

RESUMO EXPANDIDO - BIOTECNOLOGIA APLICADA À SAÚDE

**AVALIAÇÃO ANTIMICROBIANA DE NANOCOMPÓSITOS RGO/ZNO FRENTE
À ESCHERICHIA COLI**

Sarah Vieira Guimarães (sarahvieira230@gmail.com)

Geovanna Da Silva Pinho Belém (Geovannabelem@gmail.com)

Luis Felipe Gomes Bouéres Viana (felipegomes.1999@hotmail.com)

Samanta Pinheiro Baia (samantapinheiroefm@gmail.com)

Sofia Pinheiro Dos Reis De Freitas (sofia.pinh.biomed@gmail.com)

Paulo Cesar Mendes Villis (paulo.villis@ceuma.br)

Mayara Cristina Pinto Da Silva (mayara.silva@ufma.br)

Avaliação antimicrobiana de nanocompósitos rGO/ZnO frente à Escherichia coli

Introdução: A crescente incidência de infecções causadas por microrganismos resistentes tem se tornado um desafio significativo para a saúde pública, especialmente em regiões com limitações de saneamento básico e acesso a tecnologias de diagnóstico e controle microbiológico. Nesse cenário, a busca por novos materiais com propriedades antimicrobianas eficazes e duradouras tem ganhado destaque. Entre as alternativas promissoras, os nanomateriais à base de carbono, como o grafeno reduzido (rGO), apresentam elevada área

superficial, alta condutividade elétrica e capacidade de interação com estruturas biológicas (JAYANTHI; DAS; SAXENA, 2017). A modificação desses materiais com nanopartículas metálicas, como o óxido de zinco (ZnO), tem demonstrado potencial para amplificar sua atividade antimicrobiana por meio de mecanismos sinérgicos, incluindo a geração de espécies reativas de oxigênio e a liberação de íons metálicos (NANDA et al., 2021; BHATTACHARYA et al., 2020). Além disso, tais materiais têm sido amplamente investigados em aplicações biomédicas e ambientais, incluindo o controle de patógenos e o monitoramento microbiológico (VIDIC; MANZANO, 2021). Dessa forma, o desenvolvimento de nanocompósitos como o rGO/ZnO surge como estratégia promissora para o controle de patógenos de importância clínica e ambiental.

Objetivo: O objetivo deste estudo foi avaliar a atividade antimicrobiana do nanocompósito rGO/ZnO (Nanopartículas de grafeno contendo zinco) em comparação ao grafeno reduzido isolado frente à *Escherichia coli*.

Metodologia: O nanocompósito rGO/ZnO foi sintetizado por método hidrotérmico, conforme adaptações do método descrito por HUMMERS e OFFEMAN (1958), a partir da dispersão de grafeno reduzido em etanol, seguida da adição de solução de nitrato de zinco com ajuste de pH para 10. A mistura foi submetida a tratamento térmico a 170 °C por 3 horas. Após o resfriamento, o material foi lavado, centrifugado e seco, sendo posteriormente caracterizado por microscopia eletrônica de varredura (ZHOU; WANG, 2006). A atividade antimicrobiana foi avaliada utilizando a cepa *Escherichia coli* ATCC 25922, padronizada para 10⁸ unidades formadoras de colônia por mililitro, conforme diretrizes do Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI, 2020). As amostras foram incubadas com rGO e rGO/ZnO a 37 °C, com coletas nos tempos de 2, 4, 6 e 8 horas, seguidas de diluições seriadas, plaqueamento em meio Mueller-Hinton Agar e contagem das colônias após 24 horas de incubação. Os experimentos foram realizados em triplicata independente. Devido à presença de placas com crescimento bacteriano classificado como incontável, os resultados foram analisados de forma descritiva, considerando a distribuição das contagens de unidades formadoras de colônia (UFC) ao longo do tempo.

Resultados e Discussão: Os resultados demonstraram atividade antimicrobiana inicial semelhante entre o grafeno reduzido (rGO) e o nanocompósito rGO/ZnO, com ausência de crescimento bacteriano detectável nas primeiras 2 horas de incubação. Entretanto, a partir de 4 horas observou-se o início de recuperação do crescimento bacteriano no grupo rGO, com detecção de até 3 UFC na diluição 10⁶, enquanto o rGO/ZnO manteve crescimento reduzido (=1 UFC). Em 6 horas, o rGO apresentou perda significativa da atividade antimicrobiana, com crescimento elevado e presença de placas incontáveis na menor diluição (10⁴), enquanto o nanocompósito rGO/ZnO manteve efeito inibitório com redução aproximada de 93% do crescimento bacteriano na diluição 10⁵ em comparação ao rGO. Após 8 horas, o rGO apresentou crescimento bacteriano exacerbado, incluindo placas incontáveis em múltiplas diluições, enquanto o rGO/ZnO manteve controle significativo do crescimento, com redução de até 95% nas UFC na diluição 10⁵ e ausência de crescimento na diluição 10⁶. Esses achados indicam que o rGO apresenta efeito predominantemente bacteriostático e temporário, enquanto o rGO/ZnO demonstra atividade antimicrobiana mais estável e prolongada, provavelmente associada à liberação sustentada de íons Zn²⁺ e geração contínua de espécies reativas de oxigênio (NANDA et al., 2021). Devido à presença de valores incontáveis e ao caráter não normal dos dados, a análise foi conduzida de forma descritiva e com comparação não paramétrica entre grupos.

Conclusão: O nanocompósito rGO/ZnO apresentou desempenho antimicrobiano superior ao grafeno reduzido isolado, evidenciando maior eficácia e estabilidade da ação inibitória frente à *Escherichia coli* ao longo do período experimental. Os resultados sugerem que a modificação do rGO com nanopartículas de zinco potencializa sua atividade antimicrobiana, possivelmente em decorrência de mecanismos sinérgicos associados à liberação de íons Zn²⁺ e à geração de espécies reativas de oxigênio. Embora os achados indiquem efeito antimicrobiano relevante, estes se restringem às condições experimentais avaliadas, não sendo possível inferir atividade bactericida definitiva. Ainda assim, os dados obtidos reforçam o potencial do nanocompósito como alternativa promissora para o desenvolvimento de

materiais antimicrobianos, com aplicações em tecnologias de controle microbiológico, superfícies funcionais e sistemas de detecção de patógenos.

Evaluation of the antimicrobial activity of rGO/ZnO nanocomposites against *Escherichia coli*

Introduction: The growing incidence of infections caused by resistant microorganisms has become a significant challenge to public health, especially in regions with limited sanitation infrastructure and access to diagnostic and microbiological control technologies. In this context, the search for new materials with effective and long-lasting antimicrobial properties has gained prominence. Among the promising alternatives, carbon-based nanomaterials, such as reduced graphene oxide (rGO), exhibit a high surface area, high electrical conductivity, and the ability to interact with biological structures (JAYANTHI; DAS; SAXENA, 2017). The modification of these materials with metal nanoparticles, such as zinc oxide (ZnO), has shown potential to amplify their antimicrobial activity through synergistic mechanisms, including the generation of reactive oxygen species and the release of metal ions (NANDA et al., 2021; BHATTACHARYA et al., 2020). Furthermore, such materials have been extensively investigated in biomedical and environmental applications, including pathogen control and microbiological monitoring (VIDIC; MANZANO, 2021). Thus, the development of nanocomposites such as rGO/ZnO emerges as a promising strategy for the control of clinically and environmentally significant pathogens.

Objective: The objective of this study was to evaluate the antimicrobial activity of the rGO/ZnO (Graphene nanoparticles containing zinc) nanocomposite compared to isolated reduced graphene against *Escherichia coli*,

Methodology: The rGO/ZnO nanocomposite was synthesized using a hydrothermal method, based on modifications to the method described by HUMMERS and OFFEMAN (1958), starting with a dispersion of reduced

graphene in ethanol, followed by the addition of a zinc nitrate solution with the pH adjusted to 10. The mixture was subjected to heat treatment at 170 °C for 3 hours. After cooling, the material was washed, centrifuged, and dried, and subsequently characterized by scanning electron microscopy (ZHOU; WANG, 2006). Antimicrobial activity was evaluated using the *Escherichia coli* strain ATCC 25922, standardized to 108 colony-forming units per milliliter, in accordance with guidelines from the Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI, 2020). The samples were incubated with rGO and rGO/ZnO at 37 °C, with samples collected at 2, 4, 6, and 8 hours, followed by serial dilutions, plating on Mueller-Hinton agar, and colony counting after 24 hours of incubation. The experiments were conducted in three independent replicates. Due to the presence of plates with bacterial growth classified as uncountable, the results were analyzed descriptively, considering the distribution of colony-forming unit (CFU) counts over time.

Results and Discussion: The results showed similar initial antimicrobial activity between reduced graphene oxide (rGO) and the rGO/ZnO nanocomposite, with no detectable bacterial growth during the first 2 hours of incubation. However, starting at 4 hours, a resurgence of bacterial growth was observed in the rGO group, with up to 3 CFU detected at a dilution of 106, while the rGO/ZnO group maintained reduced growth (=1 CFU). At 6 hours, rGO showed a significant loss of antimicrobial activity, with high growth and the presence of uncountable colonies in the lowest dilution (104), while the rGO/ZnO nanocomposite maintained an inhibitory effect, reducing bacterial growth by approximately 93% in the 105 dilution compared to rGO. After 8 hours, rGO exhibited exacerbated bacterial growth, including uncountable colonies in multiple dilutions, while the rGO/ZnO nanocomposite maintained significant control over growth, with a reduction of up to 95% in CFU at the 105 dilution and no growth at the 106 dilution. These findings indicate that rGO exhibits a predominantly bacteriostatic and temporary effect, while rGO/ZnO demonstrate more stable and prolonged antimicrobial activity, likely associated with the sustained release of Zn²⁺ ions and the continuous generation of reactive oxygen species (NANDA et al., 2021). Due to the presence of missing values and the non-normal distribution of the

data, the analysis was conducted descriptively and using nonparametric comparisons between groups.

Conclusion: The rGO/ZnO nanocomposite exhibited superior antimicrobial performance compared to isolated reduced graphene oxide, demonstrating greater efficacy and stability of its inhibitory action against *Escherichia coli* throughout the experimental period. The results suggest that modifying rGO with zinc nanoparticles enhances its antimicrobial activity, possibly due to synergistic mechanisms associated with the release of Zn²⁺ ions and the generation of reactive oxygen species. Although the findings indicate a significant antimicrobial effect, they are limited to the experimental conditions evaluated, and it is not possible to infer definitive bactericidal activity. Nevertheless, the data obtained reinforce the potential of the nanocomposite as a promising alternative for the development of antimicrobial materials, with applications in microbiological control technologies, functional surfaces, and pathogen detection systems.

References:

BHATTACHARYA, P. et al. Graphene and graphene oxide as nanomaterials for biosensing applications. *Sensors International*, 2020.

HUMMERS, W. S.; OFFEMAN, R. E. Preparation of graphitic oxide. *Journal of the American Chemical Society*, 1958.

JAYANTHI, V. S. A.; DAS, A. B.; SAXENA, U. Graphene and graphene oxide as emerging materials for biosensing applications. *Biosensors and Bioelectronics*, 2017.

NANDA, A. et al. Graphene-based nanocomposites for antimicrobial applications. *ACS Nano*, 2021.

VIDIC, J.; MANZANO, M. Electrochemical biosensors for pathogen detection. *Biosensors*, 2021.

ZHOU, W.; WANG, Z. L. *Scanning Microscopy for Nanotechnology*, 2006.

CLSI. *Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing*, 2020.

Palavras-chave: nanotechnology; graphene; nanoparticles; antimicrobial agents; escherichia coli.