

Plan Overview

A Data Management Plan created using DMPTool

Title: Nanopartículas de ZnO e moléculas doadoras de óxido nítrico no cultivo de arroz: avaliação do efeito sinérgico na mitigação de elementos tóxicos e biofortificação com Zn

Creator: Rodrigo Pereira - ORCID: [0000-0003-1992-7140](https://orcid.org/0000-0003-1992-7140)

Affiliation: Universidade Federal do ABC (ufabc.edu.br)

Principal Investigator: Rodrigo Mendes Pereira

Data Manager: Rodrigo Mendes Pereira

Project Administrator: Rodrigo Mendes Pereira, Bruno Lemos Batista

Contributor: Bruno Lemos Batista

Funder: São Paulo Research Foundation (fapesp.br)

Funding opportunity number: 2020/00392-0

Template: Digital Curation Centre (português)

Project abstract:

A grande demanda por alimentos amplamente consumidos mundialmente, como o arroz, é responsável pelo aumento da procura por estratégias que permitam aumentar a produtividade desse tipo de cultura. No entanto, também existe uma grande preocupação com relação à produção de alimentos ricos nutricionalmente e, principalmente, com concentrações desprezíveis de contaminantes. Diversas tecnologias têm sido desenvolvidas e aplicadas na agricultura visando o aumento da produtividade e, principalmente, maior resistência a pragas e fatores abióticos. Apesar disso, são escassas as tecnologias que, além desses benefícios, possibilitem a mitigação de elementos tóxicos oriundos do cultivo (solo, água, ar, etc.) e, ainda, a biofortificação com elementos essenciais. Nesse sentido, o uso de nanopartículas (NPs) contendo elementos essenciais, como o Zn, deve ser enfatizado em vista dos resultados promissores que têm sido apresentados nos últimos anos. No entanto, são escassos os estudos que avaliam o efeito da aplicação dessas NPs na mitigação de elementos tóxicos. Além disso, alguns estudos demonstram ser necessária a aplicação de concentrações mais elevadas desses produtos durante o desenvolvimento das plantas para a biofortificação, o que geralmente resulta em efeitos fitotóxicos. Por outro lado, a aplicação de óxido nítrico exógeno no cultivo de plantas tem se mostrado uma estratégia promissora para a redução do estresse oxidativo ocasionado por elevadas concentrações de metais. Importante destacar que, embora existam evidências que ambas tecnologias (NPs metálicas e NO exógeno) tenham potencial para aplicação na agricultura, não existem estudos demonstrando seu uso

concomitante no cultivo de arroz. Assim, o objetivo deste projeto é sintetizar e caracterizar NPs de ZnO e avaliar a sua aplicação, na presença e ausência de doadores de NO (S-nitrosoglutationa – GSNO), no cultivo de arroz visando à mitigação de elementos tóxicos (como As, Cd e Pb), a biofortificação dos grãos de arroz com Zn e, ainda, o aumento de produtividade de grãos. Para isso, pretende-se adaptar métodos de síntese da literatura e realizar a caracterização dos produtos por técnicas bem estabelecidas. Os ensaios com arroz ocorrerão em três etapas e as NPs de ZnO + GSNO serão aplicadas diretamente às folhas (aplicação foliar por pulverização). Um tratamento com ZnSO₄ (Zn na forma iônica) também será avaliado a fim de comparação. Na primeira etapa, o cultivo do arroz será realizado em vasos, dentro de casa de vegetação, da germinação da semente até o final da fase vegetativa como uma forma preliminar de avaliação dos tratamentos com ZnSO₄ ou NPs de ZnO, na presença ou ausência de GSNO. Na segunda etapa, o cultivo do arroz também será realizado em vasos, mas o experimento será conduzido da germinação da semente até o final da fase reprodutiva. Em ambas etapas diversos tratamentos com concentrações variadas de ZnSO₄ ou NPs de ZnO serão avaliados e, ao final da segunda etapa, o tratamento que proporcionar os melhores resultados associados a mitigação de As, Cd e Pb, biofortificação com Zn e desenvolvimento da planta (avaliado através de variáveis morfológicas, fisiológicas e bioquímicas) será selecionado. Na terceira etapa, um ensaio em campo será conduzido com o intuito de confirmar a eficácia do tratamento selecionado e, ainda, avaliar os seus efeitos na mitigação de As, Cd e Pb e biofortificação com Zn, sua influência na produtividade de grãos. Adicionalmente, pretende-se estabelecer um método analítico que possibilite o dimensionamento de NPs de ZnO no arroz, uma vez que as técnicas comumente utilizadas para essa finalidade apresentam limitações para a análise de matrizes vegetais.

Start date: 06-01-2022

End date: 05-31-2024

Last modified: 05-10-2023

Copyright information:

The above plan creator(s) have agreed that others may use as much of the text of this plan as they would like in their own plans, and customize it as necessary. You do not need to credit the creator(s) as the source of the language used, but using any of the plan's text does not imply that the creator(s) endorse, or have any relationship to, your project or proposal

Nanopartículas de ZnO e moléculas doadoras de óxido nítrico no cultivo de arroz: avaliação do efeito sinérgico na mitigação de elementos tóxicos e biofortificação com Zn

Serão coletados dados relacionados à síntese e caracterização de nanopartículas de ZnO, bem como do desenvolvimento de método analítico para o dimensionamento de nanopartículas de ZnO por espectrometria de massas com plasma indutivamente acoplado associado a abordagem single particle (spICP-MS). Além disso, serão obtidas diversas informações das análises dos parâmetros morfológicos, fisiológicos e bioquímicos de plantas de arroz que serão submetidas a tratamentos com as nanopartículas sintetizadas e doadoras de óxido nítrico durante o cultivo com o intuito de avaliar a influência da aplicação desses materiais na mitigação de elementos tóxicos (As, Cd e Pb), biofortificação com Zn e aumento de produtividade.

A maior parte dos dados serão coletados por meio de análise instrumental utilizando uma grande variedade de técnicas analíticas e que irá depender da etapa do projeto. Os dados relacionados a caracterização das nanopartículas de ZnO sintetizadas, por exemplo, serão obtidos por técnicas bem estabelecidas como espalhamento dinâmico de luz (DLS - Dynamic Light Scattering), difração de raio-X (XRD - X-ray Diffraction), microscopia eletrônica de transmissão (TEM - Transmission Electron Microscopy) e varredura (SEM - Scanning Electron Microscopy) e, ainda, por espectroscopia vibracional na região do infravermelho (FTIR - Fourier Transform Infrared). Na etapa de desenvolvimento de método analítico para o dimensionamento de nanopartículas de ZnO em matrizes vegetais, todos os dados serão obtidos por espectrometria de massas com plasma indutivamente acoplado (ICP-MS). Por sua vez, durante a etapa de aplicação dos tratamentos (nanopartículas de ZnO na ausência e presença de doadoras de óxido nítrico) no cultivo de arroz, os dados para avaliação dos efeitos serão obtidos por diversas metodologias, a depender do parâmetro a ser avaliado.

Em suma, os dados serão coletados em cadernos de laboratório padronizados e posteriormente compilados em computador, exceto aqueles obtidos através de softwares específicos (equipamentos de análise computadorizados). Esses resultados serão organizados em relatórios que serão elaborados pelo pesquisador semestralmente. Os arquivos serão organizados de forma padronizada para facilitar o acesso e compreensão, visando tornar a reanálise dos dados acessível para qualquer pesquisador. É importante destacar que todos os dados, independente da técnica analítica ou metodologia utilizada, serão organizados em planilhas/relatórios e armazenados com o nome das etapas e parâmetros avaliados.

O trabalho não envolve nenhum experimento que requer autorização de conselho de ética. Apesar disso, todos os procedimentos a serem adotados para o desenvolvimento do projeto cumprirão com as premissas de éticas da Instituição.

Os dados gerados serão de domínio do grupo de pesquisa/universidade até publicação. Ademais, o projeto de pesquisa será financiado com bens públicos e, assim, os resultados são de domínio público e serão disponibilizados em plataforma públicas.

Os relatórios e demais resultados obtidos durante o desenvolvimento do projeto serão armazenados e preservados em disco rígido (HD externo e computador pessoal), disco rígido do computador do laboratório e, também, em uma nuvem como backup. Esses dados serão armazenados e preservados em todas as mídias supracitadas pelo menos até a publicação dos resultados em revistas indexadas. Posteriormente, uma cópia será mantida em HD externo que será adquirido para essa finalidade e permanecerá nas dependências da universidade, de posse do supervisor do projeto.

Todos os arquivos serão protegidos por senha, com acesso apenas de pessoal autorizado.

Além disso, o acesso de colaboradores também será realizado através de compartilhamento de arquivos em nuvens ou serviços FTP, todos protegidos por nome de usuário e senha.

Todos os dados obtidos durante o desenvolvimento do projeto são de valor a longo prazo e devem ser mantidos, compartilhados e/ou preservados, especialmente aqueles relativos a aplicação de nanopartículas de ZnO e grupos doadores de óxido nítrico no cultivo de arroz.

Além da manutenção dos dados em plataformas de acesso público por tempo indeterminado, pretende-se manter um backup permanente em um HD externo que ficará de posse do supervisor do projeto e poderá ser disponibilizado, caso seja solicitado.

Os resultados deste projeto serão disponibilizados, principalmente, através da publicação de artigos científicos em revistas científicas indexadas e em anais de congresso. Após a publicação, os resultados serão compartilhados conforme a demanda e retidos para sempre na base de dados na qual a revista faz parte, podendo ser consultados a qualquer momento por qualquer pesquisador do mundo. Outros dados serão mantidos em nuvem e em disco HD e serão compartilhados pelo investigador conforme solicitado.

Qualquer potencial para depósito de patente será comunicado e discutido com a universidade e agência de financiamento antes da publicação.

Durante o desenvolvimento do projeto, o pesquisador Rodrigo Mendes Pereira e o supervisor da pesquisa, o professor Bruno Lemos Batista, serão os responsáveis pelo gerenciamento dos dados.

Será necessário a compra de um computador mais moderno para realizar o gerenciamento e backup principal dos dados. Além disso, pretende-se adquirir um HD externo para backup secundário. Os demais recursos necessários já se encontram disponíveis no laboratório, ou tratam-se de serviços gratuitos.

Planned Research Outputs

Text - "Síntese e caracterização de NPs ZnO, síntese de GSNO e estudos preliminares de dimensionamento de NPs de ZnO por spICP-MS"

1. Síntese de NPs de ZnO

1.1. *Materiais*

Acetato de zinco dihidratado ($\text{Zn}(\text{CH}_3\text{COO})_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$), glutationa (GSH), nitrito de sódio (NaNO_2), ácido sulfúrico concentrado (H_2SO_4) e iodeto de potássio (KI) foram obtidos da Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, EUA). Hidróxido de sódio (NaOH), álcool etílico absoluto, ácido clorídrico concentrado (HCl) e solução salina de tampão fosfato (PBS; pH 7,4) foram obtidos da Labsynth (Diadema, São Paulo, Brasil). Todos os experimentos foram realizados com água de grau analítico purificada por osmose reversa pelo purificador DV25 da Elga, Ontario, CA.

1.2. *Procedimentos*

As NPs de ZnO foram sintetizadas pelo método hidrotérmico, conforme descrito anteriormente [101]. Resumidamente, 2,195 g de acetato de zinco dihidratado foram dissolvidos em 30 mL de água deionizada, seguido da adição de 30 mL de uma solução aquosa de NaOH (1 mol L^{-1}). A solução final foi transferida para um reator hidrotérmico e mantido a $170 \text{ }^\circ\text{C}$ por dois períodos distintos: 5 e 10 h. Após 5 ou 10 h, as NPs de ZnO obtidas foram lavadas com álcool etílico absoluto, seguidas de duas lavagens com água deionizada e secas em estufa por 2 horas a $60 \text{ }^\circ\text{C}$. As NPs de ZnO sintetizadas por 5 e 10 h no reator hidrotérmico foram denominadas de NPs ZnO-5 e NPs ZnO-10, respectivamente. Para a realização de alguns ensaios de caracterização desses materiais – especialmente aqueles que são realizados em amostras líquidas, foram preparadas suspensões em meio aquoso em concentrações variadas e a homogeneização ocorreu em banho ultrassônico por cerca de 20 minutos sempre antes das análises.

2. *Caracterização de NPs ZnO*

2.1. Espalhamento dinâmico de luz (DLS)

A distribuição de tamanho hidrodinâmico, índice de polidispersão (PDI) e valores de potencial zeta para as NPs ZnO-5 e NPs ZnO-10 foram determinados por DLS (Zetasizer Nano ZS, Malvern Instruments Co., Reino Unido). As medidas foram realizadas em meio aquoso a $25 \text{ }^\circ\text{C}$ e em diferentes pHs finais (pH 4, 6, 6,5, 7,5, 9 e 11), utilizando uma célula zeta capilar dobrada descartável (comprimento do caminho de 10 mm) e um ângulo fixo de 180° (Pieretti et al. 2019, Biron et al. 2020). A estabilidade das NPs ZnO-5 e NPs ZnO-10 dispersas em meio aquoso a $37 \text{ }^\circ\text{C}$ foi monitorada por até 1 mês determinando a distribuição de tamanho hidrodinâmico, PDI e valores de potencial zeta.

A Figura 1 ilustra o tamanho hidrodinâmico (nm) e PDI para NPs ZnO-5 (a) e o tamanho hidrodinâmico (nm) e PDI para e NPs ZnO-10 (b) em função da variação de pH. O potencial zeta (mV) de NPs ZnO-5 é representado em (c) e para NPs ZnO-10 (d) em função da variação de pH.

https://drive.google.com/file/d/1SIhuEWP_8TJ2X3uiAROdMYkezta0vQqu/view?usp=sharing

Figura 1. Influência do pH das suspensões dos materiais sintetizados (NPs ZnO-5 e NPs ZnO-10) na distribuição de tamanho hidrodinâmico [(a) e (b)], índice de polidispersão (PDI) [(a) e (b)] e valores de potencial zeta [(c) e (d)].

A Figura 1(a) ilustra a variação no tamanho hidrodinâmico e PDI para NPs ZnO-5 medido em pHs 4, 6, 6,5, 7,5 9 e 11, em que os tamanhos hidrodinâmicos maiores podem ser observados em pHs ácidos como 4, 6 e 6,5, bem como PDIs de valor moderado a alto para NPs ZnO-5. A Figura 1(b) ilustra a variação no tamanho hidrodinâmico e PDI para NPs ZnO-10 medido em pHs 4, 6, 6,5, 7,5 9 e 11, em que tamanhos hidrodinâmicos maiores podem ser observados em pHs ácidos, como 4 e 6, bem como PDIs altos, moderados e baixos para NPs ZnO-10. Os maiores valores observados para tamanho hidrodinâmico e PDI em pH 4 e 6 podem ser explicados pela degradação de ZnO NPs-10 em meio mais ácido, levando à sua possível degradação e redução da estabilidade em suspensão. No entanto, pode-se observar que as NPs-10 de ZnO em pH levemente acidificado (pH 6,5) e alcalino (pH 7,5, 9 e 11) apresentaram diminuição significativa no tamanho e PDI, indicando uma melhora na estabilidade das NPs ZnO-10 quando inserido em suspensão levemente acidificada e alcalina. Além disso, o leve aumento no tamanho e PDI observado para NPs ZnO-10 em pH 9 possivelmente demonstra a instabilidade desse material mesmo em suspensão alcalina. Comparado com as NPs ZnO-10, as NPs ZnO-5 parecem mostrar melhor estabilidade em pHs ácidos, bem como pHs alcalinos que são indicados por valores de tamanho hidrodinâmico de $344 \pm 11,50$ nm e um PDI de $0,333 \pm 0,057$ em pH 4 e tamanho hidrodinâmico de $953 \pm 205,69$ nm e PDI de $0,404 \pm 0,024$ em pH 6; enquanto para NPs ZnO-10 os valores de tamanho hidrodinâmico e PDI em pH 4 e 6 foram respectivamente $1543 \pm 72,10$ nm e $0,500 \pm 0,076$, e $960 \pm 52,70$ nm e $0,525 \pm 0,058$. Tanto NPs ZnO-5 quanto NPs ZnO-10 apresentaram boa estabilidade e tamanho em pHs neutro a alcalinos (pH 7,5; 9 e 11) indicando o uso dessas nanopartículas em possíveis aplicações envolvendo formulações com pHs mais alcalinos.

Por sua vez, as Figuras 1(c) e 1(d) ilustram, respectivamente, os potenciais zeta obtidos para NPs ZnO-5 e NPs ZnO-10 em relação à variação de pH (pHs 4, 6, 6,5, 7,5, 9 e 11). Independentemente da variação de pH, os potenciais zeta de NPs ZnO-5 permaneceram negativos, porém, observou-se uma ampla faixa de variação desses valores (variaram de $-3 \pm 0,51$ mV a $-50 \pm 4,46$ mV) indicando que a mudança no pH afetou significativamente a estabilidade de NPs ZnO-5 em suspensão ácida (pH 4) e em suspensão alcalina (pH 9). Os pHs 6; 6,5; 7,5 e 11 forneceram potenciais de carga com valores de $-19 \pm 0,81$ mV e $-50 \pm 4,46$ mV indicando que os pHs alcalinos são mais favoráveis para NPs ZnO-5. Os potenciais de carga obtidos para NPs ZnO-10 também apresentaram ampla faixa de variação com a variação do pH (variaram de $1 \pm 1,26$ mV a $-51 \pm 2,61$ mV) indicando baixa estabilidade de NPs ZnO-10 em pHs ácidos como pH 4 e 6 e pH alcalino de 7,5. Importante mencionar que ambas NPs ZnO-5 e NPs ZnO-10 apresentaram potenciais de carga de superfície predominantemente negativos, independentes da variação de pH. No entanto, aqueles potenciais de carga próximos a zero ($-6 \pm 1,25$ mV; $-1 \pm 1,26$ mV e $-2 \pm 0,33$ mV para NPs ZnO-10 e $-3 \pm 0,51$ mV e $-4 \pm 0,12$ mV para NPs ZnO-5) indicam que tais nanopartículas não são estáveis em suspensão e podem estar sujeitas à agregação e, conseqüentemente, a um aumento de tamanho das nanopartículas e na instabilidade das NPs ZnO-5 e NPs ZnO-10.

A estabilidade dos materiais sintetizados em meio aquoso também foi avaliada por DLS no período total de 1 mês e, para isso, as NPs ZnO-5 e NPs ZnO-10 foram dispersas em meio aquoso e mantidas em banho termostaticado a 37°C para mimetizar a temperatura do corpo humano. Foram realizadas análises nos dias 1, 3, 7, 14 e 30 do experimento. A Figura 2 ilustra o tamanho hidrodinâmico (nm) e PDI de NPs ZnO-5 (a) e NPs ZnO-10 (b), em função dos dias do mês de cada medição realizada.

<https://drive.google.com/file/d/1qzoVABi3W1DWsGWHpLkFHRSHUPPxG6Jt/view?usp=sharing>

Figura 2. Influência do tempo na distribuição de tamanho hidrodinâmico [(a) e (b)], índice de polidispersão (PDI) [(a) e (b)] e valores de potencial zeta [(c) e (d)] das suspensões dos materiais sintetizados (NPs ZnO-5 e NPs ZnO-10).

A Figura 2(a) revela a variação no tamanho hidrodinâmico e PDI das NPs ZnO-5 ao longo do período de 1 mês. No dia 1 do experimento, as NPs ZnO-5 apresentavam-se um pouco maiores do que normalmente são, porém,

o valor de PDI correspondente ao dia 1 foi baixo, indicando estabilidade desse material em meio aquoso. No dia 3 do experimento, as NPs ZnO-5 apresentaram um valor de aproximadamente 50 nm a mais e um PDI duas vezes maior que na primeira medição realizada no dia 1 do experimento. A partir do dia 7 do experimento, as NPs ZnO-5 começaram a aumentar gradativamente de tamanho e, conseqüentemente, apresentar um alto PDI. No entanto, no dia 30 do experimento as NPs ZnO-5 apresentaram tamanho hidrodinâmico de $272 \pm 43,05$ nm e PDI de $0,463 \pm 0,105$, inferior ao tamanho observado no dia 1 do experimento (de $430 \pm 14,20$ nm), indicando que a possibilidade de agregação das NPs ZnO-5 logo após sua síntese. Nos dias 3, 7 e 14 do experimento, as NPs ZnO-5 aumentaram significativamente em tamanho e PDI, porém, no dia 30, quando 1 mês de experimento foi completado, as NPs ZnO-5 diminuiriam drasticamente seu tamanho hidrodinâmico e PDI $272 \pm 43,05$ nm e $0,463 \pm 0,105$, respectivamente.

A Figura 2(b) ilustra o tamanho hidrodinâmico (nm) e PDI das NPs ZnO-10 durante o período de 1 mês. O tamanho hidrodinâmico de NPs ZnO-10 medido ao longo de 1 mês demonstra que essas nanopartículas tinham um tamanho menor (dia 1) em comparação com NPs ZnO-5. Nos dias 3 e 7 do experimento, as NPs ZnO-10 apresentaram estabilidade moderada e diminuição de tamanho em solução aquosa entre os dias 3 e 14, conseqüentemente, com diminuição de seus respectivos PDIs, indicando melhor estabilidade das NPs ZnO-10 em detrimento das NPs ZnO-5 em solução aquosa por um período de 1 mês.

As Figuras 2(c) e 2(d) revelam os potenciais zeta de NPs ZnO-5 e NPs ZnO-10, respectivamente, ao longo do período de 1 mês. Assim como as NPs ZnO-5, as NPs ZnO-10 apresentaram carga superficial negativa e valores que não variaram significativamente do dia 1 ao 14 do experimento, indicando estabilidade moderada das NPs ZnO-10 em meio aquoso. No entanto, após completar 30 dias de experimento, a carga potencial superficial das NPs ZnO-10 diminuiu significativamente (para $-5 \pm 0,97$ mV), indicando menor estabilidade e a possibilidade de maior agregação das NPs ZnO-10.

2.2. Microscopia Eletrônica de Transmissão (TEM)

A morfologia das NPs ZnO-5 e NPs ZnO-10 foi verificada usando um microscópio eletrônico de transmissão (JEM-2100-JEOL) operando a 200 kV. As nanopartículas foram dispersas em isopropanol seguida de banho de ultrassom por 10 minutos. As suspensões finais foram gotejadas sobre grades (grades de carbono revestidas de filme de carbono obtido por meio de deposição por pulverização). As grades contendo NPs ZnO-5 e NPs ZnO-10 foram colocadas em dessecador e deixadas secar sob vácuo por cerca de 2 horas, antes da análise.

Após a análise do material sintetizado por TEM foi possível verificar que as NPs ZnO-5 apresentaram morfologia hexagonal (Figura 3a lado esquerdo). A Figura 3(a) (lado direito) ilustra o histograma de número de partículas versus tamanho de partícula para NPs ZnO-5. O histograma na Figura 3(a) (lado direito) revela um tamanho médio de 108 ± 51 nm no estado sólido para NPs ZnO-5. A Figura 3(b) (lado esquerdo) ilustra a morfologia hexagonal de NPs ZnO-10 no estado sólido. O histograma de número de partículas versus tamanho de partícula representado na Figura 3(b) (lado direito) revela um tamanho médio de 118 ± 43 nm para NPs ZnO-10. Tanto as NPs ZnO-5 quanto as NPs ZnO-10 apresentaram a mesma morfologia hexagonal, porém NPs ZnO-5 revelou-se 10 nm menor em comparação com NPs ZnO-10, ilustrando que a adição de 5 h a mais de síntese hidrotermal não influenciou na diminuição das nanopartículas de ZnO, mas no seu aumento.

https://drive.google.com/file/d/16MD_9Z7NZtkgr9W6FghCooZdd2xePrb/view?usp=sharing

Figura 3. Micrografias de NPs ZnO-5 (a) e NPs ZnO-10 (b) e respectivos histogramas relacionando número e tamanho de partícula.

A literatura relata tamanhos de nanopartículas de ZnO sintetizadas pelo método hidrotermal por um período

de 10 h entre 200 e 500 nm. Dependendo da temperatura e do sal utilizado na síntese ainda podem variar de 100 a 150 nm em tamanho e morfologias irregulares (Rai et al. 2012). Ainda, existem trabalhos que relatam períodos de síntese hidrotermal de 5 h a uma temperatura de 220 °C, obtendo nanopartículas de ZnO com morfologia hexagonal na presença de aglomerados esféricos a irregulares, e tamanho médio de 14 a 100 nm (Vlazan et al. 2015, Anesh et al. 2007). Importante mencionar que os tamanhos e morfologias médios obtidos no presente estudo para ambos os materiais sintetizados estão de acordo os estudos descritos na literatura.

2.3. Difração de Raios-X (DRX)

A estrutura cristalina das NPs ZnO-5 e NPs ZnO-10 foi avaliada por DRX. A análise foi realizada em difratômetro STADI-P (Stoe, Darmstadt, Alemanha) em temperatura ambiente, 50 kV, 40 mA e utilizando radiação MoK α 1 ($k = 0,7093 \text{ \AA}$). Um detector Mythen 1 K (Dectris, Baden, Suíça) foi usado para coletar fótons de raios X a partir de uma amostra de pó, no intervalo de 2 h. Os valores de tamanho de grão (*grain size*) das NPs ZnO-5 e NPs ZnO-10 foram calculados usando a equação de *Debye-Scherrer* (Eq. 1) (Rolim et al. 2019).

$$D=(K\lambda)/(\beta \cos\theta) \quad (\text{Eq.1})$$

Na equação, D é o diâmetro do tamanho do cristalito, λ é o comprimento de onda da radiação usada nas medidas, β é a largura total na metade do máximo (FWHM) do pico, θ é o ângulo de difração de *Bragg* e K é uma constante (0,94 é usado para corresponder a cristalitos esférico com simetria cúbica).

As reflexões disponíveis das fases da estrutura cristalina dos materiais sintetizados são ilustradas na Figura 4, onde (a) NPs ZnO-5 e (b) NPs ZnO-10, respectivamente, apresentaram picos correspondentes à formação de nanopartículas de ZnO. Foram verificadas reflexões de fase da estrutura cristalina de ZnO nos planos de difração (010), (002), (011), (012), (110), (103), (112), (002), (104), (203), (114), (105), (300), (213), (302) e (205) para ambos os materiais sintetizados. Além disso, os picos de difração 2θ de 31,07°, 34,52°, 36,45°, 47,73°, 56,73°, 63,06°, 68,01°, 69,35°, 72,59°, 76,98° correspondem à estrutura cúbica de nanopartículas de ZnO (de acordo com os dados do JSPDS) o que comprova a formação de nanopartículas de ZnO em ambos os procedimentos de síntese avaliados (NPs ZnO-5 e NPs ZnO-10). Além disso, os dados obtidos no presente trabalho corroboram com trabalhos na literatura que demonstraram os mesmos picos de difração (2θ) para nanopartículas de ZnO sintetizadas pelo método hidrotérmico em um período de 5 a 24 horas em temperaturas variando de 180 a 220 °C (Bharti & Bharati, 2016, Senthilkumar et al. 2017, Vlazan et al. 2015). O tamanho médio do cristalito foi calculado usando a equação de Debye-Scherrer do pico mais proeminente ($2\theta = 36,32$). O tamanho médio de grão (*grain size*) foi estimado em 18 nm para NPs ZnO-5 e 39 nm para NPs ZnO-10, apoiando os dados obtidos anteriormente por TEM, correspondentes aos tamanhos médios de NPs de ZnO no estado sólido de 108 nm e 118 nm para NPs ZnO-5 e NPs ZnO-10, respectivamente. Os valores obtidos aqui para NPs ZnO-5 e NPs ZnO-10 corroboram trabalhos na literatura que relataram tamanhos médios de grão entre 7-16 nm (Aneesh et al. 2007) e 15,8 nm (Bharti & Bharati, 2016), indicando que os tamanhos médios de cristalitos obtidos no presente trabalho estão de acordo com os resultados da literatura.

https://drive.google.com/file/d/1WXeUOjmwgMH6x7_rzKLeDSqfdAYVr6WH/view?usp=sharing

Figura 4. Espectros de difração de raios X para (a) NPs ZnO-5 e (b) NPs ZnO-10.

2.4. Espectroscopia infravermelha com transformada de Fourier (FTIR)

Os materiais sintetizados denominados de NPs ZnO-5 e NPs ZnO-10 foram analisados usando um espectrômetro Agilent Cary 630 (Palo Alto, CA, EUA) na faixa de 700 a 4000 cm^{-1} em uma resolução de 4 cm^{-1} .

As NPs ZnO-5 e NPs ZnO-10 sintetizadas foram submetidas à análise de FTIR para verificar os grupos funcionais associados em diferentes tempos de síntese. A Figura 5 ilustra os espectros obtidos para NPs ZnO-10 (a) e NPs ZnO-5 (b), indicando transmitância (%) versus comprimento de onda analisado (cm^{-1}).

https://drive.google.com/file/d/11N5e6V5x3-OIWqsa-q0c_nVbGb1jduI0/view?usp=sharing

Figura 5. Espectros de FTIR para (a) NPs ZnO-10 e (b) NPs ZnO-5.

Picos característicos e fundamentais em nanopartículas de ZnO sintetizadas pelo método hidrotérmico foram observados para NPs ZnO-10 (a) e NPs ZnO-5 (b). Além disso, a Figura 5(a) indica bandas de absorção na faixa de 2981 cm^{-1} , 1566 cm^{-1} , 1414 cm^{-1} e 688 cm^{-1} . Os picos de absorção em 2981 cm^{-1} e 1566 cm^{-1} correspondem ao alongamento do grupo funcional OH, enquanto os picos em 1414 cm^{-1} e 688 cm^{-1} correspondem respectivamente aos picos de absorção dos grupos funcionais $-\text{CH}_3$ e o modo de vibração metal-oxigênio (Zn-O) em NPs ZnO-10. A Figura 5(b) ilustra as bandas de absorção na faixa de 3384 cm^{-1} , 2659 cm^{-1} , 1556 cm^{-1} , 1398 cm^{-1} e 825 cm^{-1} . Os picos de absorção em 3384 cm^{-1} e 2659 cm^{-1} correspondem ao alongamento do grupo funcional OH, enquanto o pico em 1556 cm^{-1} corresponde ao grupo funcional CH, o pico em 1398 cm^{-1} corresponde ao $-\text{CH}_3$ e o pico de 825 cm^{-1} revela o modo de vibração metal-oxigênio (Zn-O) em NPs ZnO-5. Cabe mencionar que a presença do grupo funcional OH é possivelmente devido a moléculas de água e hidróxido de sódio, usados durante a síntese (Saini et al. 2017, Senthilkumar et al. 2017, Sureshbabu & Narayanan, 2013). De maneira geral, os dados obtidos indicam a presença de óxido de zinco em ambos materiais sintetizados, em que os trechos vibracionais encontrados no presente estudo demonstram consistência com aqueles descritos na literatura.

3. Síntese de S-nitrosoglutationa (GSNO)

S-nitrosoglutationa foi preparada por nitrosação de glutationa (GSH) (Rolim et al. 2019). Resumidamente, GSH foi misturado com uma quantidade equimolar de NaNO_2 em meio ácido ($\text{HCl} - 1 \text{ mol L}^{-1}$) por 40 min, protegido da luz e em banho de gelo. O GSNO obtido foi filtrado, lavado com água fria e liofilizado por 24 h. O material final foi armazenado a -20°C sob proteção da luz.

4. Estudos preliminares de dimensionamento de NPs ZnO por spICP-MS

Também foram realizados experimentos preliminares de dimensionamento de uma nanopartícula de ZnO comercial ($\leq 100 \text{ nm}$, Sigma Aldrich) utilizando spICP-MS. As suspensões utilizadas foram preparadas em meio aquoso e sonicadas em banho ultrassônico previamente a análise. A calibração do equipamento foi realizada com o material de referência NIST 8013 (Nanopartículas de Au – 56 nm). As condições instrumentais não foram otimizadas para esse experimento, uma vez que se pretendia realizar uma otimização criteriosa posteriormente.

Nas Figuras 6 e 7 são apresentados os resultados preliminares obtidos para o material de referência NIST e para a suspensão de NPs-ZnO comercial ($\leq 100 \text{ nm}$), respectivamente. Na Figura 6 é possível observar que a calibração foi adequada, uma vez que o tamanho médio de partícula determinado foi de 55 nm para o RM NIST 8013. Importante mencionar que nesse ensaio a concentração de NPs não foi avaliado. Além disso, a eficiência de nebulização foi de aproximadamente 1%, valor considerado baixo de acordo com a literatura que recomenda uma eficiência de nebulização de pelo menos 7 a 12%. A baixa eficiência de nebulização pode ser atribuída a diversos

fatores que podem estar relacionados à configuração instrumental, mas também a falta de otimização das condições experimentais. Isso irá afetar diretamente nos limites de detecção da técnica, dificultando a detecção de partículas de menores tamanhos. Apesar disso, foi possível dimensionar a NP-ZnO comercial (≤ 100 nm) sem grandes dificuldades. Suspensões com concentrações variadas foram analisadas (0,50; 1,00; 10,0; 25,0; 50,0 e 100 $\mu\text{g L}^{-1}$) e o perfil observado foi muito similar entre as suspensões. De acordo com a Figura 7, é possível verificar que o tamanho médio da NP-ZnO comercial foi de aproximadamente 78 nm, que está coerente com a estimativa de tamanho apresentada pelo fabricante (≤ 100 nm). A próxima etapa iria envolver a otimização criteriosa dos parâmetros instrumentais (vazão do gás de nebulização, potência do plasma, voltagem das lentes, entre outros) com o intuito de obter um método que pudesse ser posteriormente aplicado para o dimensionamento das demais suspensões de NPs-ZnO.

https://drive.google.com/file/d/1sr-yFNXqd-8tQXzQMEZ1gq_sHrsAok-D/view?usp=sharing

Figura 6. Resultados obtidos por spICP-MS para suspensão do RM NIST 8013 (Nanopartículas de Au – 56 nm) na concentração de 50 ng L⁻¹, utilizada para calibração do equipamento por tamanho de partícula: a) gráfico que relaciona os eventos ocorridos durante o tempo de aquisição de 60 s – cada pico representa uma partícula ou íon; b) gráfico que relaciona a frequência de eventos com a intensidade de sinal, no qual é possível distinguir o fundo (sinal relativo aos íons) do sinal das nanopartículas (perfil single particle) e c) gráfico de distribuição do tamanho de partículas na suspensão analisada.

<https://drive.google.com/file/d/1LMVpDprd3QYLms-Rjzr7VHzo5HD2boev/view?usp=sharing>

Figura 7. Resultados obtidos por spICP-MS para suspensão de NPs-ZnO comercial (≤ 100 nm) na concentração de 100 $\mu\text{g L}^{-1}$ após calibração com RM NIST 8013: a) gráfico que relaciona os eventos ocorridos durante o tempo de aquisição de 60 s – cada pico representa uma partícula ou íon; b) gráfico que relaciona a frequência de eventos com a intensidade de sinal, no qual é possível distinguir o fundo (sinal relativo aos íons) do sinal das nanopartículas (perfil single particle) e c) gráfico de distribuição do tamanho de partículas na suspensão analisada.

Planned research output details

| Title | Type | Anticipated release date | Initial access level | Intended repository(ies) | Anticipated file size | License | Metadata standard(s) | May contain sensitive data? | May contain PII? |
|--|------|--------------------------|----------------------|--------------------------|-----------------------|----------------|----------------------|-----------------------------|------------------|
| Síntese e caracterização de NPs ZnO, síntese de GS ... | Text | 2023-09-30 | Open | None specified | | None specified | None specified | No | No |