos híbridos baseados em CeO₂, AgNANO e celulose: preparação, caracterização e estudo antimicrobiano. *Brazilian Journal of Production Engineering*, 9(6), Edição Especial "Semana de Química do Norte do Espírito Santo (SEQUINES)", 35-39.

Figura 1. A) Espectro de absorção no UV-vis da amostra CeO₂; B) Padrão de difração da amostra CeO₂; C) Fotografias as amostras CeO₂/AgNANO D) Fotografia das placas de petri utilizadas no teste de atividade antibacteriana. (A) *Escherichia coli*; (B) *Staphylococcus aureus*; (1) papel filtro com CeO₂; (2) celulose (polpa); (3) celulose (polpa) com CeO₂/AgNANO; (4) celulose (bagaço) com CeO₂/AgNANO; (5) celulose (bagaço); (6) papel filtro com CeO₂/AgNANO.



Fonte: Autores (2023).

Quadro 1. Quadro de resultados da avaliação antibacteriana.

Disco	Composição	<i>Escherichia coli</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
1	Papel filtro + CeO ₂	Resistente	Resistente
2	Celulose (polpa)	Resistente	Pouco sensível (7 mm)
3	Celulose (polpa) + CeO ₂ /AgNANO	Resistente	Resistente
4	Celulose (bagaço) + CeO ₂ /AgNANO	Resistente	Pouco sensível (11 mm)
5	Celulose (Bagaço)	Pouco sensível (7 mm)	Pouco sensível (13 mm)
6	Papel filtro + CeO ₂ /AgNANO	Pouco sensível (7 mm)	Resistente
Central	Ciprofloxacina	Sensível (31 mm)	-----
Central	Oxacilina	-----	Sensível (22 mm)

Fonte: Autores (2023).



CONSIDERAÇÕES FINAIS

No geral, os dados obtidos pela caracterização por DRX e UV-vis sugerem que as partículas de CeO₂ foram satisfatoriamente preparadas por um método hidrotermal simples. Os resultados também sugerem que a geometria do CeO₂ é do tipo fluorita de simetria cúbica, com tamanhos estimados de 6,6 nm e o *bandgap* de 2,98 eV. O teor de lignina presente na amostra de biopolímero foi de 3,1%. As soluções de NaOH e tiourea se mostraram ótimos solventes estabilizantes. Finalmente, os ensaios de atividade antimicrobiana indicaram que os discos de celulose impregnados com CeO₂/Ag_{NANO}, nas condições de concentração estudadas, mostraram pouca sensibilidade contra as cepas de *E. coli* e *S. aureus*.

REFERÊNCIAS

- Andrade, G. R. S., Nascimento, C. C., Lima, Z. M., Teixeira-Neto, E., Costa, L. P., & Gimenez, I. F. (2017). Star-shaped ZnO/Ag hybrid nanostructures for enhanced photocatalysis and antibacterial activity. *Applied Surface Science*, 399, 573-582. <https://doi.org/10.1016/j.apsusc.2016.11.202>
- Bauer, A. W., Kirby, W. M., Sherris, J. C., & Turck, M. (1966). Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. *American Journal of Clinical Pathology*, 45(4), 493-496.
- EMBRAPA. (2011). *Procedimento para análise lignocelulósica*. - Portal Embrapa. Recuperado de <https://www.embrapa.br/busca-de-publicacoes/-/publicacao/900898/procedimento-para-analise-lignocelulosica>
- Fudala, A. S., Salih, W. M., & Alkazaz, F. F. (2022). Synthesis different sizes of cerium oxide CeO₂ nanoparticles by using different concentrations of precursor via sol-gel method. *Materials Today: Proceedings*, 49, 2786-2792. <https://doi.org/10.1016/j.matpr.2021.09.452>
- Grizzo, A., dos Santos, D. M., da Costa, V. P. V., Lopes, R. G., Inada, N. M., Correa, D. S., & Campana-Filho, S. P. (2023). Multifunctional bilayer membranes composed of poly(lactic acid), beta-chitin whiskers and silver nanoparticles for wound dressing applications. *International Journal of Biological Macromolecules*, 251, 126314. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2023.126314>
- Lei, W., Zhang, T., Gu, L., Liu, P., Rodriguez, J. A., Liu, G., & Liu, M. (2015). Surface-Structure Sensitivity of CeO₂ Nanocrystals in Photocatalysis and Enhancing the Reactivity with Nanogold. *ACS Catalysis*, 5(7), 4385-4393. <https://doi.org/10.1021/acscatal.5b00620>
- Ma, L., Jiang, W., Xun, X., Liu, M., Han, X., Xie, J., Wang, M., Zhang, Q., Peng, Z., & Ao, H. (2023). Homogeneous silver nanoparticle loaded polydopamine/polyethyleneimine-coated bacterial cellulose nanofibers for wound dressing. *International Journal of Biological Macromolecules*, 246, 125658. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2023.125658>
- Murugadoss, G., Kumar, D. D., Kumar, M. R., Venkatesh, N., & Sakthivel, P. (2021). Silver decorated CeO₂ nanoparticles for rapid photocatalytic degradation of textile rose bengal dye. *Scientific Reports*, 11(1), 1080. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-79993-6>
- Naskar, A., & Kim, K. (2020). Recent Advances in Nanomaterial-Based Wound-Healing Therapeutics. *Pharmaceutics*, 12(6), Artigo 6. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics12060499>
- Nath, M. P., Biswas, S., Nath, P., & Choudhury, B. (2022). Synergy of Adsorption and Plasmonic Photocatalysis in the Au-CeO₂ Nanosystem: Experimental Validation and Plasmonic Modeling. *Langmuir*, 38(24), 7628-7638. <https://doi.org/10.1021/acs.langmuir.2c01056>
- Yang, C., Zhu, Y., Tian, Z., Zhang, C., Han, X., Jiang, S., Liu, K., & Duan, G. (2024). Preparation of nanocellulose and its applications in wound dressing: A review. *International Journal of Biological Macromolecules*, 254, 127997. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2023.127997>
- Yang, Z., Ren, X., & Liu, Y. (2021). N-halamine modified ceria nanoparticles: Antibacterial response and accelerated wound healing application via a 3D printed scaffold. *Composites Part B: Engineering*, 227, 109390. <https://doi.org/10.1016/j.compositesb.2021.109390>
- Zarei, N., & Hassanzadeh-Tabrizi, S. A. (2023). Alginate/hyaluronic acid-based systems as a new generation of wound dressings: A review. *International Journal of Biological Macromolecules*, 253, 127249. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2023.127249>

