



**UNIVERSIDADE REGIONAL DO CARIRI - URCA**  
**CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE - CCBS**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA BIOLÓGICA - PPQB**

**MARIA KAROLLYNA DO NASCIMENTO SILVA LEANDRO**

**SÍNTESE, CARACTERIZAÇÃO E ATIVIDADE ANTIBACTERIANA DE  
NANOFOLHAS DE  $\text{Bi}_2\text{WO}_6$  EM CAMADAS E NANOBASTÕES DE  $\text{Ag}_2\text{M}_3\text{O}_{10}\cdot 2\text{H}_2\text{O}$   
COM E SEM EXPOSIÇÃO À LUZ VISÍVEL**

**Crato - CE**

**2022**

---



**UNIVERSIDADE REGIONAL DO CARIRI - URCA**  
**CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE - CCBS**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA BIOLÓGICA - PPQB**

**MARIA KAROLLYNA DO NASCIMENTO SILVA LEANDRO**

**SÍNTESE, CARACTERIZAÇÃO E ATIVIDADE ANTIBACTERIANA DE  
NANOFOLHAS DE  $\text{Bi}_2\text{WO}_6$  EM CAMADAS E NANOBASTÕES DE  $\text{Ag}_2\text{M}_03\text{O}_{10}\cdot 2\text{H}_2\text{O}$   
COM E SEM EXPOSIÇÃO À LUZ VISÍVEL**

Relatório de Tese apresentado ao Programa de Pós-Graduação em Química Biológica, da Universidade Regional do Cariri, como requisito para obtenção do Título de Doutor em Química Biológica.

Orientador: Prof. Dr. Henrique Douglas Melo Coutinho

Coorientador: Prof. Dr. João Victor Barbosa Moura

**Crato - CE**

**2022**

Ficha Catalográfica elaborada pelo autor através do sistema  
de geração automático da Biblioteca Central da Universidade Regional do Cariri - URCA

Leandro, Maria Karollyna DO NASCIMENTO SILVA

L437s SÍNTESE, CARACTERIZAÇÃO E ATIVIDADE ANTIBACTERIANA  
DE NANOFOLHAS DE  $\text{Bi}_2\text{WO}_6$  EM CAMADAS E NANOBASTÕES DE  
 $\text{Ag}_2\text{Mo}_3\text{O}_{10} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  COM E SEM EXPOSIÇÃO À LUZ VISÍVEL / Maria  
Karollyna DO NASCIMENTO SILVA Leandro. CRATO-CE, 2022.

66p. il.

Tese. Programa de Pós-Graduação em Química Biológica da Universidade  
Regional do Cariri - URCA.

Orientador(a): Prof. Dr. Henrique Douglas Melo Coutinho

Coorientador(a): Prof. Dr. João Victor Barbosa Moura

1.Antibacteriano, 2.Modulação, 3.Trimolibdato de prata, 4.Tungstato de  
bismuto; I.Título.

CDD: 571.7

**MARIA KAROLLYNA DO NASCIMENTO SILVA LEANDRO**

**SÍNTESE, CARACTERIZAÇÃO E ATIVIDADE ANTIBACTERIANA DE  
NANOFOLHAS DE  $\text{Bi}_2\text{WO}_6$  EM CAMADAS E NANOBASTÕES DE  $\text{Ag}_2\text{Mo}_3\text{O}_{10}\cdot 2\text{H}_2\text{O}$   
COM E SEM EXPOSIÇÃO À LUZ VISÍVEL**

Relatório de Tese apresentado ao Programa de Pós-Graduação em Química Biológica, da Universidade Regional do Cariri, como requisito para obtenção do Título de Doutor em Química Biológica.

**Relatório de Tese defendida e aprovada em: 19 de Julho de 2022**

**BANCA EXAMINADORA**



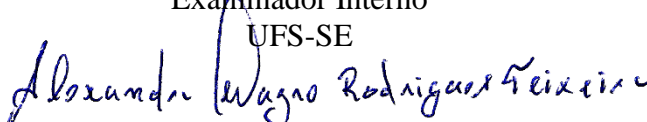
---

Prof. Dr. Henrique Douglas Melo Coutinho  
Orientador  
URCA-CE



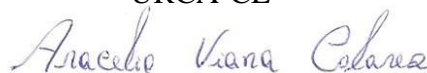
---

Prof. Dr. Lucindo José Quintans Júnior  
Examinador Interno  
UFS-SE



---

Prof. Dr. Alexandre Magno Rodrigues Teixeira  
Examinador Interno  
URCA-CE



---

Prof. Dr. Aracélio Viana Colares  
Examinador Externo  
UNILEÃO-CE



---

Prof. Dra. Celestina Elba Sobral de Souza  
Examinador Externo  
UNIVS-CE

Este estudo é dedicado a todos os pesquisadores que estão trabalhando diretamente na busca de novas formas de combater a pandemia da COVID-19.

Primeiramente a Deus e Nossa Senhora, por me conceder força e determinação em todos os momentos e por me manter perseverante em meus objetivos.

Aos meus pais Antonio e Flávia, por seus imensos esforços para que eu pudesse ter a oportunidade de estudar que eles nunca tiveram, por me amarem, por me ensinarem o melhor.

Ao meu irmão Alexandre, pelo amor, carinho e amizade.

Ao meu esposo, Kayke Leandro, por seu amor, cuidado, paciência e principalmente por todo o apoio durante esta jornada, por compreender os momentos de ausência, pela imensa ajuda sempre que preciso e por sempre estar ao meu lado.

Ao meu pequeno Kaleu, meu agradecimento diário, pois é você que me incentiva a continuar mesmo nos momentos difíceis. Muito obrigada por ter me escolhido para ser sua mãe e por ter chegado em meio a todos esses desafios que estamos vivendo nos últimos tempos, pois em você vejo esperança de um futuro melhor. Muito obrigada, meu filho amado.

A minha sogra Cicera, por cuidar de mim e me ajudar em tudo, por cuidar de Kaleu para que eu pudesse desenvolver esse trabalho. Sem você, nada disso seria possível. Serei eternamente grata.

As minhas ex-alunas, amigas, colegas de profissão e colegas de doutorado, Carol Justino e Priscilla Freitas, por todo apoio durante a realização dos testes e escrita do trabalho. Tenho muito orgulho das pessoas e profissionais incríveis que vocês são!

Ao meu orientador Dr. Henrique Douglas, por ter aceitado me orientar, quando pensei que a melhor opção seria desistir. Muito obrigada por toda compressão durante minha gestação e pós-parto. Sou muito grata por compartilhar seus conhecimentos, por incentivar, por ajudar em tudo e por sua imensa paciência em todos os momentos.

A UFCA e em especial ao meu co-orientador, João Victor Barbosa Moura, por ter cedido os materiais utilizados e por todo apoio durante as análises e a escrita dos manuscritos.

A minha amiga Stephanie Martins, que mesmo distante me ajuda e me incentiva todos os dias. Muito obrigada por ser tão presente na minha vida.

A minha amiga Janaina Esmeraldo, por estar ao meu lado em todos os momentos da minha vida, por me ajudar nos momentos mais difíceis e por me fazer feliz com esse seu jeito espontâneo de ser. Só tenho que te agradecer (por tudo).

A UNILEÃO e em especial a todos que fazem parte do curso de biomedicina, por incentivar sempre a qualificação do seu corpo docente.

Aos meus alunos, por me motivarem a cada dia buscar mais conhecimento.

A Universidade Regional do Cariri (URCA) pelo acolhimento.

A todos que fazem parte do LMBM por toda ajuda e conhecimento compartilhado.

A todos os meus colegas e professores do PPQB, por todos os momentos e conhecimentos compartilhados.

As instituições que contribuíram para as análises de caracterização dos materiais: UFCA, UFRN, UFPI, UFMA e UFC.

Às agências brasileiras fomentadoras de pesquisa FUNCAP, CAPES e FUNEP pelo auxílio financeiro de grande importância para o desenvolvimento das pesquisas.

A todos que de alguma maneira contribuíram para realização deste trabalho.

*“Tudo posso Naquele que me fortalece”  
(FILIPENSES,4:13*



## LISTA DE FIGURAS

**Figura 1:** Esquema representativo da estrutura da tese.....19

## CAPÍTULO I

**Figure 1:** X-ray diffraction pattern of  $\text{Bi}_2\text{WO}_6$  monolayers obtained by CTAB-assisted hydrothermal synthesis.....35

**Figure 2:** AFM images of the layered  $\text{Bi}_2\text{WO}_6$  nanosheets: (a) Surface topography, (b) three-dimensional image and (c–e) the corresponding height histograms.....35

**Figure 3:**  $\text{Bi}_2\text{WO}_6$  monolayer substructure configuration of  $[\text{BiO}]^+ - [\text{WO}_4]^{2-} - [\text{BiO}]^+$  exposing the Bi atoms on the surface.....36

**Figure 4:** SEM image of layered  $\text{Bi}_2\text{WO}_6$  nanosheets prepared by hydrothermal route showing two-dimensional structures.....36

**Figure 5:** (a) Raman and (b) FTIR spectra of layered  $\text{Bi}_2\text{WO}_6$  nanosheets at room temperature.....37

**Figure 6:** MIC of amikacin and gentamicin alone, or in the presence of  $\text{Bi}_2\text{WO}_6$  monolayers, against multi-drug resistant strains of *S. aureus* and *E. coli*. \*\*\*\*  $p < 0.0001$ , \*\*\*  $p < 0.001$ , \*\*  $p < 0.01$ .....38

**Figure 7:** MIC of amikacin and gentamicin alone, or in the presence of  $\text{Bi}_2\text{WO}_6$  monolayers and (a) blue, (b) yellow or (c) red LED lights, against MDR *S. aureus* and *E. coli* strains. \*\*\*\*  $p < 0.0001$ , \*\*  $p < 0.01$ , ns: value statistically non-significant.....39

## CAPÍTULO II

**Figure 1:** (a) Low - and (b) high-magnification SEM images of  $\text{Ag}_2\text{Mo}_3\text{O}_{10} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  nanorods prepared by the hydrothermal method (Magnifications: (a) 2 kx and (b) 10 kx). (c) The diameter size distribution of the nanorods. ....47

**Figure 2:** X-ray diffraction pattern of the  $\text{Ag}_2\text{Mo}_3\text{O}_{10} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  nanorods obtained by the hydrothermal method .....47

**Figure 3:** FTIR spectrum of  $\text{Ag}_2\text{Mo}_3\text{O}_{10}\cdot 2\text{H}_2\text{O}$  nanorods .....47

**Figure 4:** Thermogravimetric (black) and Differential Scanning Calorimetry (red) curves of  $\text{Ag}_2\text{Mo}_3\text{O}_{10}\cdot 2\text{H}_2\text{O}$  nanorods.....47

**Figure 5:** Diffuse reflectance ultraviolet–visible spectrum of  $\text{Ag}_2\text{Mo}_3\text{O}_{10}\cdot 2\text{H}_2\text{O}$  nanorods.....47

**Figure 6:** Minimum Inhibitory Concentration (MIC) of amikacin and gentamicin alone, or in the presence of  $\text{Ag}_2\text{Mo}_3\text{O}_{10}\cdot 2\text{H}_2\text{O}$ , against multi-drug resistant strains of *S. aureus* and *E. coli*. \*\*\*\* p < 0.0001 indicates significant differences between groups. Statistical significance was determined by one-way ANOVA and Bonferroni's post-hoc test.....48

**Figure 7:** Minimum Inhibitory Concentration (MIC) of amikacin and gentamicin alone, or in the presence of  $\text{Ag}_2\text{Mo}_3\text{O}_{10}\cdot 2\text{H}_2\text{O}$  and blue (A), yellow (B) or red (C) LED lights, against multi-drug resistant strains of *S. aureus* and *E. coli*. \*\*\*\* p < 0.0001 indicates significant differences between groups. Statistical significance was determined by one-way ANOVA and Bonferroni's post-hoc test.....49

## LISTA DE TABELAS

### CAPÍTULO I

**Table 1:** Observed Raman and FTIR modes of layered  $\text{Bi}_2\text{WO}_6$  nanosheets. ....37

**Table 2:** MIC of layered  $\text{Bi}_2\text{WO}_6$  nanosheets. ....37

### CAPÍTULO II

**Table 1:** Minimum Inhibitory Concentration (MIC) of  $\text{Ag}_2\text{Mo}_3\text{O}_{10}\cdot 2\text{H}_2\text{O}$ .....48

**1D** - Unidimensional  
**2D** - Bidimensional  
**3D** - Tridimensional  
**AFM** - Microscopia de força atômica  
**AMR** – Resistência à antimicrobianos  
**BC** - Banda de Condução  
**BU** - *Bottom-up* ou baixo-cima  
**BV** - Banda de Valência  
**DRX** - Difração de raios X  
**DSC** - Calorimetria de Varredura Diferencial  
*E.coli* - *Escherichia coli*  
**Eg** - Energia de band-gap  
**EHEC** - *Escherichia coli* enterohemorrágica  
**EIEC** - *Escherichia coli* enteroinvasora  
**EPEC** - *Escherichia coli* enteropatogênica  
**ER** - Espectroscopia Raman  
**ETE** - Estações de Tratamento de Esgoto  
**ETEC** - *Escherichia coli* enterotoxigênica  
**EVC** - Espuma Vítreá Fotocatalisadora  
**FT-IR** – Infravermelho com Transformada de Fourier  
**LED** - *Light Emitting Diodes*  
**LMBM** - Laboratório de Microbiologia e Biologia Molecular  
**MET** - Microscopia Eletrônica de Transmissão  
**MEV** - Microscopia Eletrônica de Varredura  
**NOX** - Óxidos de nitrogênio  
**OMS** - Organização Mundial de Saúde  
**PCR** - Reação em cadeia da Polimerase  
**POA** – Processo Catalítico Oxidativo Avançado  
**POPs** - Poluentes Orgânicos Persistentes  
*S. aureus* - *Staphylococcus aureus*  
**SET** – *Single Electron Transfer*  
**TD** - Top-down ou cima-baixo  
**TGA** – Análise termogravimétrica  
**UFC** – Universidade Federal do Ceará  
**UFCA** – Universidade Federal do Cariri  
**UFMA** – Universidade Federal do Maranhão  
**UFPI** – Universidade Federal do Piauí  
**UFRN** – Universidade Federal do Rio Grande do Norte  
**UNILEÃO** – Centro Universitário Doutor Leão Sampaio  
**URCA** – Universidade Regional do Cariri  
**UV** – Ultravioleta  
**UV-VIS-NIR** - ultravioleta – visível - infravermelho próximo

---

**SÍNTESE, CARACTERIZAÇÃO E ATIVIDADE ANTIBACTERIANA DE NANOFOLHAS DE  $\text{Bi}_2\text{WO}_6$  EM CAMADAS E NANOBASTÕES DE  $\text{Ag}_2\text{Mo}_3\text{O}_{10}\cdot 2\text{H}_2\text{O}$  COM E SEM EXPOSIÇÃO À LUZ VISÍVEL**

**RESUMO**

**Introdução:** Tendo em vista o grande problema de saúde pública relacionado ao desenvolvimento de resistência por microrganismos patogênicos à antibióticos, o surgimento de novos agentes antibacterianos torna-se imprescindível, assim, estudos realizados na área da biotecnologia com o desenvolvimento de nanomateriais, apresentam resultados promissores, tendo em vista os métodos de síntese que permitem criar diferentes materiais com propriedades variadas. **Objetivo:** avaliar a atividade antibacteriana e moduladora de nanobastões de  $\text{Ag}_2\text{Mo}_3\text{O}_{10}\cdot 2\text{H}_2\text{O}$  e nanofolhas de  $\text{Bi}_2\text{WO}_6$  em camadas com e sem exposição a luz visível. **Metodologia:** A obtenção dos materiais ocorreu por síntese hidrotérmica e para caracterização estrutural foram usados MEV, análises XRD e FTIR. Para  $\text{Ag}_2\text{Mo}_3\text{O}_{10}\cdot 2\text{H}_2\text{O}$  ainda foram realizadas a análise térmica e a espectroscopia no ultravioleta visível e para  $\text{Bi}_2\text{WO}_6$ , as análises Raman e microscopia de força atômica. A metodologia empregada nos testes microbiológicos foi a microdiluição em caldo, frente as cepas de *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus* padrões e multirresistentes. Nos testes de modulação os antibióticos empregados foram os aminoglicosídeos Amicacina e Gentamicina e o aparelho de LED nos comprimentos de onda azul (415nm), vermelho (620nm) e amarelo (590nm). Os resultados obtidos foram expressos como média  $\pm$  desvio padrão e as diferenças foram avaliadas por meio de análise de variância (ANOVA) seguida do pós-teste de Bonferroni usando o software *GraphPad Prism* 6.0. As diferenças com  $p < 0,05$  foram consideradas significativas. **Resultados e discussões:** As análises morfológicas e as caracterizações estruturais dos materiais por MEV e XRD revelaram a estrutura em bastonete de  $\text{Ag}_2\text{Mo}_3\text{O}_{10}\cdot 2\text{H}_2\text{O}$  de natureza cristalina. A cristalinidade das nanofolhas  $\text{Bi}_2\text{WO}_6$  também foi identificada e verificou-se que esta se apresenta em uma configuração em sanduíche. Os espectros de infravermelho confirmaram os resultados da análise de XRD para os dois materiais. A AFM realizada com as nanofolhas, estão em concordância com os resultados XRD. A análise térmica de  $\text{Ag}_2\text{Mo}_3\text{O}_{10}\cdot 2\text{H}_2\text{O}$  demonstra que este material apresenta uma ampla faixa de estabilidade térmica e as medições de refletância difusa UV-Vis mostram que é capaz de absorver luz visível. Os materiais apresentaram efeito antibacteriano frente as duas bactérias sem exposição a luz visível, já os experimentos utilizando o LED, sugerem que  $\text{Ag}_2\text{Mo}_3\text{O}_{10}\cdot 2\text{H}_2\text{O}$  com exposição à luz amarela, apresenta uma possível atividade fotocatalítica frente *S. aureus*. Nos testes de modulação, os nanobastões foram eficientes em diminuir a CIM de ambos os antibióticos contra a cepa Gram-negativa, resultado não verificado em nenhuma das combinações com as nanofolhas. Com a exposição as luzes de LED, foi levantada a hipótese de uma outra possível propriedade desses materiais, a fotocatalise de fármacos, sugerindo uma degradação dos aminoglicosídeos, o que justificaria os resultados antagonísticos observados. **Conclusões:** Os métodos empregados para síntese e caracterização de  $\text{Ag}_2\text{Mo}_3\text{O}_{10}\cdot 2\text{H}_2\text{O}$  e  $\text{Bi}_2\text{WO}_6$ , foram eficientes e que esses materiais podem ser promissores para agirem como agentes antibacterianos, além disso, os nanobastões

$\text{Ag}_2\text{Mo}_3\text{O}_{10}\cdot 2\text{H}_2\text{O}$  apresentam efeito sinérgico na associação com antibióticos. Ainda foi possível verificar que tais materiais poderiam ser empregados no tratamento de efluentes contendo gentamicina e amicacina, o que implica a realização de testes mais específicos, a fim de comprovar essa ação.

**Palavras-chave:** Antibacteriano. Modulação. Trimolibdato de prata. Tungstato de bismuto.

**Agradecimentos:** URCA, UNILEÃO, UFCA, UFRN, UFPI, UFMA, UFC, CNPq, CAPES, FUNEP E FUNCAP.

**SYNTHESIS, STRUCTURAL CHARACTERIZATION AND ANTIBACTERIAL  
ACTIVITY OF LAYERED Bi<sub>2</sub>WO<sub>6</sub> NANOSHEETS AND Ag<sub>2</sub>Mo<sub>3</sub>O<sub>10</sub>.2H<sub>2</sub>O NANORODS  
WITH AND WITHOUT VISIBLE LIGHT EXPOSURE**

**ABSTRACT**

**Introduction:** In accordance with the big health problem related to the development of resistance by pathogenic microorganisms to the antibiotics, the emergence of new antibacterial agents becomes essential, thus the studies of the biotechnology area with the development of nanomaterials have shown promising results, owing to the synthesis methods that make it possible to create different materials with various properties. **Objective:** To evaluate the antibacterial and antibiotic-modulation activity of layered Bi<sub>2</sub>WO<sub>6</sub> nanosheets and Ag<sub>2</sub>Mo<sub>3</sub>O<sub>10</sub>.2H<sub>2</sub>O nanorods with and without visible light exposure. **Methodology:** The materials were obtained by hydrothermal synthesis and for structural characterization SEM, XRD and FTIR were used. For Ag<sub>2</sub>Mo<sub>3</sub>O<sub>10</sub>.2H<sub>2</sub>O, thermal analysis and ultraviolet-visible spectroscopy were also used, and for Bi<sub>2</sub>WO<sub>6</sub>, Raman spectroscopy and atomic force microscopy were used. Broth microdilution was the methodology used for the microbiological tests using standard and multidrug-resistant strains of *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. For the antibiotic-modulation activity, aminoglycoside antibiotics as amikacin and gentamicin and the LED machine with a wavelength of blue (415nm), red (20nm) and yellow (590nm) light were used. Results were expressed as mean± standard deviation and the differences were evaluated by Analysis of variance (ANOVA) followed by the Bonferroni post-test using the GraphPad Prism 7.0 software. The differences were considered significant when p<0,05. **Results and Discussion:** Morphological analysis and structural characterization of the materials using SEM and XRD revealed a crystalline rod structure of Ag<sub>2</sub>Mo<sub>3</sub>O<sub>10</sub>.2H<sub>2</sub>O. The crystallinity of Bi<sub>2</sub>WO<sub>6</sub> nanosheets was also identified and it was showed as a sandwich configuration. The FTIR spectral data confirmed the XRD analysis results for both materials. The atomic force microscopy results from the nanosheets are according to the XRD results. Thermal analysis of Ag<sub>2</sub>Mo<sub>3</sub>O<sub>10</sub>.2H<sub>2</sub>O shows this material with a wide range of thermal stability and diffuse UV-Vis reflectance measurements suggesting this compound it's capable of absorbing visible light. Both materials showed antibacterial effect against both bacterial strains without the visible light exposure, whilst the experiments using LED suggest that Ag<sub>2</sub>Mo<sub>3</sub>O<sub>10</sub>.2H<sub>2</sub>O combined to yellow light exposure shows a possible photocatalytic activity against *S. aureus*. In the antibiotic-modulation activity, nanorods were efficient at decreasing the value of MIC in both antibiotics against the Gram-negative bacteria, which was not seen in any other combination with the nanosheets. With the LED exposure, it was hypothesized that another property of these materials might exist, the photocatalysis of drugs, suggesting a degradation of aminoglycosides, what can justify the antagonistic results. **Conclusion:** The methods used for the synthesis and for structural characterization of Ag<sub>2</sub>Mo<sub>3</sub>O<sub>10</sub>.2H<sub>2</sub>O e Bi<sub>2</sub>WO<sub>6</sub> were efficient and these materials can be promising to act as antibacterial agents, furthermore Ag<sub>2</sub>Mo<sub>3</sub>O<sub>10</sub>.2H<sub>2</sub>O nanorods show synergistic effect with combined to antibiotics. It was also possible to see that both materials could be used for the wastewater treatment containing gentamicin

and amikacin, which implies that further research with more specific tests are needed to prove this role.

**Key words:** Antibacterial. Antibiotic-Modulation. Silver trimolybdate. Silver tungstate.

**Acknowledgment:** URCA, UNILEÃO, UFCA, UFRN, UFPI, UFMA, UFC, CNPq, CAPES, FUNEP and FUNCAP.

Com a pandemia da COVID-19, o número de pessoas internadas aumentou consideravelmente e com isso, muitas pessoas acabaram desenvolvendo infecção hospitalar, com bactérias que são difíceis de tratar com os antibióticos existentes. Diante desse cenário, nesse trabalho nós produzimos dois nanomateriais usando a prata e o bismuto, e foram realizados testes com esses para verificar sua ação contra dois tipos diferentes de bactérias. Os resultados mostraram que os dois materiais apresentam uma ótima ação contra os microrganismos, mostrando um resultado muito importante, pois quem sabe, futuramente, eles possam ser usados como antibióticos no tratamento de infecções. Os resultados dos testes mostram ainda que esses materiais poderiam ser usados também para remover substâncias que contaminam rios, lagos e até mesmo o solo, por exemplo, os restos de medicamentos e outras substâncias que são desprezadas no meio ambiente pelos hospitais e também por indústrias.



<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO GERAL.....</b>	<b>17</b>
1.1	ESTRATÉGIAS DE PESQUISA.....	19
1.2	ESTRUTURA DA TESE.....	21
<b>2</b>	<b>OBJETIVOS.....</b>	<b>24</b>
2.1.	OBJETIVO GERAL.....	24
2.2.	OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	24
<b>3</b>	<b>FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA.....</b>	<b>25</b>
3.1	RESISTÊNCIA MICROBIANA E NOVOS AGENTES ANTIMICROBIANOS.....	25
3.2	NANOTECNOLOGIA E MATERIAIS NANOESTRUTURADOS.....	26
3.3	MÉTODOS DE SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DE NANOMATERIAIS.....	28
3.4	TUNGSTATOS E MOLIBDATOS.....	30
3.5	FOTOINDUÇÃO DE ESTRUTURAS E ATIVIDADE FOTOCATALÍTICA.....	32
<b>4</b>	<b>PRODUÇÃO CIENTÍFICA.....</b>	<b>35</b>
	CAPÍTULO I: CHARACTERIZATION AND EVALUATION OF LAYERED $\text{Bi}_2\text{WO}_6$ NANOSHEETS AS A NEW ANTIBACTERIAL AGENT.....	35
	CAPÍTULO II: SILVER TRIMOLYBDATE ( $\text{Ag}_2\text{Mo}_3\text{O}_{10}\cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ) NANORODS: SYNTHESIS, CHARACTERIZATION, AND PHOTO-INDUCED ANTIBACTERIAL ACTIVITY UNDER VISIBLE-LIGHT IRRADIATION.....	46
<b>5</b>	<b>CONSIDERAÇÕES FINAIS.....</b>	<b>56</b>
5.1	ASPECTOS GERAIS DA PRODUÇÃO CIENTÍFICA.....	56
5.2	CONCLUSÕES GERAIS.....	58
5.3	PERSPECTIVAS DE INVESTIGAÇÕES FUTURAS.....	58
<b>6</b>	<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>60</b>

A resistência de microrganismos à fármacos já comercializados e utilizados em ambientes hospitalares, representa um grande problema de saúde pública, uma vez que ameaça a qualidade de vida, já que compromete os orçamentos dos sistemas de saúde públicos e privados e intensifica os casos de infecção sem sucesso de tratamento. Esse fenômeno de resistência bacteriana ocorre por diversos fatores, mas, o uso indiscriminado de antibióticos, seja por automedicação ou por prescrição inadequada, se destaca como um dos principais agravantes deste problema, o que leva a utilização de doses cada vez maiores de fármacos e tratamentos mais prolongados, favorecendo também um maior risco de toxicidade (COSTA; SILVA, 2017).

Em 2015, os países membros da Organização Mundial de Saúde (OMS) adotaram o Plano de Ação Global sobre a resistência a antimicrobianos (AMR) com o objetivo de estabelecer metas para a produção, utilização, e comercialização desses medicamentos que envolvem diversos setores econômicos como a agropecuária e a indústria farmacêutica, e apesar do quantitativo de novos antibióticos desenvolvidos ser considerado pequeno nos últimos anos, a OMS tem garantido orçamento para ações nessa área mesmo em um contexto de desfinanciamento (SILVA et al. 2020).

No Brasil, foi elaborado o Plano de Ação Nacional para Prevenção e Controle da Resistência aos Antimicrobianos do Brasil (PAN-BR) com base nos objetivos determinados pela OMS, pela Organização das Nações Unidas para a Alimentação e a Agricultura e a Organização Mundial de Saúde Animal onde um dos seus principais objetivos é estimular e promover o desenvolvimento de novos antibióticos pela indústria farmoquímica e biotecnológica, inclusive buscando apoio para a pesquisa científica (BRASIL, 2019).

Cientistas em todo o mundo, inclusive no Brasil, continuam buscando novos produtos capazes de agirem como antimicrobianos mesmo com o pouco incentivo financeiro para execução dos experimentos. Tais pesquisas são extremamente importantes, tendo em vista que para algumas indústrias farmacêuticas é mais lucrativo o desenvolvimento de fármacos para tratamento de doenças crônicas, já que estes são utilizados por um período de tempo maior quando comparado à terapia antimicrobiana. Muitas pesquisas com produtos naturais e sintéticos já alcançaram bons resultados com relação ao potencial antibiótico e/ou sua capacidade de agirem em conjunto com outras substâncias em efeito sinérgico, sendo necessário o estímulo e apoio a esses estudos, para que o problema de resistência microbiana possa ser enfrentado com mais eficiência (DA SILVA; AQUINO, 2018)

Os casos de infecções hospitalares e de morbidade e mortalidade por microrganismos resistentes aumentaram ainda mais após a declaração da pandemia pela OMS no início de 2020, uma vez que houve uma intensificação dos casos de automedicação em busca de proteção contra o

coronavírus, mas que na verdade causou piora em quadros já graves e o surgimento de outras complicações (UZUNIAR; WANH, 2020).

Diversas pesquisas foram realizadas nos últimos anos com o intuito de obter novos agentes capazes de reverter esse fenômeno de resistência e/ou apresentarem efeito antibacteriano com exposição ou não à luz visível. A microrregião do Cariri, no sul do estado do Ceará, apresenta uma diversidade de espécies de plantas, onde muitas delas já foram estudadas com relação a essas propriedades, destacando-se as pesquisas dos grupos pertencentes a Universidade Regional do Cariri (URCA) a qual faço parte. Em contrapartida, pesquisadores da Universidade Federal do Cariri (UFCA), vem desenvolvendo uma série de materiais com diferentes propriedades, principalmente aqueles em escala nanométrica, assim surgiu o interesse em associar as pesquisas desses grupos e estudar os efeitos antibacterianos e moduladores de materiais nanoestruturados.

Os nanomateriais são definidos como aqueles que apresentam geralmente partículas com dimensões igual ou menor que 100 nanômetros após sua síntese, ou seja, possuem um tamanho 1000 a 10000 vezes menor que bactérias como *E.coli* e células sanguíneas como hemácias (ZARBIN, 2007).

Os sistemas de materiais em nano escala, vem se destacando em diversos estudos científicos, como uma possível alternativa ao combate de microrganismos resistentes, uma vez que possuem um tamanho muito pequeno, mas uma grande área de superfície, e são capazes de melhorar a veiculação de fármacos em tecidos específicos. Essas características levam a um aumento da eficácia e diminuição de efeitos adversos dos antimicrobianos, por controlarem a dosagem e tempo de ação (LOMBARDO, KISELEV, & CACCAMO, 2019).

De acordo com Santos, Grasseschib (2020), para se obter nanopartículas com propriedades eficientes, é indispensável o conhecimento prévio das propriedades das moléculas utilizadas nos processos de síntese dos nanomateriais híbridos, bem como garantir o controle da interação desses materiais com o ambiente químico ao seu redor, para que assim, haja uma aplicação eficiente desse sistema funcionalizante.

Diante disso, a síntese dos materiais utilizados no presente estudo foi realizada por um método bastante controlado, para que assim, o resultado final fosse obtido de forma eficaz. E para garantir a eficácia do método de síntese, foi realizada uma série de análises para caracterização. Após obtenção das nanofolhas de tungstato de bismuto em camadas e dos nanobastões do trimolibidato de prata dihidratado, as análises microbiológicas foram realizadas sob exposição a luz de LED (*Light Emitting Diodes*) e no escuro.

Dentre a imensa variedade de materiais nanoestruturados, os tungstatos se destacam por apresentarem elevados ponto de fusão, dureza e resistência (IVLELA et al, 2007). De acordo com Foggi et al., (2017), além de apresentarem diversas aplicações na área de tecnologia, os tungstatos

metálicos possuem forte potencial para uso na química medicinal, principalmente devido ao seu efeito tóxico em células bacterianas, fúngicas e até mesmo em células tumorais.

Os cristais de molibdatos também apresentam diversas aplicações tecnológicas, uma vez que são materiais com muitas propriedades físicas e químicas, tendo em vista, a grande gama de fases e estruturas cristalinas que podem formar: geometria tetraédrica com 4 átomos de oxigênios nos vértices e o molibdênio no centro ou geometria octaédrica, com 6 átomos de oxigênio. Estes podem ser aplicados como baterias, dispositivos optoeletrônicos, lasers, entre outros (MACZKA et al. 2012; YANG et al. 2017).

O objetivo inicial do presente estudo foi avaliar a capacidade dos nanobastões de  $\text{Ag}_2\text{Mo}_3\text{O}_{10}\cdot 2\text{H}_2\text{O}$  e nanofolhas de  $\text{Bi}_2\text{WO}_6$  em camadas de agirem como agentes antibacterianos e também como moduladores, entretanto, diante dos resultados obtidos, uma outra possível atividade foi sugerida para estes materiais: agentes fotocatalisadores de fármacos.

Essa atividade fotocatalítica já apresentada por outros nanomateriais também vem se destacando em diversas pesquisas científicas, uma vez que a contaminação ambiental por fármacos surge também como uma grave ameaça à saúde humana e animal e está relacionada principalmente ao descarte inadequado dos esgotos hospitalares, à própria produção farmacêutica industrial e até mesmo aos efluentes domésticos (excretados pela urina e fezes) que contaminam recursos hídricos ou o solo de aterros. Apesar das estações de tratamento de esgoto (ETE) realizarem a descontaminação da água, a remoção de antibióticos e outras classes de medicamentos depende muito da tecnologia empregada e da própria recalcitrância das moléculas, não sendo capazes de removerem totalmente esses produtos farmacêuticos (AMÉRICO et al., 2012).

Com isso, o presente estudo tem por objetivo, divulgar o primeiro relato acerca da atividade antibacteriana dos materiais analisados, bem como sugerir uma possível ação destes com relação a degradação de fármacos.

## 1.1 ESTRATÉGIAS DE PESQUISA

Para obtenção dos nanobastões de  $\text{Ag}_2\text{Mo}_3\text{O}_{10}\cdot 2\text{H}_2\text{O}$  e nanofolhas de  $\text{Bi}_2\text{WO}_6$  em camadas, foi utilizado o método de síntese hidrotérmica, um dos tipos de metodologia classificadas como Bottom-up (BU ou baixo-cima), onde precursores moleculares ou em escala atômica são moldados para formar qualquer material nanoestruturado com forma e tamanho altamente controlados (BAGLIONI & GIORGI, 2006).

Segundo Rudolph (2015), o termo hidrotérmico refere-se a qualquer reação na presença de água com temperatura acima da ambiente e com pressão maior que 1 atm em um sistema fechado.

Esse método passou a ser empregado em 1930, mas apenas na década de 1990 começou a ser usado para a síntese intencional de nanocristais. Nos últimos anos, essa metodologia vem sendo bastante utilizada em escala industrial para obtenção de vários tipos de materiais com alto valor, como quartzo e água marinha (CANU; BUSCAGLIA, 2017).

Por ser simples, de baixo custo, com baixo risco de contaminação do material e com produto final com alta qualidade, de acordo com Li et al. (2014), esse método foi o escolhido para obtenção dos materiais de estudo do presente trabalho. Para síntese dos nanobastões de trimolibdato de prata di-hidratado foi utilizado o método proposto por Chen et al. (2015) e já para a síntese das nanofolhas em camadas de  $\text{Bi}_2\text{WO}_6$ , utilizou-se a metodologia de Zhou et al., (2015).

Após a etapa de síntese, algumas análises foram realizadas para caracterizar esses materiais, uma vez que de acordo com Ealia; Saravanakumar (2017), essas características tem relação direta com as propriedades físicas e químicas desempenhadas pelos nanomateriais.

Os aspectos morfológicos das amostras foram analisados por microscopia eletrônica de varredura (MEV), no Laboratório de Caracterização de Materiais da Universidade Federal do Cariri (UFCA); a caracterização estrutural foi realizada por difração de raios X (DRX), a qual foi realizada no Departamento de Física da Universidade Federal do Rio Grande do Norte (UFRN) e foram avaliados os espectros de infravermelho com transformada de Fourier (FT-IR) também na UFCA. Para os nanobastões de  $\text{Ag}_2\text{Mo}_3\text{O}_{10}\cdot 2\text{H}_2\text{O}$  foram realizados também: DSC (Calorimetria de Varredura Diferencial) e TGA (Análise termogravimétrica) no Departamento de Física da Universidade Federal do Maranhão (UFMA), e Refletância difusa UV-Vis-NIR - Departamento de Física da Universidade Federal do Piauí (UFPI) e para as nanofolhas de  $\text{Bi}_2\text{WO}_6$  em camadas a Espectroscopia Raman (ER) realizada no Departamento de Física da Universidade Federal do Ceará UFC e a Microscopia de força atômica também no Departamento de Física UFPI.

Para realização dos testes microbiológicos para determinação da Concentração Inibitória Mínima e da modulação de fármacos, a metodologia escolhida foi a de microdiluição proposta por Coutinho et al. (2008); Coutinho et al., (2010), uma vez que segundo esses estudos, as combinações de diferentes substâncias com antibióticos pode alterar de alguma forma o efeito do fármaco, seja revertendo à resistência dos microrganismos ou potencializando a atividade desses medicamentos, sendo esse um dos maiores objetivos dos estudiosos que desenvolvem pesquisas nessas áreas, uma vez que são os dados preliminares para um possível desenvolvimento de novos agentes com propriedades antibacterianas para uso comercial.

As bactérias utilizadas nos testes foram as cepas bacterianas padrão (*E. coli* ATCC 25922 e *S. aureus* ATCC 25923) e multirresistentes (*S. aureus* 10 e *E. coli* 06) fornecidas pelo Laboratório de Microbiologia e Biologia Molecular (LMBM) da Universidade Regional do Cariri (URCA). O

objetivo de escolher tais cepas foi ter a possibilidade de avaliar o efeito dos materiais tanto em bactérias Gram negativas quanto Gram positivas.

*S. aureus* é um microrganismo Gram positivo que está relacionado como um dos principais causadores de infecções nosocomiais em recém-nascido (VIEGAS et al., 2010), já *E. coli* é classificada como Gram negativa e está associada principalmente a casos de infecções urinárias (SANTANA et al., 2012; TORTORA; CASE; FUNKE, 2016). Os relatos de desenvolvimento de resistências a antibióticos por essas bactérias estão aumentando cada vez mais, representando uma ameaça à saúde pública, uma vez que torna-se mais difícil o tratamento das infecções (MANGUIAT; FANG 2013).

Os antibióticos utilizados nos testes foram os aminoglicosídeos Amicacina e Gentamicina. Essa classe de fármacos possui um largo espectro de ação principalmente contra bactérias Gram negativas, sendo muito utilizados em casos mais graves de infecções (BALAKUMAR, ROHILLA e THANGATHIRUPATHI, 2010), entretanto muitas cepas estão desenvolvendo resistência a estes, sendo a inativação por enzimas intracelulares o mecanismo mais realizado (JANA, 2006).

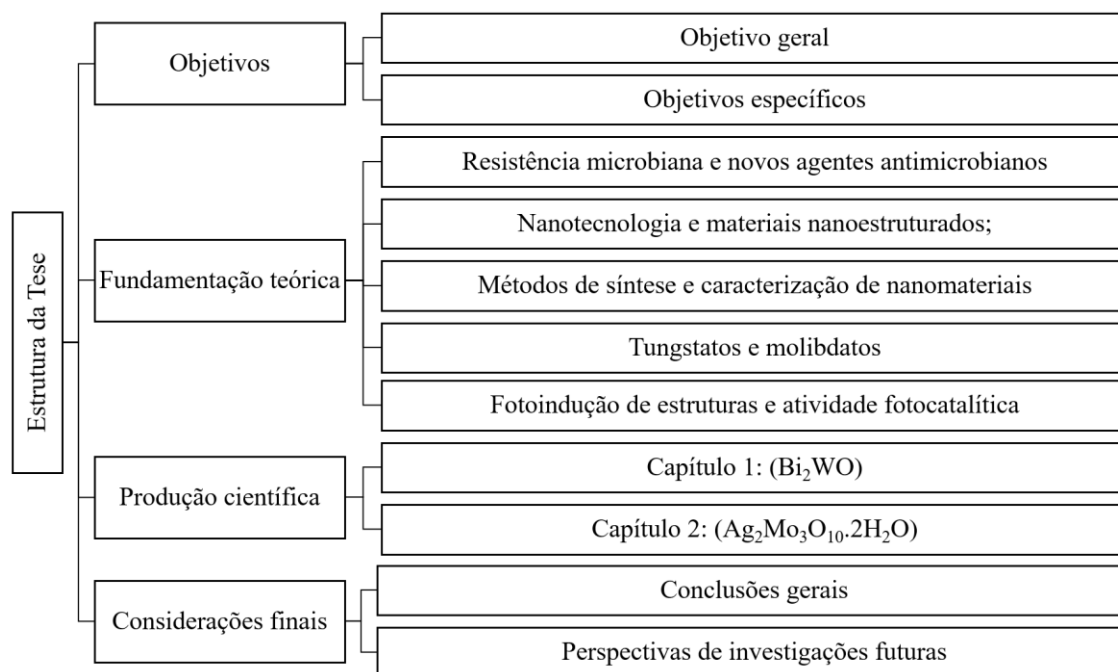
Os testes microbiológicos sob efeito da luz visível foram realizados seguindo as metodologias descritas acima, mas com exposição das placas de microdiluição as luzes do dispositivo *Light Emitting Diodes-LED* (um diodo emissor de luz), da marca NEW Estética®. Este dispositivo possui espectros de luz vermelha, azul e amarela e permite a combinação dessas cores. Os LEDs com comprimento de onda pré-determinado pelo aparelho utilizados foram: azul (415 nm), vermelho (620 nm) e amarelo (590 nm), de acordo com o método proposto por Pereira et al. (2017).

Após obtenção dos resultados, as análises estatísticas foram realizadas com base no método de Matias et al., (2013), onde os dados foram expressos como média  $\pm$  desvio padrão e as diferenças foram avaliadas por meio de análise de variância (ANOVA) seguida do pós-teste de Bonferroni usando o software *GraphPad Prism* 6.0. As diferenças com  $p < 0,05$  foram consideradas significativas. Por meio dessas análises, é possível gerar gráficos que expressam bem a ação de substâncias como agentes antibacterianos e moduladores.

## 1.2 ESTRUTURA DA TESE

O presente estudo relata os resultados dos estudos acerca das propriedades antibacterianas de dois nanomateriais, as nanofolhas de tungstato de bismuto ( $\text{Bi}_2\text{WO}_6$ ) em camadas e os nanobastões do trimolibidato de prata dihidratado ( $\text{Ag}_2\text{Mo}_3\text{O}_{10} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ). Para melhor organização da tese, esta foi dividida em 4 grandes blocos. A figura 1 mostra de forma representativa essa distribuição.

**Figura 1:** Esquema representativo da estrutura da tese.



Fonte: autoria própria.

O primeiro bloco corresponde aos objetivos geral e específicos da pesquisa. Para melhor aprofundar o embasamento teórico que envolve a problemática do presente estudo, o segundo bloco discutiu as seguintes informações que foram divididas em cinco tópicos:

- Resistência microbiana e novos agentes antimicrobianos;

Nesse tópico foi abordada a problemática que levou ao desenvolvimento do presente trabalho, que diz respeito à questão do desenvolvimento de resistência à antibióticos por bactérias Gram positivas e Gram negativas e também as possíveis alternativas que estão sendo pesquisadas para tentar resolver esse problema.

- Nanotecnologia e materiais nanoestruturados;

No segundo tópico da revisão, abordou-se um pouco do histórico do surgimento da área nanotecnologia bem como os tipos de nanomateriais existentes e suas aplicações e propriedades físico-químicas.

- Métodos de síntese e caracterização de nanomateriais;

O objetivo de abordar os métodos de síntese e caracterização de nanomateriais, foi esclarecer da melhor forma esses processos e facilitar o entendimento dos resultados obtidos no presente estudo, já que é um tema novo e que grande parte da população ainda desconhece.

- Tungstatos e molibdatos;

Nesse tópico foram descritos os nanomateriais utilizados neste trabalho; métodos de obtenção, propriedades e atividades já publicados em outros artigos.

- Fotoindução de estruturas e atividade fotocatalítica.

Por fim, nesse tópico foi abordada uma outra atividade atribuída aos nanomateriais, que é a atividade fotocatalítica, pois diante dos resultados obtidos nesse estudo, sugere-se que tais nanomateriais podem ter atuados desta forma. Assim, objetivou-se com esse tópico, esclarecer melhor tais propriedades.

O terceiro bloco corresponde aos artigos produzidos que foram organizados em dois capítulos.

O capítulo I, intitulado: *Characterization and evaluation of layered Bi<sub>2</sub>WO<sub>6</sub> nanosheets as a new antibacterial agent*, descreve a síntese pelo método hidrotérmico de Bi<sub>2</sub>WO<sub>6</sub> e também sua caracterização. Nos testes microbiológicos foram obtidos resultados significativos quanto a ação desse material frente as cepas bacterianas testadas. Os resultados desses testes foram publicados revista *Antibiotics*.

O capítulo II intitulado como *Silver trimolybdate (Ag<sub>2</sub>Mo<sub>3</sub>O<sub>10</sub>.2H<sub>2</sub>O) nanorods: synthesis, characterization, and photo-induced antibacterial activity under visible-light irradiation*, relata a síntese de Ag<sub>2</sub>Mo<sub>3</sub>O<sub>10</sub>.2H<sub>2</sub>O e sua caracterização por MEV, XRD, DSC, TGA, UV/VIS-NIR e FT-IR e mostra a atividade antibacteriana desse material contra cepas Gram negativas e positivas com e sem iluminação de LED. O artigo com esses resultados foi publicado na revista *Bioinorganic Chemistry and Applications*.

No quarto bloco estão as considerações finais do trabalho, correlacionadas com os dados da literatura, bem como as conclusões gerais e perspectivas futuras para novos estudos com esses nanomateriais, principalmente no que diz respeito a atividade fotocatalítica sugerida diante dos resultados que foram observados nos testes, uma vez que para garantir tal propriedade, são necessários estudos mais aprofundados.



### 2.1. OBJETIVO GERAL

Avaliar o potencial antibacteriano e modulador das nanofolhas de tungstato de bismuto em camadas e nanobastões de trimolibdato de prata dihidratado com e sem exposição a luz visível.

### 2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Sintetizar as nanofolhas de  $\text{Bi}_2\text{WO}_6$  em camadas e os nanobastões de  $\text{Ag}_2\text{Mo}_3\text{O}_{10}\cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ;
- Caracterizar morfologicamente os dois nanomateriais sintetizados;
- Avaliar os materiais com relação ao seu efeito antibacteriano frente bactérias patogênicas;
- Verificar o efeito modulador de antibióticos dos dois materiais frente microrganismos resistentes;
- Verificar as atividades antibacteriana e moduladora dos materiais com exposição a diferentes comprimentos de onda de luz visível.

#### 3.1 RESISTÊNCIA MICROBIANA E NOVOS AGENTES ANTIMICROBIANOS

O desenvolvimento de resistência a fármacos por microrganismos, representa um grave problema de saúde pública, uma vez que dificulta os tratamentos de pacientes e sobrecarrega os leitos hospitalares. Uma das principais cepas bacterianas que está cada vez mais desenvolvendo mecanismos de resistência é *Escherichia coli*. Essa bactéria Gram negativa, pertencente ao grupo dos coliformes fecais, faz parte da microbiota gastrointestinal humana e apresenta-se em diferentes patótipos, como enterotoxigênica (ETEC), enteropatogênica (EPEC), enterohemorrágica (EHEC) e enteroinvasora (EIEC) (ALMEIDA; LEONÍDIO; ANDRADE, 2016). Dentre os mecanismos de resistência desenvolvidos por esse microrganismo, destaca-se a sua capacidade de alterar a permeabilidade da sua membrana celular, dificultando a entrada dos antibióticos (PAITAN, 2018).

Outra bactéria que também se destaca por seus mecanismos de resistência é *Staphylococcus aureus*, Gram positiva que pertence a microbiota da pele humana, mas que pode ocasionar diversos processos infecciosos quando há alguma diminuição da imunidade do indivíduo ou alguma quebra da barreira cutânea como cortes, sendo este microrganismo um dos principais causadores de morbidades e mortalidades principalmente em países em desenvolvimento (KIM et al., 2019). Alguns dos mecanismos de resistência desenvolvidos por *S. aureus* estão relacionados com alterações nos sítios-alvos de ligação de fármacos (ALÓS, 2015).

Diante deste problema de saúde pública, muitas pesquisas estão sendo desenvolvidas no intuito de identificar novas substâncias com efeito antimicrobiano. A OMS (Organização Mundial de Saúde) incentiva os governos de diversos países a apoiarem os estudos para o desenvolvimento de antibióticos eficazes e de baixo custo, uma vez que a indústria farmacêutica tem encontrado dificuldades científicas e econômicas durante o desenvolvimento desses fármacos (OLIVEIRA; AQUINO, 2018).

Muitos estudos estão sendo realizados nos últimos anos para avaliar o efeito de nanopartículas como possíveis agentes antibacterianos, uma vez que de acordo com Shao, Hu e Wang (2017), independente da nanopartícula estudada, seja de cobre, prata, zinco, etc, o efeito antimicrobiano ocorre por mecanismos bastante semelhantes, iniciando com a ligação do material com a membrana do microrganismo, pois a atração eletrostática que é gerada devido a diferença de cargas, leva a adesão entre eles.

No estudo de Freire et al. (2018), foi avaliada a possível ação antibacteriana de nanopartículas de prata frente bactérias patogênicas, onde verificou-se eficácia desse material, diminuindo a formação de biofilmes. Já no estudo de Mohr et al. (2017), foi verificado efeito

antibacteriano de nanopartículas de Zinco frente *E.coli* e *S.aureus*. Algumas pesquisas buscaram elucidar propriedades antibacterianas de diferentes estruturas de cristais de  $\text{Bi}_2\text{WO}_6$ , frente bactérias patogênicas com e sem exposição à luz visível e obtiveram resultados promissores quanto à essas propriedades (CHEN, 2015; REN, 2009).

De acordo com Pal S. et al. (2007), há uma menor possibilidade de desenvolvimento de resistência às nanoestruturas pelas bactérias, quando comparada aos antibióticos comerciais, tendo em vista que os mecanismos de ação dos metais são diversos em um mesmo microrganismo, sendo assim, estes precisariam desenvolver vários mecanismos de mutação para adquirir resistência.

### 3.2 NANOTECNOLOGIA E MATERIAIS NANOESTRUTURADOS

Em 1959, o cientista americano Richard Feynman, posteriormente laureado com o Nobel de Física, proferiu uma palestra intitulada “There is plenty of room at the bottom” (Há mais espaços lá embaixo), onde elucidou seus estudos acerca da nanotecnologia, entretanto esse termo tornou-se popular apenas em 1986, com o livro “Engines of creation” (Motores da criação) de Eric Drexler, onde enfatiza que nanotecnologia é a área onde ocorre manipulação e aplicação industrial de estruturas atômicas e moleculares em escala nanométrica (bilionésimo de metro ou  $10^{-9}$  m) (TONET; LEONEL, 2019).

Para estabelecer uma melhor definição a cerca desses materiais, em 2011, a Comissão Europeia emitiu uma recomendação, conceituando como nanomaterial qualquer material natural, incidental ou fabricado com partículas desagregadas, agregadas ou aglomeradas, onde a distribuição dessas corresponda a 50% ou mais em dimensões externas com tamanhos entre 1 a 100 nanômetros, podendo esse limiar ser alterado para 1-50% em casos específicos justificados por exemplo, por questões relacionadas a saúde e meio ambiente (EUROPEAN COMMISSION, 2011).

Os nanomateriais naturais são por exemplo, cinzas vulcânicas e teias de algumas espécies de aranha, já os incidentais são aqueles produzidos de forma não intencional como os liberados por escapamentos de veículos. Assim, a nanotecnologia está mais voltada a manipulação dos nanomateriais manufaturados, ou seja, projetados para apresentarem propriedades específicas. Estas estão diretamente relacionadas a área de superfície, ou seja, quando um material é dividido em porções menores, seu efeito é aumentado, por exemplo: um material germicida como a prata, ao ser dividido em nanopartículas apresenta efeito muito mais efetivo do que a mesma quantidade de material em partículas maiores. Já o ouro, muda de cor quando dividido em partículas menores e consegue se ligar quimicamente com materiais biológicos, caracterizando o que é chamado de funcionalização de nanopartículas (SCHULZ, 2013).

As nanopartículas podem ser classificadas em orgânicas, inorgânicas e baseadas em carbono. Alguns polímeros orgânicos possuem a capacidade de transportar fármacos, seja este

aprisionado ou adsorvido. Exemplos de nanopartículas orgânicas são as micelas, lipossomas, dendrímeros e ferritina. As nanopartículas inorgânicas são aquelas que não são feitas de carbono e são à base de metal como alumínio (Al), cobre (Cu), ouro (Au), prata (Ag) e zinco (Zn) ou óxidos de metal, no qual as propriedades do metal como reatividade são modificadas na presença de oxigênio. Quando as nanopartículas são inteiramente de carbono, denominam-se como baseadas em carbono, por exemplo: fulerenos, grafeno, nanotubos e nanofibras de carbono (EALIA; SARAVANAKUMAR, 2017).

Os nanomateriais ainda podem ser divididos a partir de outras classificações, podendo apresentarem-se de acordo com a composição química como cerâmicos ou não metálicos (titânia, magnetita, etc.), metálicos (prata, ouro, etc.), poliméricos com estrutura amorfa ou cristalina e ainda são classificados de acordo com a sua dimensão em tridimensional (3D), bidimensional (2D), unidimensional (1D) e as nanopartículas (GONZÁLEZ-CARRERO, S; PÉREZ-PRIETO, 2018).

A estrutura mais comum das nanopartículas é a esférica, mas existem várias outras como cúbica e poliédrica. Essa última é a geometria observada nas fases iniciais do crescimento de cristais, e dependendo de alguns fatores como temperatura, pode voltar novamente a forma esférica. Os nanotubos, nanofios e nanobastões são exemplos de 1D, já os nanofilmes e nano-revestimentos englobam os materiais 2D e por fim, os nanodiamantes são exemplos 3D (GONÇALVES, 2012).

Os nanomateriais são aplicados de diferentes formas e em várias áreas, como por exemplo, na biomedicina (métodos de diagnóstico e desenvolvimento de próteses), na cosmetologia (protetores solares e maquiagens), na área têxtil (tecidos impermeabilizados), no esporte (tacos de golfes, raquetes e bolas de boliche), no setor automobilístico (tintas e pneus) e na eletrônica (telefones e ar condicionado) (LOURO; BORGES; SILVA, 2013).

A área farmacêutica é uma das mais envolvidas com o estudo e desenvolvimento de nanopartículas, uma vez que estas podem apresentar diferentes ações biológicas no organismo humano, seja pelo contato direto ou pela incorporação com outros produtos, sendo as principais vias de entrada no corpo: a pele (uso tópico), o pulmão (inalação) e o trato gastrointestinal (ingestão) (CHATURVEDI; DAVE, 2018).

Muitos fármacos já são comercializados com o sistema de nanotecnologia, como alguns antitumorais como o Doxil® e o Abraxane®; antifúngicos como o Ambisome®, sistemas micelares para o fármaco Diazepam com o nome comercial de Valium MM® e como suplementos nutricionais como o Kanakion MM® e Cerenevit®. O sistema de nanocristais de fármacos também já está no mercado, exemplos são: Rapamune®, Tricor®, Verelan® e Ritalin LA® por meio da tecnologia NanoCrystal® (DIMER et al., 2013).

Com base no estudo de Dias et al., (2021), acerca do desenvolvimento nanotecnológico no Brasil, é possível verificar que houve um aumento significativo de pesquisas e empresas que

desenvolvem produtos antimicrobianos em nanoescala. Cerca de R\$ 600 milhões dos recursos públicos foram investidos nessa área nos últimos 15 anos, valor ainda considerado pequeno em comparação à média mundial. No país, a empresa pioneira é a Nanox, que trabalha com o tratamento de superfícies como bebedouros, tapetes, embalagens, equipamentos odontológicos, brinquedos para cães, e durante a pandemia da COVID-19, desenvolveram uma máscara respiratória reutilizável. Outras empresas brasileiras já comercializam fármacos antimicrobianos com essa tecnologia, como produtos para unhas, e alguns cosméticos.

### 3.3 MÉTODOS DE SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DE NANOMATERIAIS

Em termos gerais, existem dois processos que são empregados para a síntese de nanoestruturas: Top-down (TD ou cima-baixo), que corresponde a decomposição de estruturas sólidas maiores em estruturas menores por meio de abrasão ou moagem de alta energia, formando nanomateriais com tamanho e forma variadas e Bottom-up (BU ou baixo-cima), que trata-se da síntese controlada, onde precursores em escala atômica ou molecular são moldados para formar as nanoestruturas com alto controle de forma (tubos, bastões, esferas, etc.) e tamanho (P. BAGLIONI & GIORGI, 2006).

Jamkhande et al., (2019) publicaram um levantamento de dados sobre esses métodos de síntese, distribuindo como: Métodos Top-Down (moagem mecânica, como moagem com bolas e o método mecanoquímico; ablação por laser; pulverização catódica) e métodos Bottom-up (métodos de estado sólido, como deposição física ou química de vapor; Métodos de síntese no estado líquido, como o método hidrotérmico; métodos de fase gasosa como pirólise por spray; métodos biológicos onde podem ser utilizados microrganismos como bactérias ou extrato de plantas por meio de biorredução ou biossorção; e outros métodos citados são: processo de eletrodeposição, técnicas de micro-ondas, processo de precipitação de fluido supercrítico e técnica de ultra-som.

Dentre os métodos citados, a síntese hidrotérmica é uma metodologia que permite controlar o tamanho e morfologia das partículas, sua microestrutura e propriedades químicas da superfície, uma vez que é possível realizar ajustes no experimento como temperatura, pressão e pH da solução (SU et al., 2006).

Entender tais procedimentos e mecanismos de síntese, é essencial para um melhor controle dos aspectos morfológicos como forma e tamanho dos nanomateriais, uma vez que estes fatores estão diretamente relacionados a suas propriedades e aplicabilidades em diferentes áreas (LEE et al., 2016).

Após a obtenção de nanomateriais, é imprescindível a análise de suas características, uma vez que estas relacionam-se diretamente com as propriedades físicas e químicas. Existem vários

métodos de caracterização para avaliar por exemplo: aspectos morfológicos (o tamanho e a distribuição das partículas são mais comumente analisados por microscopia eletrônica de varredura – MEV e microscopia eletrônica de transmissão - MET) e Cristalografia (o estudo do arranjo de átomos e moléculas em nanocristais geralmente é realizada por difração de raios-X – XRD (EALIA; SARAVANAKUMAR, 2017)).

Esses nanocristais ou sólidos cristalinos possuem uma repetição espacial (tridimensional) de uma estrutura básica (célula unitária), a qual é formada de um ou mais átomos, moléculas ou íons formando uma estrutura simétrica e rígida. Essas células unitárias são divididas em 7 sistemas cristalinos: cúbica, tetragonal, ortorrômbica, hexagonal, monocíclica, tricíclica e trigonal (KITTEL, 2005).

A microscopia de força atômica (AFM) também é uma ferramenta muito útil no estudo morfológico de superfícies em escala manométrica, seja de materiais cristalinos, amorfos ou de sistemas orgânicos. Por meio dessa análise, algumas propriedades podem ser investigadas, como elasticidade, atrito e desgaste (PINTO; RAMOS; DA FONSECA FILHO, 2015).

Os espectros de infravermelho também podem ser utilizados para caracterização de materiais. Essa espectroscopia irá produzir espectros de absorção e/ou transmissão, onde feixes de luz na região do infravermelho incidem sobre o material ou substância analisada, e como cada elemento apresenta um padrão único, é possível identificar e quantificar diferentes elementos (LEITE; PRADO, 2012).

Outra análise utilizada em caracterizações de cristais é a DSC (*Differential Scanning Calorimetry*), na qual, são realizadas medições de temperatura e fluxo de calor com relação as transições do material analisado, de acordo com tempo e temperatura, e assim são observados processos endotérmicos e exotérmicos que se relacionam com algumas propriedades dos materiais como a estabilidade térmica (ZHENG et al., 2019). A análise termogravimétrica (TGA) é outro tipo de análise térmica, onde é possível determinar variações de massa da amostra (perda e/ou ganho) em função da mudança de temperatura (PARTHASARATHY et al., 2013).

A Espectroscopia Raman (ER), também é utilizada como uma forma de se obter uma espécie de “impressão digital” estrutural das moléculas, uma vez que oferece uma alta capacidade de identificação. Nessa técnica, é utilizada uma fonte de luz monocromática que ao entrar em contato com o material, é espalhada inelasticamente, permitindo sua detecção (XU et al., 2018).

Os espectros eletrônicos de absorção também podem ser analisados para caracterização de nanomateriais. Geralmente a região espectral em que se pode medir os espectros é a região chamada UV-Vis, mas alguns equipamentos operam na região que atinge o infravermelho próximo, denominando como UV-Vis-Nir (KUMAR; SHARMA, 2017).

### 3.4 TUNGSTATOS E MOLIBDATOS

Os tungstatos (wolframatos) e molibdatos são compostos inorgânicos formados devido à combinação de cátions bivalentes com os grupos aniônicos  $[\text{WO}_4]^{2+}$  e  $[\text{MoO}_4]^{2-}$  respectivamente (NEVES; SCHENATO; BACHI, 2008). O molibdênio (Mo) e o tungstênio (W) são elementos químicos metálicos do bloco d, ou seja, elementos de transição, fazem parte do grupo cromo e são semelhantes com relação ao tamanho e propriedades químicas (LEE, 1980).

O molibdênio apresenta diversos estados de oxidação, onde (+6) é o mais estável, além disso, é capaz formar diferentes óxidos com diferentes estequiometrias, sendo os mais estudados em processos catalíticos o  $\text{MoO}_2$  e o  $\text{MoO}_3$ . O Tungstênio também possui vários estados de oxidação, formando óxidos com estequiometrias distintas, sendo (+6) o mais encontrado nos compostos (LEE, 2003).

Os primeiros dados registrados acerca dos tungstatos estão relacionados com os estudos dos minérios tungstenita e volframita entre 1742 a 1783, onde o tungstênio (W) foi isolado por meio da redução do ácido túngstico com carvão vegetal (PAULINO; AFONSO, 2013).

Algumas pesquisas buscaram elucidar propriedades antibacterianas de diferentes estruturas de cristais de  $\text{Bi}_2\text{WO}_6$ , frente bactérias patogênicas com e sem exposição à luz visível e obtiveram resultados promissores quanto à essas propriedades (CHEN, 2015; REN, 2009).

A interação de nanomateriais com a superfície bacteriana pode levar ao rompimento da membrana do patógeno, com consequente liberação do conteúdo intracelular, inclusive do genoma bacteriano, como já foi detectado em testes moleculares de Reação em cadeia da Polimerase (PCR) por Jia (2016), o qual afirma que  $\text{Bi}_2\text{WO}_6$  *Nanosheets* foi o responsável por melhorar o efeito bactericida de  $\text{TiO}_2$  sob luz visível provavelmente pela produção de espécies reativas de oxigênio que oxidam e danificam a membrana da bactéria.

O bismuto também já é reconhecido pela comunidade científica por sua capacidade de agir como inibidor de proteínas intracelulares essenciais para a sobrevivência de certas bactérias como *Helicobacter pylori* (WELLER, 2017).

Ren (2009b) ao analisar o efeito antibacteriano de nanopartículas de  $\text{Bi}_2\text{WO}_6$  frente cepas Gram negativas e Gram positivas obtiveram resultados significativos quando Ag foi depositado junto ao material e irradiado sob luz UV (ultravioleta). No estudo de Li; Zizhen (2019), cristais de  $\text{Bi}_2\text{WO}_6$  em morfologia hierárquica semelhante a flores, também apresentaram atividade antibacteriana frente *E.coli* quando o material foi irradiado com luz visível. O presente trabalho é o primeiro relato acerca das propriedades antibacterianas de nanofolhas em camadas bidimensionais de  $\text{Bi}_2\text{WO}_6$ .

De acordo com Velický (2017), o desenvolvimento de novos materiais 2D após o marco inicial da descoberta do grafeno é extremamente importante, tendo em vista que o transporte eletrônico em uma única camada é mais eficiente quando comparado ao transporte em muitas camadas, o que torna estes promissores em diversas áreas, inclusive biomédica.

Em 1922, Wyckoff publicou os primeiros registros na literatura acerca dos molibdatos de prata, onde apresentou o primeiro arranjo cristalino de  $\text{Ag}_2\text{MoO}_4$ . A partir desse primeiro relato, muitos outros estudos citam métodos de síntese diferentes e atividades atribuídas a estes molibdatos, como  $\text{Ag}_2\text{Mo}_2\text{O}_7$ ,  $\text{Ag}_2\text{Mo}_3\text{O}_{10}$ ,  $\beta\text{-Ag}_2\text{MoO}_4$  e  $\text{Ag}_6\text{Mo}_{10}\text{O}_{33}$ , (FENG; ZHANG et al., 2011, TANG et al., 2013, TANG; FU et al., 2017, KUMAR et al., 2016, MOURA et al., 2017, WANG et al., 2013).

No estudo de Hakouk et al. (2013), uma heteroestrutura resultante de nanofios ultrafinos de  $\text{Ag}_2\text{Mo}_3\text{O}_{10} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ , sintetizados pelo método *soft-chemistry* (química branda) apresentou-se como um eficiente fotocatalizador em solução aquosa do corante Rodamina B. Ferreira et al. (2019), também verificaram que nanobastões de molibdatos de prata obtidos pelo método sonoquímico, como o  $\text{Ag}_2\text{Mo}_3\text{O}_{10} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ , apresentam propriedades adsorventes fotocatalíticas, sugerindo seu uso no tratamento de águas residuais.

Liu et al. (2020), sintetizaram  $\text{Ag}_2\text{Mo}_3\text{O}_{10} \cdot 1.8\text{H}_2\text{O}$  com estrutura semelhante a hastes por meio de precipitação química e após essa obtenção,  $\text{AgI}/\text{Ag}_2\text{Mo}_3\text{O}_{10} \cdot 1.8\text{H}_2\text{O}$  foi subsequentemente formado. Nos testes para avaliar a atividade fotocatalítica desse material, também foram obtidos resultados eficientes na degradação de corantes.

No estudo de Chen et al. (2015), foi sintetizada a nanoheteroestrutura  $\text{Ag}_2\text{S}/\text{Ag}_2\text{Mo}_3\text{O}_{10}$  por meio de troca aniônica, onde nanopartículas de  $\text{Ag}_2\text{S}$  foram uniformemente dispersas na superfície dos nanobastões  $\text{Ag}_2\text{Mo}_3\text{O}_{10}$ , e apresentou atividade fotocatalítica na degradação do corante rodamina sob luz visível.

Moura et al. (2020), realizaram um levantamento de dados sobre os relatos na literatura, acerca dos molibdatos e suas propriedades fotocatalíticas, onde o Brasil foi identificado com um dos países que mais realizam estudos nessa área.

Com relação a fotocatalise de microrganismos e uma possível atividade antibacteriana e moduladora de molibdatos de prata, alguns estudos já demonstram esses efeitos: cristais de  $\beta\text{-Ag}_2\text{MoO}_4$  desempenharam atividade contra *E.coli* no estudo de Oliveira et al. (2017), já Tang et al. (2013) verificaram que nanopartículas de  $\text{Ag}_2\text{Mo}_2\text{O}_7$  foram eficientes contra *E.coli* e *S. aureus*. Moura et al. (2017) identificaram que cristais de  $\beta\text{-Ag}_2\text{MoO}_4$  apresentam efeito antibacteriano frente cepas Gram positivas e negativas e também é capaz de aumentar atividade de alguns antibióticos. O presente estudo é o primeiro relato com relação a atividade antibacteriana e moduladora dos cristais de trimolibdato de prata dihidratado ( $\text{Ag}_2\text{Mo}_3\text{O}_{10} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ).



### 3.5 FOTOINDUÇÃO DE ESTRUTURAS E ATIVIDADE FOTOCATALÍTICA

Os poluentes orgânicos persistentes (POPs) ganham destaque em pesquisas que buscam novas ferramentas para tratamento de efluentes, tendo em vista que estes são altamente resistentes aos tratamentos convencionais como coagulação, oxidação biológica e química, adsorção e troca iônica. Esses poluentes são produzidos principalmente por atividades humanas industriais, agrícolas e urbanas, e já foram encontrados em rios, lagos, oceanos e até em água potável, constituindo um sério problema de saúde ambiental e humana devido às suas propriedades tóxicas e cancerígenas (DAMALAS; ELEFTHEROHORINOS, 2011).

Diante desse problema, a fotocatalise heterogênea é uma tecnologia ativa para remediação ambiental, pois é um processo Catalítico Oxidativo Avançado (POA), onde, em geral, ocorre a formação de compostos oxidativos altamente reativos, como o ozônio (O<sub>3</sub>), peróxido de hidrogênio (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) e radicais hidroxila (•OH), levando a uma degradação muito rápida dos poluentes orgânicos (MOREIRA et al., 2017).

Essa catálise heterogênea, refere-se ao processo em que o catalisador e os reagentes estão em diferentes fases, onde os reagentes são geralmente líquidos ou gases e o catalisador, um sólido, já na catálise homogênea, eles estão na mesma fase, como um complexo metálico solúvel. A nanocatálise é considerada como uma espécie de ponte entre esses dois processos, pois ao utilizar nanopartículas, é possível aumentar a área superficial do catalisador a assim melhorar o contato reagentes-centro catalítico, semelhante a catálise homogênea e ao mesmo tempo, quando esses nanomateriais estão immobilizados em um suporte sólido, é possível separá-los de forma bastante simples das misturas reacionais, como ocorre na catálise heterogênea (PARMEGGIANI; CARDONA, 2012, RANADE; JOSHI, 2016).

Quando na presença de luz, no espectro visível ou não visível, ocorre a ativação de um fotocatalizador (complexos metálicos ou corantes orgânicos) e assim, a transferência de um elétron (SET – *Single Electron Transfer*) a um substrato no processo chamado *quenching*, tem-se a chamada catálise fotoredox (YOON; ISCHAY; DU, 2010). Já a fotoindução, ocorre quando os substratos são fotoativados na presença de luz, sem a necessidade de um fotocatalizador (WANG; FANG; CHEN, 2016).

Nos processos de fotocatalise, os semicondutores são sólidos em que os átomos estão organizados em uma rede tridimensional infinita e geralmente são nanocristalinos, favorecendo a produção de sítios oxidantes e redutores que podem ser utilizados na recuperação ambiental por meio de luz visível. Muitos estudos estão sendo realizados no intuito de desenvolver materiais que possam ter ação sob luz visível do espectro solar, por ser uma fonte limpa, segura, renovável e

abundante, já que a utilização de luz UV em escala industrial ainda é pouco aplicável (MARQUES; STUMBO; CANELA, 2017).

Esses semicondutores utilizados nos processos de fotocatalise, são compostos que possuem uma banda de energia, onde a banda de condução (BC) está separada da banda de valência (BV) por uma energia de band-gap (Eg). Os óxidos de metais de transição mais usados são Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub>, ZnO, ZnS, CdS, TiO<sub>2</sub>, sendo esse último o mais empregado, por ser estável em meios ácidos e básicos, não ser tóxico, de baixo custo, ter alta eficiência fotocatalítica e está disponível em diferentes formas cristalinas (GAO et al., 2017; CHEN et al., 2017).

Catalisadores à base de bismuto também vêm sendo desenvolvidos para utilização em processos fotocatalíticos heterogêneos, e esse efeito, pode ser melhorado modificando algumas características do material, como morfologia, cristalinidade, tamanho e área superficial (DI PAOLA et al., 2012).

Os óxidos semicondutores são compostos promissores com relação a aplicação na descontaminação ambiental por meio da fotocatalise, principalmente com a associação à luz solar. Esse processo é bastante interessante e vantajoso, entretanto, torna-se um desafio sintetizar nanomateriais que consigam aproveitar de forma totalmente eficaz esse tipo de luz em toda a faixa espectral (HERNANDEZ et al., 2015).

Além da busca por novos materiais que consigam degradar poluentes, fontes de luz também estão sendo pesquisadas, como os LEDs, pois possuem eficiência energética, tem uma vida útil prolongada e ao serem descartados, geram menos resíduos tóxicos quando comparado a outras fontes, contribuindo dessa forma para uma melhora no desempenho dos processos e também na diminuição de custos (DAVIDIDOU et al., 2018).

A indústria têxtil é uma das mais responsáveis pela geração de resíduos poluentes do meio ambiente, assim, emprega algumas técnicas de tratamento baseadas em processos biológicos e físico-químicos. Apesar disso e tendo em vista a quantidade de resíduos gerados e a escassez de recursos hídricos, novos métodos que empregam a fotocatalise heterogênea estão sendo desenvolvidos, principalmente para remoção de cor e matéria orgânica dos efluentes têxteis, diminuindo bastante a toxicidade (DOS SANTOS RIBEIR; FERRARI; TAVARES, 2020).

Outra aplicação dos processos oxidativos mediados por nanopartículas semicondutoras, é na pavimentação asfáltica, tendo em vista o grande impacto ambiental causado pelo transporte rodoviário. O objetivo desse método é realizar a degradação de poluentes do ar atmosférico, principalmente os óxidos de nitrogênio (NOX) e assim melhorar a qualidade do ar dos grandes centros urbanos (FAN et al., 2018).

A destruição de microrganismos por meio da fotocatalise heterogênea, é um método também empregado para desinfecção ambiental, tendo em vista que ocorrem uma série de eventos que

levam à morte da célula bacteriana, como os danos na parede e membrana citoplasmática, e também ataques diretos ao meio intracelular, uma vez que as proteínas bacterianas são degradadas de forma muito rápida nesses processos, e em alguns casos ocorre dano até mesmo ao material genético (PIGEO-TRÉMY et al., 2011). Teodoro et al. (2017) conseguiram eliminar completamente colônias de *E.coli* ao empregar a fotocatalise heterogênea utilizando luz UV e o semicondutor TiO<sub>2</sub>.

A ineficiência dos métodos de tratamento de efluentes ou até mesmo a ausência desses nos municípios, associada ao consumo exacerbado de antibióticos, contribuem para a onipresença desses fármacos em diversos ambientes, principalmente aquáticos, aumentando a proliferação de bactérias multirresistentes e a toxicidade, o que torna imprescindível, o desenvolvimento de novas ferramentas eficientes para degradar esses compostos (SERNA-GALVIS et al., 2017).

Na veterinária, o uso de medicamentos representa um problema ainda maior do que o consumo humano, com relação ao seu descarte. Geralmente, os fármacos usados em animais, são administrados em doses bem maiores e os efluentes veterinários são descartados no solo, onde na maioria das vezes, não são submetidos a qualquer tratamento anterior, poluindo as águas subterrâneas (CALIMAN, GAVRILESCU, 2009).

Dos Santos et al. (2017), conseguiram obter resultados eficazes na degradação do cloridrato de norfloxacinina ao empregar a fotocatalise heterogênea. Utilizando esse mesmo método, Mendes, Monteiro, Pontual (2020), verificaram fotocatalise do antibiótico metronidazol, reduzindo sua concentração em torno de 86%. No estudo de Carvalho et al. (2017), a ciprofloxacina foi fotodegradada de forma eficiente e com baixo custo ao utilizar o semicondutor em espuma vítrea fotocatalisadora (EVC).

Os resultados dos testes de Baneshi et al. (2018), mostraram que o método fotocatalítico empregado para degradação da gentamicina em solução aquosa, tanto sob luz UV quanto luz solar natural, são eficazes. Chen et al. (2013), conseguiram causar uma fotodegradação de outro aminoglicosídeo, a amicacina, removendo-a de solução aquosa sob luz solar artificial, assim torna-se cada vez mais importante, estudos de síntese e aplicação de materiais nanoestruturados para recuperação ambiental.

### CAPÍTULO I: CHARACTERIZATION AND EVALUATION OF LAYERED Bi<sub>2</sub>WO<sub>6</sub> NANOSHEETS AS A NEW ANTIBACTERIAL AGENT

Autores:

Maria Karollyna do Nascimento Silva Leandro, João Victor Barbosa Moura, Paulo de Tarso Cavalcante Freire, Maria Leticia Vega, Cleânio da Luz Lima, Ángel Alberto Hidalgo, Ana Carolina Justino de Araújo, Priscilla Ramos Freitas, Cicera Laura Roque Paulo, Amanda Karine de Sousa, Janaina Esmeraldo Rocha, Lívia Maria Garcia Leandro, Rakel Olinda Macedo da Silva, Natália Cruz-Martins, Henrique Douglas Melo Coutinho.

Revista: *Antibiotics*, Quais A1, Fator de impacto: 4.639

Link para acesso: <https://doi.org/10.3390/antibiotics10091068>

Situação: Publicado

Resumo do artigo em português:

**Introdução:** Microrganismos patogênicos estão causando cada vez mais casos de mortalidade e morbidade, juntamente com taxas alarmantes de ineficácia como resultado da resistência antimicrobiana adquirida. Bi<sub>2</sub>WO<sub>6</sub> mostrou bom potencial para ser usado como substância antibacteriana quando exposto a luz. Este estudo demonstra pela primeira vez a atividade antibacteriana dependente da dimensão de nanofolhas de Bi<sub>2</sub>WO<sub>6</sub> em camadas. **Materiais e métodos:** As nanofolhas de Bi<sub>2</sub>WO<sub>6</sub> em camadas sintetizadas foram preparados pelo método hidrotérmico e caracterizados por difração de raios X em pó (DRX), microscopia eletrônica de varredura (SEM), microscopia de força atômica (AFM) e espectroscopia de infravermelho Raman e com transformada de Fourier (FTIR). As atividades antibacterianas e de modulação de antibióticos foram realizadas em triplicata pelo método de microdiluição associada à irradiação de luz visível (LEDs). **Resultados:** As nanofolhas de Bi<sub>2</sub>WO<sub>6</sub> foram eficazes contra todos os tipos de bactérias testadas, com valores de MIC de 256 µg/mL contra cepas padrão e resistentes de *Escherichia coli*, e 256 µg/mL e 32 µg/mL contra cepas padrão e resistente de *Staphylococcus aureus*, respectivamente. As nanofolhas de Bi<sub>2</sub>WO<sub>6</sub> bidimensionais (2D) mostraram eficiência antibacteriana contra ambas as cepas estudadas sem a presença de luz. **Conclusões:** As nanofolhas de Bi<sub>2</sub>WO<sub>6</sub> em camadas revelaram atividade antibacteriana dependente da dimensão do sistema Bi<sub>2</sub>WO<sub>6</sub>.

**Palavras-chave:** Tungstato de bismuto; propriedades estruturais; agente antibacteriano; resistência a antibióticos.



## Article

# Characterization and Evaluation of Layered Bi<sub>2</sub>WO<sub>6</sub> Nanosheets as a New Antibacterial Agent

Maria Karollyna do Nascimento Silva Leandro <sup>1,2</sup>, João Victor Barbosa Moura <sup>3</sup>, Paulo de Tarso Cavalcante Freire <sup>4</sup>, Maria Leticia Vega <sup>5</sup>, Cleânio da Luz Lima <sup>5</sup>, Ángel Alberto Hidalgo <sup>5</sup>, Ana Carolina Justino de Araújo <sup>1</sup>, Priscilla Ramos Freitas <sup>1</sup>, Cicera Laura Roque Paulo <sup>1</sup>, Amanda Karine de Sousa <sup>1,2</sup>, Janaina Esmeraldo Rocha <sup>1</sup>, Livia Maria Garcia Leandro <sup>2</sup>, Rakel Olinda Macedo da Silva <sup>2</sup>, Natália Cruz-Martins <sup>6,7,8,\*</sup> and Henrique Douglas Melo Coutinho <sup>1,\*</sup>



**Citation:** Leandro, M.K.d.N.S.; Moura, J.V.B.; Freire, P.d.T.C.; Vega, M.L.; Lima, C.d.L.; Hidalgo, Á.A.; Araújo, A.C.J.d.; Freitas, P.R.; Paulo, C.L.R.; Sousa, A.K.d.; et al. Characterization and Evaluation of Layered Bi<sub>2</sub>WO<sub>6</sub> Nanosheets as a New Antibacterial Agent. *Antibiotics* **2021**, *10*, 1068. <https://doi.org/10.3390/antibiotics10091068>

Academic Editors: Raymond J. Turner and Marc Maresca

Received: 17 July 2021

Accepted: 31 August 2021

Published: 3 September 2021

**Publisher's Note:** MDPI stays neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.



**Copyright:** © 2021 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

- <sup>1</sup> Department of Biological Chemistry, Regional University of Cariri, Crato 63105-000, Brazil; karollynasilva@leaosampaio.edu.br (M.K.d.N.S.L.); caroljustino@outlook.com (A.C.J.d.A.); priscilla.r.freitas@hotmail.com (P.R.F.); lauraroquealencar@gmail.com (C.L.R.P.); amandakarine@leaosampaio.edu.br (A.K.d.S.); janainaesmeraldo@gmail.com (J.E.R.)
- <sup>2</sup> Department of Biomedicine, University Center Dr. Leão Sampaio, Juazeiro do Norte 63040-005, Brazil; liviamariagarcialeandro@hotmail.com (L.M.G.L.); rakelolinda@leaosampaio.edu.br (R.O.M.d.S.)
- <sup>3</sup> Department of Physics, Science and Technology Center, Federal University of Maranhão, São Luís 65085-580, Brazil; jvb.moura@ufma.br
- <sup>4</sup> Department of Physics, Campus do Pici, Federal University of Ceará, Fortaleza 60455-760, Brazil; tarso@fisica.ufc.br
- <sup>5</sup> Department of Physics, Campus Ministro Petrônio Portella, Federal University of Piauí, Teresina 64049-550, Brazil; marialeticia.vega@gmail.com (M.L.V.); cleanio@ufpi.edu.br (C.d.L.L.); angel.ufu@gmail.com (Á.A.H.)
- <sup>6</sup> Faculty of Medicine, University of Porto, Alameda Prof. Hernani Monteiro, 4200-319 Porto, Portugal
- <sup>7</sup> Institute for research and Innovation in Health (i3S), University of Porto, Rua Alfredo Allen, 4200-319 Porto, Portugal
- <sup>8</sup> Institute of Research and Advanced Training in Health Sciences and Technologies (CESPU), Rua Central de Gandra, 1317, 4585-116 Gandra, Portugal
- \* Correspondence: ncmartins@med.up.pt (N.C.-M.); hdmcoutinho@gmail.com (H.D.M.C.)

**Abstract:** Pathogenic microorganisms are causing increasing cases of mortality and morbidity, along with alarming rates of ineffectiveness as a result of acquired antimicrobial resistance. Bi<sub>2</sub>WO<sub>6</sub> showed good potential to be used as an antibacterial substance when exposed to visible light. This study demonstrates for the first time the dimension-dependent antibacterial activity of layered Bi<sub>2</sub>WO<sub>6</sub> nanosheets. **Materials and methods:** The synthesized layered Bi<sub>2</sub>WO<sub>6</sub> nanosheets were prepared by the hydrothermal method and characterized by powder X-ray diffraction (XRD), scanning electron microscopy (SEM), atomic force microscopy (AFM), and Raman and Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR). Antibacterial and antibiotic-modulation activities were performed in triplicate by the microdilution method associated with visible light irradiation (LEDs). **Results:** Bi<sub>2</sub>WO<sub>6</sub> nanosheets were effective against all types of bacteria tested, with MIC values of 256 µg/mL against *Escherichia coli* standard and resistant strains, and 256 µg/mL and 32 µg/mL against *Staphylococcus aureus* standard and resistant strains, respectively. Two-dimensional (2D) Bi<sub>2</sub>WO<sub>6</sub> nanosheets showed antibacterial efficiency against both strains studied without the presence of light. **Conclusions:** Layered Bi<sub>2</sub>WO<sub>6</sub> nanosheets revealed dimension-dependent antibacterial activity of the Bi<sub>2</sub>WO<sub>6</sub> system.

**Keywords:** bismuth tungstate; structural properties; antibacterial agent; antibiotic resistance

## 1. Introduction

Microbial infections triggered by resistant pathogens have raised important public health problems in the world, being currently the focus of study by multiple researchers in an intent to provide safer, effective and less harmful antimicrobials [1]. Among the

various fields under intense research, nanobiotechnology has been on high demand, with an increasing number of nanomaterials being highlighted in several scientific studies as a possible alternative to fight resistant microorganisms. Characterized by a very small size, but with a large surface area, such nanoformulations have revealed the capability of improving the delivery of drugs in specific tissues, ultimately boosting drugs' effectiveness and a reduction in adverse effects, as both dose and time of action can be thoroughly controlled [2].

After the discovery of graphene, nanomaterials with a 2D dimension are increasingly being targeted by research seeking to elucidate physical properties in relation to their bulk precursors [3]. However, in the post-graphene era, numerous inorganic materials in the form of layers have been extensively investigated, such as transition metal dichalcogenides [4] and layered metal oxides [5], among others. Monolayered bismuth tungstate ( $\text{Bi}_2\text{WO}_6$ ) nanosheets is a representative example; the Aurivillius oxide  $\text{Bi}_2\text{WO}_6$  nanosheets has a sandwich substructure of  $[\text{BiO}]^+ - [\text{WO}_4]^{2-} - [\text{BiO}]^+$ . Layered  $\text{Bi}_2\text{WO}_6$  nanosheets were obtained by a cetyltrimethylammonium bromide-assisted bottom-up route [6].

Bismuth tungstate ( $\text{Bi}_2\text{WO}_6$ ) has received huge attention as a visible light photocatalyst [7].  $\text{Bi}_2\text{WO}_6$  has shown interesting photochemical stability and reusability, being potentially useful for environmental treatment purposes, while also exhibiting photocatalytic degradation of Erichrome Black T (EBT) organic dye [8]. Furthermore,  $\text{Bi}_2\text{WO}_6$  exhibited photocatalytic activity for degrading norfloxacin and enrofloxacin under visible light irradiation, meaning its feasible application along with fluoroquinolone antibiotics [9]. In a study, Aurivillius oxide  $\text{Bi}_2\text{WO}_6$  was applied as an effective visible light-driven antibacterial photocatalyst for *Escherichia coli*'s inactivation, where neither visible light without the photocatalyst nor  $\text{Bi}_2\text{WO}_6$  in the dark revealed bactericidal effects. Thus, the bactericidal effect in *E. coli* was certainly attributed to the photocatalytic reaction of  $\text{Bi}_2\text{WO}_6$  under visible light irradiation [10].

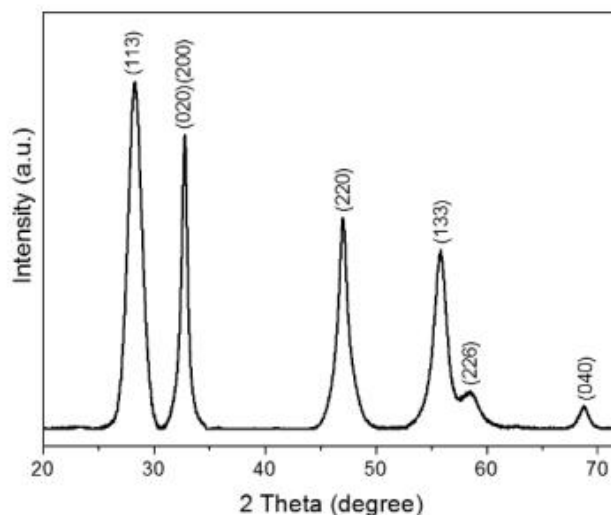
In this sense, the present study aims to assess, for the first time, the antibacterial and antibiotic modulation effects of layered  $\text{Bi}_2\text{WO}_6$  nanosheets against the standard and multidrug-resistant (MDR) *Staphylococcus aureus* and *E. coli*. Two-dimensional (2D)  $\text{Bi}_2\text{WO}_6$  nanosheets showed antibacterial efficiency in both studied strains (Gram-negative and Gram-positive bacteria) without the presence of light (in the dark), showing a dimension-dependent antibacterial activity of the  $\text{Bi}_2\text{WO}_6$  system and improving its properties in relation to the bulk material.

## 2. Results and Discussion

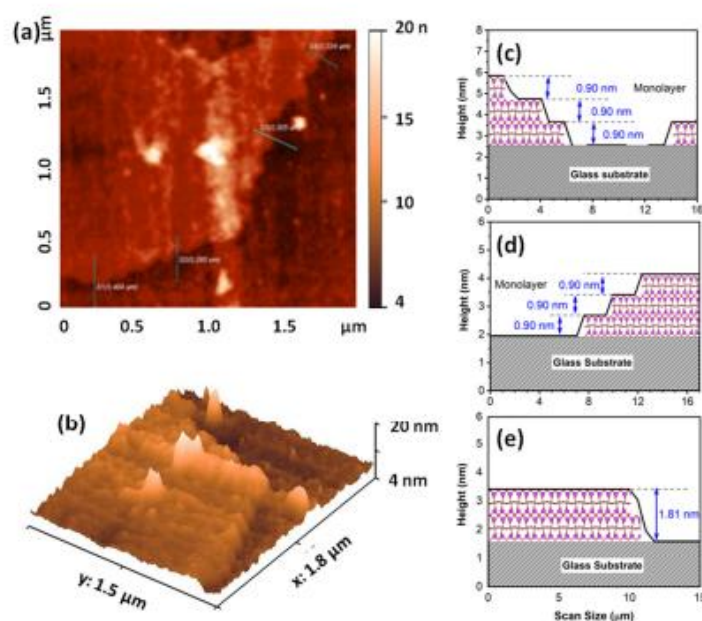
### 2.1. Characterization of Layered $\text{Bi}_2\text{WO}_6$ Nanosheets

Figure 1 shows the XRD powder pattern of  $\text{Bi}_2\text{WO}_6$  obtained by a CTAB-assisted hydrothermal method. The crystalline nature of the samples was confirmed, and all diffraction peaks can be indexed to an orthorhombic  $\text{Bi}_2\text{WO}_6$  phase with lattice parameters  $a = 5.457 \text{ \AA}$ ,  $b = 5.436 \text{ \AA}$  and  $c = 16.427 \text{ \AA}$  (JCPDS Card N° 73-2020), without secondary phase. The intensity ratio of the (020)/(200) Bragg peak to the (113) peak was higher than the standard value. In addition, the full width at half maximum (FWHM) of the (200)/(020) Bragg peak was narrower than that of the (113) peak. This analysis indicates a higher grain size of the synthesized bismuth tungstate along the (100) and (010) directions compared to the (001) direction [11]. The AFM images (Figure 2a,b) and the corresponding height histograms (Figure 2c,d) of the layered  $\text{Bi}_2\text{WO}_6$  nanosheets show that the monolayer has a thickness of about 0.9 nm, which is in agreement with that of  $\text{Bi}_2\text{WO}_6$  monolayer along the (001) direction. In addition, the three-dimensional (3D) morphology in Figure 2b indicates that the layered  $\text{Bi}_2\text{WO}_6$  nanosheets have a dense and flat morphology. Therefore, the AFM result agrees with the XRD results. Furthermore, this result is in perfect agreement with data obtained by Zhou et al. [6], who showed by high resolution transmission electron microscopy (HRTEM) and atomic force microscopy (AFM) that layered  $\text{Bi}_2\text{WO}_6$  nanosheets obtained by CTAB-assisted hydrothermal synthesis exposes (001) facets. In addition, the

authors showed that layers had a thickness of 0.8 nm, i.e., the  $\text{Bi}_2\text{WO}_6$  monolayer along the (001) direction features 1/2 the size of the unit cell in the c-axis direction.

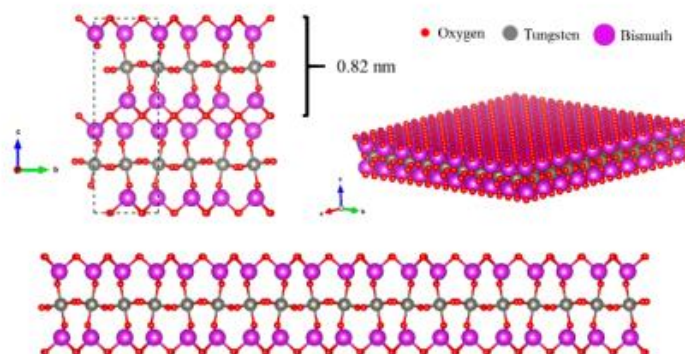


**Figure 1.** X-ray diffraction pattern of layered  $\text{Bi}_2\text{WO}_6$  nanosheets obtained by CTAB-assisted hydrothermal synthesis.

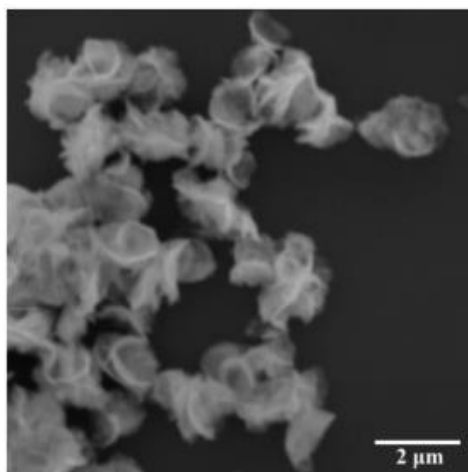


**Figure 2.** AFM images of the layered  $\text{Bi}_2\text{WO}_6$  nanosheets: (a) Surface topography, (b) three-dimensional image and (c–e) the corresponding height histograms.

As stated above and looking at Figure 3, Aurivillius  $\text{Bi}_2\text{WO}_6$  is a layered material built up of  $[\text{Bi}_2\text{O}_2]$  layers and corner-shared  $\text{WO}_6$  octahedral layers, whereas the  $\text{Bi}_2\text{WO}_6$  monolayer has a sandwich substructure configuration of  $[\text{BiO}]^+ - [\text{WO}_4]^{2-} - [\text{BiO}]^+$  exposing the Bi atoms on the surface. The morphology of the two-dimensional  $\text{Bi}_2\text{WO}_6$  nanosheets can be shown by the SEM images (Figure 4), which clearly reveal  $\text{Bi}_2\text{WO}_6$  exhibiting thin two-dimensional structures.



**Figure 3.**  $\text{Bi}_2\text{WO}_6$  monolayer substructure configuration of  $[\text{BiO}]^+ - [\text{WO}_4]^{2-} - [\text{BiO}]^+$  exposing the Bi atoms on the surface.



**Figure 4.** SEM image of layered  $\text{Bi}_2\text{WO}_6$  nanosheets prepared by hydrothermal route showing two-dimensional structures.

The room temperature Raman and Fourier transform infrared (FTIR) spectra of the synthesized layered  $\text{Bi}_2\text{WO}_6$  nanosheets are presented in Figure 5 and Table 1. The Raman spectrum of  $\text{Bi}_2\text{WO}_6$  monolayers in the spectra range between  $100$  and  $900\text{ cm}^{-1}$  presents broad Raman peaks, some even overlapping forming only shoulders, making them difficult to distinguish in the unpolarized spectrum (See Figure 5a). On one hand, the Raman spectrum exhibits significant changes as the crystallite size decreases, comparing the Raman spectrum of  $\text{Bi}_2\text{WO}_6$  monolayers with the spectrum of  $\text{Bi}_2\text{WO}_6$  bulk structures. On the other hand, the Raman spectrum obtained is in full agreement with what is shown in the literature for nano-sized materials [12]. Looking at the FTIR spectrum in Figure 5b, we see that the broad band at  $3460\text{ cm}^{-1}$  corresponds to the stretching vibration of O–H bonds, indicating water molecules adsorbed on the surface of the sample. The  $2921\text{ cm}^{-1}$  and  $2854\text{ cm}^{-1}$  are associated with the C–H stretching vibrations of the methyl and methylene groups of CTAB used in hydrothermal synthesis [13]. The assignment of the Raman and FTIR modes that come from the W–O or Bi–O bonds are listed in Table 1. In summary, the FTIR and Raman spectra obtained are in full agreement with what is shown in the literature and in agreement with the XRD results [12,14,15].



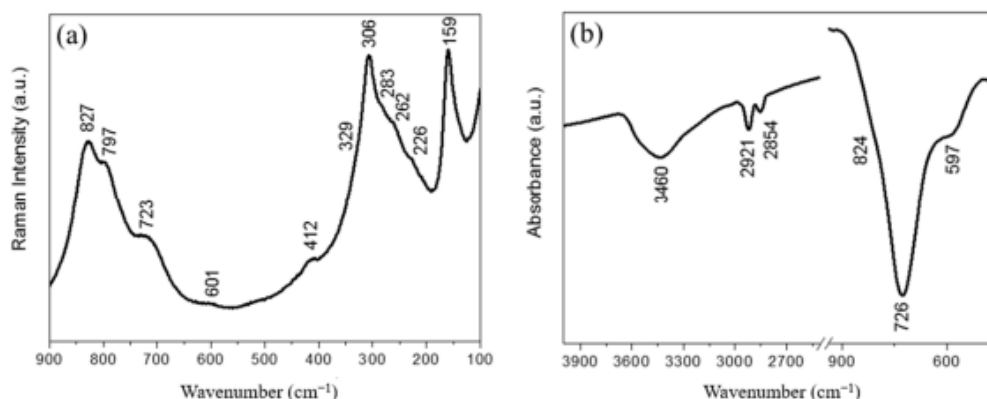


Figure 5. (a) Raman and (b) FTIR spectra of layered  $\text{Bi}_2\text{WO}_6$  nanosheets at room temperature.

Table 1. Observed Raman and FTIR modes of layered  $\text{Bi}_2\text{WO}_6$  nanosheets.

Observed Modes ( $\text{cm}^{-1}$ )		Assignment
Raman	Infrared	
827	824	Asymmetric stretching of $\text{WO}_6$
797	-	Symmetric stretching of $\text{WO}_6$
723	726	Asymmetric stretching of $\text{WO}_6$
601	597	Bending of $\text{WO}_6$
412	-	Bending of $\text{WO}_6$
329	-	Bending of Bi-O bonds
306	-	Bending of $\text{WO}_6$
283	-	Bending of $\text{WO}_6$
262	-	Bending of $\text{WO}_6$
226	-	Bending of $\text{WO}_6$
159	-	Translational mode (Bi)

## 2.2. Antibacterial Activity of Layered $\text{Bi}_2\text{WO}_6$ Nanosheets

$\text{Bi}_2\text{WO}_6$  nanosheets revealed to be effective against all kinds of bacteria tested, with a MIC of 256  $\mu\text{g}/\text{mL}$  against *E. coli* standard and resistant strains, and of 256  $\mu\text{g}/\text{mL}$  and 32  $\mu\text{g}/\text{mL}$  against *S. aureus* standard and resistant strains, respectively (Table 2). Evaluating the antibacterial activity of  $\text{Bi}_2\text{WO}_6$  nanosheets under LED irradiation with varying wavelengths (415, 620 and 590 nm), no photocatalytic reaction was observed, given that MIC values do not decrease under visible light irradiation. Thus,  $\text{Bi}_2\text{WO}_6$  nanosheets exhibit excellent antibacterial inactivation on *E. coli* and *S. aureus* in the dark.

Table 2. MIC of layered  $\text{Bi}_2\text{WO}_6$  nanosheets.

Treatment	E.C. ATCC 25922	S.A. ATCC 25923	E.C. 06	S.A. 10
$\text{Bi}_2\text{WO}_6$ monolayers	256	256	256	32
$\text{Bi}_2\text{WO}_6$ + Blue Light	341.3	256	256	32
$\text{Bi}_2\text{WO}_6$ + Yellow Light	256	256	512	64
$\text{Bi}_2\text{WO}_6$ + Red Light	256	256	256	32

S.A., *Staphylococcus aureus*; E.C., *Escherichia coli*. The MIC values are expressed in  $\mu\text{g}/\text{mL}$ .

In the study by Li et al. [16], the  $\text{Bi}_2\text{WO}_6$  crystals in hierarchical flower-like morphology did not reveal antibacterial activity against *E. coli* in the dark, as some effect was only observed when the material was irradiated with visible light. Likewise, Hen et al. [10] using Aurivillius oxide  $\text{Bi}_2\text{WO}_6$  as an effective visible light-driven antibacterial photocatalyst for *E. coli* inactivation, did not report any bactericidal effect under visible light without the photocatalyst nor  $\text{Bi}_2\text{WO}_6$  in the dark. It is, however, worth noting that the results obtained by Hen et al. [10] and Li et al. [16] attributed the bactericidal effect to the photocatalytic

reaction of  $\text{Bi}_2\text{WO}_6$  (bulk) under visible light irradiation. In the present study, it was demonstrated that the antibacterial activity of the layered  $\text{Bi}_2\text{WO}_6$  nanosheets was intrinsic to the material (no need for the presence of visible light).

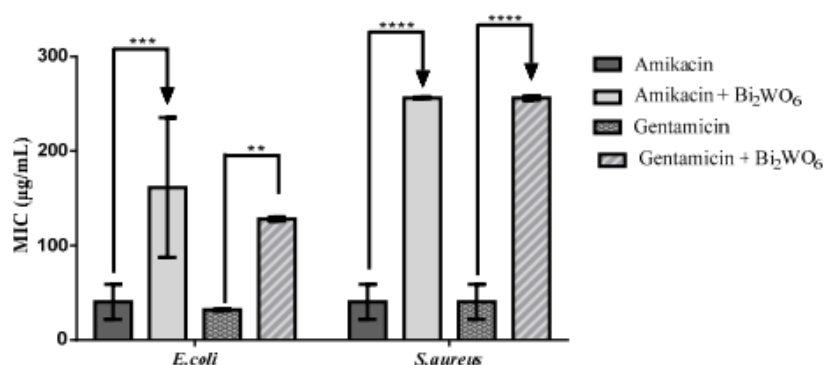
Regarding the antibacterial effect of  $\text{Bi}_2\text{WO}_6$  nanosheets, an intrinsic clinical relevance was found with the standard stated by Houghton et al. [17]. Another interesting point to underline is that this material affects Gram-positive and Gram-negative bacteria equally, which highlights the great clinical and technological potential of this material. This is especially important in view of the significant increase in resistance mechanisms developed by *E. coli* and *S. aureus*, such as the alteration of cell membrane permeability, making it difficult for antibiotics to enter and change the target drug binding sites, respectively [18,19].

In addition, the crystalline structure of layered  $\text{Bi}_2\text{WO}_6$  nanosheets has the ability to generate  $e^- - h^+$  pairs, while the sandwich substructure of  $[\text{BiO}]^+ - [\text{WO}_4]^{2-} - [\text{BiO}]^+$  monolayer  $\text{Bi}_2\text{WO}_6$  simulates the heterojunction interface with space charge that promotes the separation of carriers generated in the interface [6]. As a result, such species interact with  $\text{H}_2\text{O}$ , triggering the formation of  $\text{OH}^\bullet$ ,  $\text{H}^+$ , and  $\text{O}_2^{\bullet-}$ , which can act on the cells' surface to degrade some components of bacterial cell membrane. Cell rupture can cause the bacteria to lose function and eventually lead to cell death [20]. Moreover, the high surface area/volume ratio of 2D  $\text{Bi}_2\text{WO}_6$  nanosheets favors the interaction between the sample and the bacterial membrane, facilitating possible adsorption processes. Therefore, based on the results discussed above, it is possible to observe the possibility that the mechanism responsible for the antibacterial activity of  $\text{Bi}_2\text{WO}_6$  monolayers is related to the two-dimensional property of the system.

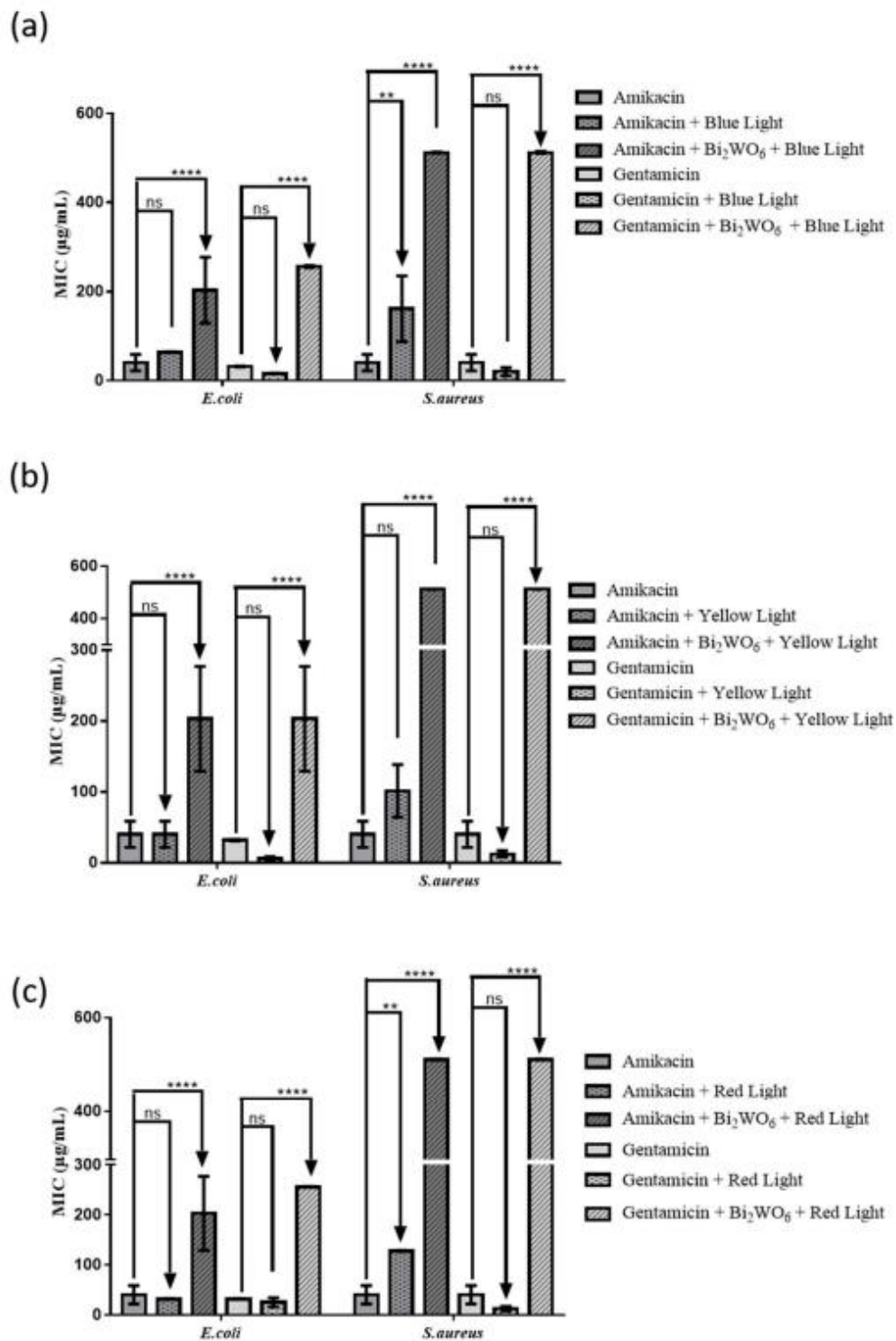
### 2.3. Modulation of Antibiotic Activity by Layered $\text{Bi}_2\text{WO}_6$ Nanosheets

Data obtained on the modulation of antibiotic activity demonstrated by  $\text{Bi}_2\text{WO}_6$  nanosheets are shown in Figure 6. The compound significantly raised the MIC of both antibiotics (amikacin and gentamicin) against Gram-negative and Gram-positive strains, show no improvements in antibiotic activity, and the associations even resulted in antagonistic effects.

The association of aminoglycosides under visible light irradiation may represent a promising strategy in the treatment of skin infections caused by resistant bacteria. Therefore, in this study the antibiotic-modulating effects of LED light exposure associated or not with  $\text{Bi}_2\text{WO}_6$  nanosheets was investigated (Figure 7). No potentiation of the action of aminoglycosides associated with  $\text{Bi}_2\text{WO}_6$  nanosheets against Gram-positive and Gram-negative strains was stated, regardless of LED wavelength. Thus, the strong antagonistic effects observed when aminoglycosides were used in combination with  $\text{Bi}_2\text{WO}_6$  nanosheets under visible light irradiation against Gram-positive and Gram-negative strains seem to be related to the high photocatalytic potential of bismuth tungstate in degrading organic compounds [8,9].



**Figure 6.** MIC of amikacin and gentamicin alone, or in the presence of  $\text{Bi}_2\text{WO}_6$  monolayers, against multi-drug resistant strains of *S. aureus* and *E. coli*. \*\*\*\*  $p < 0.0001$ , \*\*\*  $p < 0.001$ , \*\*  $p < 0.01$ .



**Figure 7.** MIC of amikacin and gentamicin alone, or in the presence of Bi<sub>2</sub>WO<sub>6</sub> monolayers and (a) blue, (b) yellow or (c) red LED lights, against MDR *S. aureus* and *E. coli* strains. \*\*\*\*  $p < 0.0001$ , \*\*  $p < 0.01$ , ns: value statistically non-significant.

The emergence of antibiotic resistance by pathogenic bacteria occurs due to several factors and, among these, the inappropriate drugs' disposal stands out. Specifically, wastewater from health facilities, mainly hospitals, stands out as an important source of emission of antibiotics in the environment and, thus, it is important to degrade these compounds before disposal. In this sense, current research is seeking new agents capable of acting as photocatalysts [21], and  $\text{Bi}_2\text{WO}_6$  nanosheets showed a good potential in the treatment of effluents containing gentamicin and amikacin.

### 3. Materials and Methods

#### 3.1. Synthesis

The synthesis of layered  $\text{Bi}_2\text{WO}_6$  nanosheets was performed by a hydrothermal method, as described previously [6]. Sodium tungstate dihydrate [ $\text{Na}_2\text{WO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ] ( $\geq 99\%$ , Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA), bismuth nitrate pentahydrate [ $\text{Bi}(\text{NO}_3)_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ ] ( $\geq 98.0\%$ , Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA) and hexadecyltrimethylammonium—CTAB [ $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{15}\text{N}(\text{Br})(\text{CH}_3)_3$ ] were used as starting precursors. In a synthesis procedure, 1 mmol of  $\text{Na}_2\text{WO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ , 2 mmol of  $\text{Bi}(\text{NO}_3)_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  and 0.05 g of CTAB were dissolved in 80 mL of deionized water. This aqueous solution was stirred for 30 min at an average speed of 1500 rpm. The resulting solution was transferred to a 100 mL Teflon-lined stainless autoclave and maintained at 120 °C for 24 h. The white precipitates were repeatedly washed with deionized water and dried in an air oven at 60 °C for 10 h.

#### 3.2. Structural Characterization

Structural characterization was performed by X-ray diffraction (XRD) using a Mini-Flex Rigaku diffractometer. Morphological analysis of layered  $\text{Bi}_2\text{WO}_6$  nanosheets was carried out in a scanning electron microscope (SEM) model Vega3 Tescan. Atomic force microscopy images were recorded using NTMDT microscope. Fourier Transform Infrared (FT-IR) spectra were obtained using a Perkin Elmer Spectrum Two spectrophotometer. Raman measurements were performed by a Horiba LabRaman spectrometer.

#### 3.3. Analysis of Antibacterial Activity and Antibiotic Resistance Modulation

The antibiotic-enhancing activity was assessed using the methodology of Coutinho et al. [22].

#### 3.4. Experiments with LED Light Exposure

The Light Emitting Diodes-LED device (a light emitting diode; NEW Estética<sup>®</sup>, Fortaleza, Brazil) was used in the experimental protocols. The LEDs with a wavelength predetermined by the device used were blue (415 nm), red (620 nm) and yellow (590 nm). To assess the effect of LED light exposure on bacterial growth in modulating antibacterial activity, cultures and treatments were performed as described above. Plates were exposed to blue, red or yellow light for 20 min and then incubated at 37 °C for 24 h. Plates without exposure to LED light were used as experimental controls. Readings were performed as described above.

#### 3.5. Statistical Analysis

Statistical analysis was performed using the GraphPad Prism 6.0 software, with an alpha set at 0.05. One-way analysis of variance (ANOVA) and Bonferroni's post-hoc tests were used to address differences between groups. More details are shown in Supplementary File S1.

### 4. Conclusions

Data obtained in this study provide significant insights into the dimension-dependent antibacterial activity of layered  $\text{Bi}_2\text{WO}_6$  nanosheets. The crystalline nature of the samples was confirmed, and all diffraction peaks were indexed to the orthorhombic  $\text{Bi}_2\text{WO}_6$  phase. Two-dimensional (2D)  $\text{Bi}_2\text{WO}_6$  nanosheets showed antibacterial action against

the strains studied without the presence of light, and also revealed a possible catalytic effect of antibiotics. Further studies are needed toward a more in-depth understanding on this action.

**Supplementary Materials:** The following are available online at <https://www.mdpi.com/article/10.3390/antibiotics10091068/s1>, File S1: Synthesis, characterization and microbiological testing; extended methodology.

**Author Contributions:** Conceptualization, H.D.M.C., J.V.B.M., C.d.L.L. and P.d.T.C.F.; data curation, M.K.d.N.S.L. and J.V.B.M.; formal analysis, M.K.d.N.S.L. and J.V.B.M.; investigation, M.K.d.N.S.L., J.V.B.M., A.C.J.d.A., P.R.F., J.E.R., C.L.R.P., A.K.d.S., R.O.M.d.S. and L.M.G.L.; methodology, M.K.d.N.S.L., J.V.B.M., A.C.J.d.A., P.R.F., J.E.R., C.L.R.P., A.K.d.S., R.O.M.d.S. and L.M.G.L.; project administration, H.D.M.C., N.C.-M., J.V.B.M., M.K.d.N.S.L.; supervision, H.D.M.C.; writing—original draft, H.D.M.C.; J.V.B.M., M.K.d.N.S.L., M.L.V., N.C.-M. and Á.A.H.; writing—review and editing, H.D.M.C., N.C.-M., J.V.B.M., M.K.d.N.S.L. and Á.A.H. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

**Funding:** This research received no external funding.

**Data Availability Statement:** Data presented in this study are available on request from the corresponding author.

**Acknowledgments:** The authors thank Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico—CNPq, Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior—CAPES, and Fundação Cearense de Apoio ao Desenvolvimento Científico e Tecnológico—FUNCAP (Proc. BP4-00172-00232.01.00/20 and Proc. PR2-0101-00006.01.00/15) for the financial support. The authors would also like to thank the educational institutions UFCA, URCA, and UNILEÃO for their support during the experiments.

**Conflicts of Interest:** The authors declare no conflict of interest.

## References

1. De Oliveira, D.R.; Tintino, S.R.; Morais-Braga, M.F.B.; Boligon, A.A.; Athayde, M.L.; Coutinho, H.D.M.; De Menezes, I.R.A.; Fachineto, R. In Vitro Antimicrobial and Modulatory Activity of the Natural Products Silymarin and Silibinin. *BioMed Res. Int.* **2015**, *2015*, 292797. [CrossRef]
2. Lombardo, D.; Kiselev, M.A.; Caccamo, M.T. Smart Nanoparticles for Drug Delivery Application: Development of Versatile Nanocarrier Platforms in Biotechnology and Nanomedicine. *J. Nanomater.* **2019**, *2019*, 3702518. [CrossRef]
3. Momeni, K.; Ji, Y.; Wang, Y.; Paul, S.; Neshani, S.; Yilmaz, D.E.; Shin, Y.K.; Zhang, D.; Jiang, J.-W.; Park, H.; et al. Multiscale computational understanding and growth of 2D materials: A review. *npj Comput. Mater.* **2020**, *6*, 22. [CrossRef]
4. Pan, B.; Zhang, K.; Ding, C.-C.; Wu, Z.; Fan, Q.; Luo, T.; Zhang, L.; Zou, C.; Huang, S. Universal Precise Growth of 2D Transition-Metal Dichalcogenides in Vertical Direction. *ACS Appl. Mater. Interfaces* **2020**, *12*, 35337–35344. [CrossRef]
5. Puthirath Balan, A.; Radhakrishnan, S.; Woellner, C.F.; Sinha, S.K.; Deng, L.; Reyes, C.D.L.; Rao, B.M.; Paulose, M.; Neupane, R.; Apte, A.; et al. Exfoliation of a non-van der Waals material from iron ore hematite. *Nat. Nanotechnol.* **2018**, *13*, 602–609. [CrossRef]
6. Zhou, Y.; Zhang, Y.; Lin, M.; Long, J.; Zhang, Z.; Lin, H.; Wu, J.C.-S.; Wang, X. Monolayered Bi<sub>2</sub>WO<sub>6</sub> nanosheets mimicking heterojunction interface with open surfaces for photocatalysis. *Nat. Commun.* **2015**, *6*, 8340. [CrossRef] [PubMed]
7. Tang, J.; Zou, Z.; Ye, J. Photocatalytic Decomposition of Organic Contaminants by Bi<sub>2</sub>WO<sub>6</sub> Under Visible Light Irradiation. *Catal. Lett.* **2004**, *92*, 53–56. [CrossRef]
8. Lai, M.T.L.; Lai, C.W.; Lee, K.M.; Chook, S.W.; Yang, T.C.K.; Chong, S.; Juan, J.C. Facile one-pot solvothermal method to synthesize solar active Bi<sub>2</sub>WO<sub>6</sub> for photocatalytic degradation of organic dye. *J. Alloys Compd.* **2019**, *801*, 502–510. [CrossRef]
9. Huang, C.; Chen, L.; Li, H.; Mu, Y.; Yang, Z. Synthesis and application of Bi<sub>2</sub>WO<sub>6</sub> for the photocatalytic degradation of two typical fluoroquinolones under visible light irradiation. *RSC Adv.* **2019**, *9*, 27768–27779. [CrossRef]
10. Ren, J.; Wang, W.; Zhang, L.; Chang, J.; Hu, S. Photocatalytic inactivation of bacteria by photocatalyst Bi<sub>2</sub>WO<sub>6</sub> under visible light. *Catal. Commun.* **2009**, *10*, 1940–1943. [CrossRef]
11. Zhou, Y.; Lv, P.; Meng, X.; Tang, Y.; Huang, P.; Chen, X.; Shen, X.; Zeng, X. CTAB-Assisted Fabrication of Bi<sub>2</sub>WO<sub>6</sub> Thin Nanoplates with High Adsorption and Enhanced Visible Light-Driven Photocatalytic Performance. *Molecules* **2017**, *22*, 859. [CrossRef] [PubMed]
12. Mączka, M.; Macalik, L.; Hermanowicz, K.; Kępiński, L.; Tomaszewski, P. Phonon properties of nanosized bismuth layered ferroelectric material-Bi<sub>2</sub>WO<sub>6</sub>. *J. Raman Spectrosc.* **2009**, *41*, 1059–1066. [CrossRef]
13. Su, G.; Yang, C.; Zhu, J.-J. Fabrication of Gold Nanorods with Tunable Longitudinal Surface Plasmon Resonance Peaks by Reductive Dopamine. *Langmuir* **2015**, *31*, 817–823. [CrossRef] [PubMed]
14. Gupta, H.; Archana, H.C.; Luthra, V. Lattice dynamical investigations for Raman and infrared frequencies of Bi<sub>2</sub>WO<sub>6</sub>. *J. Mol. Struct.* **2011**, *1005*, 53–58. [CrossRef]

15. Mączka, M.; Macalik, L.; Kojima, S. Temperature-dependent Raman scattering study of cation-deficient Aurivillius phases: Bi<sub>2</sub>WO<sub>6</sub> and Bi<sub>2</sub>W<sub>2</sub>O<sub>9</sub>. *J. Phys. Condens. Matter* **2011**, *23*, 405902. [[CrossRef](#)]
16. Li, Z.; Meng, X.; Zhang, Z. Hexagonal SnS nanoplates assembled onto hierarchical Bi<sub>2</sub>WO<sub>6</sub> with enhanced photocatalytic activity in detoxification and disinfection. *J. Colloid Interface Sci.* **2019**, *537*, 345–357. [[CrossRef](#)]
17. Houghton, P.; Howes, M.-J.; Lee, C.; Steventon, G. Uses and abuses of in vitro tests in ethnopharmacology: Visualizing an elephant. *J. Ethnopharmacol.* **2007**, *110*, 391–400. [[CrossRef](#)]
18. Paitan, Y. Current Trends in Antimicrobial Resistance of Escherichia coli. *Curr. Top. Microbiol. Immunol.* **2018**, *416*, 181–211. [[CrossRef](#)]
19. Alós, J.-I. Resistencia bacteriana a los antibióticos: Una crisis global. *Enferm. Infecc. Microbiol. Clin.* **2015**, *33*, 692–699. [[CrossRef](#)]
20. Mardare, C.C.; Tanasic, D.; Rathner, A.; Muller, N.; Hassel, A.W. Growth inhibition of Escherichia coli by zinc molybdate with different crystalline structures. *Phys. Status Solidi A* **2016**, *213*, 1471–1478. [[CrossRef](#)]
21. Cai, Q.; Hu, J. Decomposition of sulfamethoxazole and trimethoprim by continuous UVA/LED/TiO<sub>2</sub> photocatalysis: Decomposition pathways, residual antibacterial activity and toxicity. *J. Hazard. Mater.* **2017**, *323*, 527–536. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
22. Coutinho, H.D.; Costa, J.G.; Lima, E.O.; Falcão-Silva, V.S.; Siqueira-Júnior, J.P. Enhancement of the Antibiotic Activity against a Multiresistant Escherichia coli by Mentha arvensis L. and Chlorpromazine. *Chemotherapy* **2008**, *54*, 328–330. [[CrossRef](#)]

## CAPÍTULO II: SILVER TRIMOLYBDATE ( $\text{Ag}_2\text{Mo}_3\text{O}_{10}\cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ) NANORODS: SYNTHESIS, CHARACTERIZATION, AND PHOTO-INDUCED ANTIBACTERIAL ACTIVITY UNDER VISIBLE-LIGHT IRRADIATION

Autores:

Maria Karollyna do Nascimento Silva Leandro, João Victor Barbosa Moura, Ana Carolina Justino de Araújo, Priscilla Ramos Freitas, Cicera Laura Roque Paulo, Amanda Karine de Sousa, Janaina Esmeraldo Rocha, Lívia Maria Garcia Leandro, Rakel Olinda Macedo da Silva, Clenilton Costa dos Santos, Jaime Ribeiro Filho, Cleânio da Luz Lima, Abolghasem Siyadatpanah, Zahra seifi, Bonglee Kim, Henrique Douglas Melo Coutinho

Revista: *Bioinorganic Chemistry and Applications* , Quais A1, Fator de impacto: 7,778

Situação: Publicado

Link para acesso: <https://doi.org/10.1155/2022/2260083>




Resumo do artigo em português:

O presente estudo relata a síntese, caracterização e propriedades antibacterianas de nanobastões de trimolibdato de prata ( $\text{Ag}_2\text{Mo}_3\text{O}_{10}\cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ). A síntese foi realizada usando um método hidrotérmico convencional. A amostra foi caracterizada por microscopia eletrônica de varredura (MEV), difração de raios X (DRX), espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR), refletância difusa UV-Vis-NIR, análise termogravimétrica (TGA) e Calorimetria de Varredura Diferencial (DSC). A atividade antibacteriana direta foi avaliada pelo método de microdiluição para determinar a concentração inibitória mínima (CIM). Para avaliar a capacidade dos nanobastões  $\text{Ag}_2\text{Mo}_3\text{O}_{10}\cdot 2\text{H}_2\text{O}$  em modular a resistência antibacteriana, a CIM dos aminoglicosídeos foi estabelecida na presença de uma concentração subinibitória desta substância isoladamente e associada à exposição à luz LED. A caracterização da amostra indicou que a síntese de trimolibdato de prata gerou cristais nanométricos com morfologia bastonete, sem fases secundárias. O tratamento com nanobastões  $\text{Ag}_2\text{Mo}_3\text{O}_{10}\cdot 2\text{H}_2\text{O}$  sozinho ou combinado com luzes LED visíveis apresentou atividade antibacteriana clinicamente relevante contra bactérias Gram-negativas e Gram-positivas. Esta nanoestrutura apresentou uma ação moduladora de antibiótico variável, que não foi melhorada pela exposição à luz LED visível. No entanto, as luzes LED mostraram atividades promissoras de aprimoramento de antibióticos na ausência de nanobastões  $\text{Ag}_2\text{Mo}_3\text{O}_{10}\cdot 2\text{H}_2\text{O}$ . Em conclusão, os nanobastões dihidratados de trimolibdato de prata têm propriedades antibacterianas que podem ser fotocatalisadas pela exposição à luz visível. Apesar de mostrar o uso potencial para combater a resistência antibacteriana, a combinação simultânea de trimolibdato de prata, luzes LED visíveis e drogas antibacterianas deve ser cuidadosamente analisada para evitar efeitos antagonistas que possam prejudicar a eficácia da antibioticoterapia.

Palavras-chave: Trimolibdato de prata dihidratado. Nanobastões. Atividade antibacteriana. Luz LED. Resistência à antibióticos.

## Research Article

# Silver Trimolybdate ( $\text{Ag}_2\text{Mo}_3\text{O}_{10}\cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ) Nanorods: Synthesis, Characterization, and Photo-Induced Antibacterial Activity under Visible-Light Irradiation

**Maria Karollyna do Nascimento Silva Leandro,<sup>1,2</sup> João Victor Barbosa Moura,<sup>3</sup> Ana Carolina Justino de Araújo,<sup>1</sup> Priscilla Ramos Freitas,<sup>1</sup> Cicera Laura Roque Paulo,<sup>1</sup> Amanda Karine de Sousa,<sup>1,2</sup> Janaina Esmeraldo Rocha,<sup>1</sup> Lívia Maria Garcia Leandro,<sup>2</sup> Rakel Olinda Macedo da Silva,<sup>2</sup> Clenilton Costa dos Santos,<sup>3</sup> Jaime Ribeiro-Filho,<sup>4</sup> Cleânio da Luz Lima,<sup>5</sup> Abolghasem Siyadatpanah ,<sup>6</sup> Zahra Seifi,<sup>7</sup> Bonglee Kim ,<sup>8,9</sup> and Henrique Douglas Melo Coutinho <sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Laboratório de Microbiologia e Biologia Molecular-LMBM, Universidade Regional do Cariri—URCA, Crato, Ceará, Brazil

<sup>2</sup>Centro Universitário Dr. Leão Sampaio-Unileão Juazeiro do Norte, Juazeiro do Norte, Ceará, Brazil

<sup>3</sup>Departamento de Física, Centro de Ciências Exatas e Tecnologias, Universidade Federal do Maranhão—UFMA, São Luís, Maranhão, Brazil

<sup>4</sup>Instituto Gonçalo Moniz, Fundação Oswaldo Cruz, IGM-FIOCRUZ/BA, Salvador, Bahia, Brazil

<sup>5</sup>Departamento de Física, Centro de Ciências da Natureza, Universidade Federal do Piauí—UFPI, Teresina, Piauí, Brazil

<sup>6</sup>Ferdows School of Paramedical and Health, Birjand University of Medical Sciences, Birjand, Iran

<sup>7</sup>Laboratory Sciences Research Center, Golestan University of Medical Sciences, Gorgan 49189-36316, Iran

<sup>8</sup>Department of Pathology, College of Korean Medicine, Kyung Hee University, Seoul 02447, Republic of Korea

<sup>9</sup>Korean Medicine-Based Drug Repositioning Cancer Research Center, College of Korean Medicine, Kyung Hee University, Seoul 02447, Republic of Korea

Correspondence should be addressed to Abolghasem Siyadatpanah; [asiyadatpanah@yahoo.com](mailto:asiyadatpanah@yahoo.com), Bonglee Kim; [bongleekim@khu.ac.kr](mailto:bongleekim@khu.ac.kr), and Henrique Douglas Melo Coutinho; [hdmcoutinho@gmail.com](mailto:hdmcoutinho@gmail.com)

Received 1 December 2021; Accepted 11 June 2022; Published 9 July 2022

Academic Editor: S. Kumaran

Copyright © 2022 Maria Karollyna do Nascimento Silva Leandro et al. This is an open access article distributed under the Creative Commons Attribution License, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

The present study reports the synthesis, characterization, and antibacterial properties of silver trimolybdate ( $\text{Ag}_2\text{Mo}_3\text{O}_{10}\cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ) nanorods. The synthesis was performed using a conventional hydrothermal method. The sample was characterised by scanning electron microscopy (SEM), X-ray diffraction (XRD), Fourier transform infrared (FTIR) spectroscopy, UV-Vis-NIR diffuse reflectance, thermogravimetric analysis (TGA), and differential scanning calorimeter (DSC). The direct antibacterial activity was evaluated using the microdilution method to determine the minimum inhibitory concentration (MIC). To assess the ability of  $\text{Ag}_2\text{Mo}_3\text{O}_{10}\cdot 2\text{H}_2\text{O}$  nanorods to modulate antibacterial resistance, the MIC of aminoglycosides was established in the presence of a subinhibitory concentration of this substance alone and associated with LED light exposure. The characterization of the sample indicated that the synthesis of silver trimolybdate generated nanometric crystals with rod-like morphology, without secondary phases. The treatment with  $\text{Ag}_2\text{Mo}_3\text{O}_{10}\cdot 2\text{H}_2\text{O}$  nanorods alone or combined with visible LED lights exhibited clinically relevant antibacterial activity against both Gram-negative and Gram-positive bacteria. This nanostructure presented a variable antibiotic-modulating action, which was not improved by visible LED light exposure. Nevertheless, LED lights showed promising antibiotic-enhancing activities in the absence of  $\text{Ag}_2\text{Mo}_3\text{O}_{10}\cdot 2\text{H}_2\text{O}$  nanorods. In conclusion, silver trimolybdate dihydrate nanorods have antibacterial properties that can be photocatalysed by visible-light exposure. While showing the potential use to combat antibacterial resistance, the simultaneous combination of silver trimolybdate, visible LED lights, and antibacterial drugs should be carefully analysed to avoid antagonist effects that could impair the effectiveness of antibiotic therapy.



## 1. Introduction

The molybdates, a group of inorganic substances belonging to the family of transition-metal oxides, are formed by combining the  $[\text{MoO}_4]^{2-}$  ion with different cations. Studies have demonstrated that these substances present unique physical properties such as ferroelasticity and ferroelectricity, making them suitable for synthesising substances with various sizes, morphologies, and applications [1].

Accordingly, metallic molybdates with variable chemical and structural characteristics have been synthesised and assessed for biological activities in different fields of investigation [2, 3]. In this context, silver molybdates such as  $\text{Ag}_2\text{MoO}_4$ ,  $\text{Ag}_2\text{Mo}_2\text{O}_7$ , and  $\text{Ag}_2\text{Mo}_3\text{O}_{10}$  can be obtained as crystalline structures by combining molybdenum anions with silver cations. Importantly, consistent evidence has demonstrated that these compounds present remarkable antibacterial properties, which indicate that they have the potential to be used in targeted drug development to overcome bacterial resistance [4–6].

These nanoscale material systems have been highlighted in several scientific studies as a possible alternative to combat resistant microorganisms, since they have a very small size, but a large surface area, and are able to improve the delivery of drugs in specific tissues. These characteristics lead to increased efficacy and decreased adverse effects of antimicrobials by controlling the dosage and time of action [7].

The discovery of novel compounds with bactericidal and bacteriostatic properties has gained increasing attention as the rise of bacterial resistance to conventional antibiotics has impaired the treatment of both community and hospital infections [8]. Also, researchers have developed new strategies to potentiate the activity of antibiotics against resistant bacteria, including the association of conventional drugs with new chemical entities and light-emitting diode (LED) lights [9, 10]. In this context, previous research has demonstrated that silver molybdates present a photocatalytic activity [11]. Accordingly, it was reported that  $\beta\text{-Ag}_2\text{MoO}_4$  exhibited potent photocatalytic activity concerning the degradation of ciprofloxacin, which might be related to the absorption of visible UV light [12].

The WHO (World Health Organization) encourages the governments of various countries to support studies for the development of effective and low-cost antibiotics, since the pharmaceutical industry has encountered scientific and economic difficulties during the development of these drugs [13]. Therefore, considering the evidence that silver molybdates could modulate bacterial resistance [14–16], this study aims to investigate the antibacterial, antibiotic-enhancing, and photocatalytic activities of silver trimolybdate dihydrate ( $\text{Ag}_2\text{Mo}_3\text{O}_{10}\cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ) nanorods against resistant strains of *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* in association with visible LED lights.

## 2. Materials and Methods

**2.1. Synthesis and Characterization of  $\text{Ag}_2\text{Mo}_3\text{O}_{10}\cdot 2\text{H}_2\text{O}$  Nanorods.** Silver trimolybdate dihydrate ( $\text{Ag}_2\text{Mo}_3\text{O}_{10}\cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ) nanorods were synthesised using a simple

hydrothermal method, as described previously [17]. In brief, 0.1062 g of silver nitrate ( $\text{AgNO}_3$ ) and 0.2194 g of ammonium heptamolybdate tetrahydrate ( $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24}\cdot 4\text{H}_2\text{O}$ ) were dissolved in 20 mL of deionised water. These solutions were then mixed, and the pH was adjusted to 2 with  $\text{HNO}_3$ . The resulting solution was transferred to a 50 mL Teflon-lined stainless autoclave and maintained at  $140^\circ\text{C}$  for 6 h. The yellowish precipitates were repeatedly washed with deionised water using a centrifuge at 3600 rpm for 15 minutes and dried in an air oven at  $70^\circ\text{C}$  for 12 h.

The morphological aspects of the samples were analysed by scanning electron microscopy (SEM). The SEM images were obtained using a Tescan Vega 3 SBU scanning electron microscope. The structural characterization was performed by X-ray diffraction (XRD) using a Mini-Flex Rigaku diffractometer equipped with  $\text{Cu K}\alpha$  ( $\lambda = 1.5418 \text{ \AA}$ ) radiation in the  $2\theta$  range of  $10^\circ$ – $80^\circ$ , with a step size of  $0.02^\circ$  and a count time of 2 s/step. Fourier transform infrared (FTIR) spectra were taken from 4000 to  $450 \text{ cm}^{-1}$  using KBr pellets as a reference using a Perkin Elmer Spectrum Two spectrophotometer in transmittance mode. Thermogravimetric analysis (TGA) and differential scanning calorimetry (DSC) data were obtained using a simultaneous thermal analysis equipment, STA 449 F3 Jupiter by Netzsch. A heating rate of  $10^\circ\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$  was selected to measure the sample under a stream of nitrogen ( $100 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ ), between 25 and  $600^\circ\text{C}$ , using  $\text{Al}_2\text{O}_3$  open capsules. The UV–Vis–NIR diffuse reflectance measurements were performed using a Shimadzu UV-3600 spectrophotometer equipped with an integrating sphere accessory (model ISR-3100). Diffuse reflectance analysis was used to estimate the band gap of the compound.

**2.2. Antibacterial Activity Analysis.** The standard (*E. coli* ATCC 25922 and *S. aureus* ATCC 25923) and multidrug-resistant (*S. aureus* 10 and *E. coli* 06) bacterial strains used in this study were provided by the Laboratory of Microbiology and Molecular Biology (LMBM) from the Regional University of Cariri (URCA). The antibiotics amikacin and gentamicin, as well as all reagents used in the tests, were purchased from Sigma Chemical Co. (St. Louis, USA). All drugs were diluted in distilled water to an initial concentration of  $1024 \mu\text{g}/\text{mL}$ .

The MIC of each drug was determined using the broth microdilution method. All strains were cultured in a heart infusion agar (HIA) solid medium for 24 h at  $37^\circ\text{C}$ . Samples were transferred from the solid medium to test tubes containing sterile saline, and turbidity was assessed using a value of 0.5 on the McFarland scale. Each inoculum was prepared with 10% BHI (brain heart infusion) to obtain a dilution of 1 : 9. Next,  $100 \mu\text{L}$  of inoculum in the medium was transferred to wells on a 96-well plate with  $100 \mu\text{L}$  of the drugs at concentrations ranging from 512 to  $8 \mu\text{g}/\text{mL}$ , followed by incubation at  $37^\circ\text{C}$  for 24 h. Wells containing only the inoculum in BHI were used as a growth control [18–20]. After incubation,  $20 \mu\text{L}$  of 0.01% sodium resazurin solution was added to each well, followed by incubation for 1 h at room temperature. A change in the color of the solution from blue to red indicated bacterial growth. The MIC was

defined as the lowest concentration capable of inhibiting bacterial growth [21]. All experiments were carried out in triplicate.

**2.3. Analysis of Antibiotic Resistance Modulation by  $\text{Ag}_2\text{Mo}_3\text{O}_{10}\cdot 2\text{H}_2\text{O}$  Nanorods.** The antibiotic-enhancing activity was evaluated using the methodology described by Coutinho and collaborators [19]. To this end, the bacterial inocula were prepared in BHI as described above, and  $\text{Ag}_2\text{Mo}_3\text{O}_{10}\cdot 2\text{H}_2\text{O}$  nanorods were added at a subinhibitory concentration (equivalent to its MIC:  $8\ \mu\text{g}/\text{mL}$ ). All wells on a 96-well plate were filled with  $100\ \mu\text{L}$  of this solution, followed by adding  $100\ \mu\text{L}$  of each antibiotic at concentrations ranging from  $512$  to  $0.5\ \mu\text{g}/\text{mL}$ . The MIC of each drug was determined, and the occurrence of synergism was interpreted as an enhanced antibiotic activity. Experimental controls and readings were performed as previously described.

**2.4. Evaluation of Antibiotic-Modulating Activity in Association with LED Light Exposure.** A light emitting diodes (LEDs) device (NEW Estética®) was used in the experimental protocols. This device allows illuminating the samples with red ( $620\ \text{nm}$ ), yellow ( $590\ \text{nm}$ ), and blue ( $415\ \text{nm}$ ) colored light and also a combination of these colors; the wavelength is predetermined by the apparatus.

To evaluate the effect of LED light exposure on bacterial growth on antibacterial activity modulation, cultures and treatments were carried out as previously described. The plates were exposed to either blue, red, or yellow light for  $20\ \text{min}$  and then incubated at  $37^\circ\text{C}$  for  $24\ \text{h}$ . Plates without LED light exposure were used as experimental controls. The readings were performed as described before.

**2.5. Statistical Analysis.** Data are expressed as mean  $\pm$  standard deviation, and differences were evaluated through analysis of variance (ANOVA) followed by Bonferroni's post hoc test using the GraphPad Prism 6.0 software. The differences with  $p < 0.05$  were considered significant.

### 3. Results and Discussion

Morphology of the as-prepared  $\text{Ag}_2\text{Mo}_3\text{O}_{10}\cdot 2\text{H}_2\text{O}$  nanorods was evaluated by the SEM technique. Figures 1(a) and 1(b) show the SEM images of the sample in low and high magnifications, respectively. Figures 1(a) and 1(b) show that the material formed has unique straight rod-like structures without links between rods. In addition, the as-prepared material presented high morphology homogeneity. Amorphous materials or aggregates were not detected, confirming that the synthesis procedure using the hydrothermal method resulted in a sample of excellent purity and quality. The diameter size distribution histogram (Figure 1(c)) of the nanorods shows that the average diameter size obtained is  $136\ \text{nm}$  (range of  $54\text{--}350\ \text{nm}$ ).

The XRD pattern of the samples obtained in the present study is shown in Figure 2. The crystalline nature of the  $\text{Ag}_2\text{Mo}_3\text{O}_{10}\cdot 2\text{H}_2\text{O}$  nanorods was confirmed by XRD analysis. The respective positions of diffraction peaks in the XRD pattern found are in good agreement with the results reported by the Inorganic Crystal Structure Database (ICSD) N° 162219, indicating the formation of  $\text{Ag}_2\text{Mo}_3\text{O}_{10}\cdot 2\text{H}_2\text{O}$  crystals with orthorhombic structure and space group  $D_{2h}^{16}$  ( $Pnma$ ), without secondary phases. The sharp and well-defined diffraction peaks indicated a high degree of structural order and crystallinity at the long-range, proving the effectiveness of the synthesis method employed in this work.

The FTIR spectrum of  $\text{Ag}_2\text{Mo}_3\text{O}_{10}\cdot 2\text{H}_2\text{O}$  nanorods at atmospheric conditions in the spectral range between  $4500$  and  $450\ \text{cm}^{-1}$  is shown in Figure 3. The vibrational bands between  $500$  and  $1000\ \text{cm}^{-1}$  were assigned to the stretching modes of  $\text{Ag}_2\text{Mo}_3\text{O}_{10}\cdot 2\text{H}_2\text{O}$ . The peak around  $1625\ \text{cm}^{-1}$  and the broadband between  $3000$  and  $3500\ \text{cm}^{-1}$  were attributed, respectively, to the bending and stretching vibrations of the  $\text{H}_2\text{O}$  molecules, both connected to  $\text{Ag}_2\text{Mo}_3\text{O}_{10}\cdot 2\text{H}_2\text{O}$  (crystallised water) and adsorbed on the surface of the nanorods. The relative positions of all infrared modes of silver trimolybdate dihydrate nanorods are consistent with the literature data, confirming the results of the XRD analysis [17].

Figure 4 shows the mass changes and heat flow rate of the thermal modifications of  $\text{Ag}_2\text{Mo}_3\text{O}_{10}\cdot 2\text{H}_2\text{O}$  nanorods determined by thermogravimetric analysis (TGA) and differential scanning calorimetry (DSC) techniques. Following the characterization of the  $\text{Ag}_2\text{Mo}_3\text{O}_{10}\cdot 2\text{H}_2\text{O}$  nanorods, the DSC analysis shows four events (Figure 4). The first endothermic event occurs at temperatures below  $100^\circ\text{C}$  and corresponds to the loss of adsorbed water on the surface of the nanorods. The second endothermic event occurs at approximately  $250^\circ\text{C}$  and corresponds to the loss of crystallised water in the sample. A third event is observed at around  $335^\circ\text{C}$  and indicates a structural phase transition of  $\text{Ag}_2\text{Mo}_3\text{O}_{10}\cdot 2\text{H}_2\text{O}$ . The last endothermic event occurs at about  $530^\circ\text{C}$ , corresponding to the decomposition of the sample. Two distinct mass loss steps were detected in the TGA curve. The first thermal event, around  $65\text{--}120^\circ\text{C}$ , with a mass loss of  $0.5\%$ , is attributed to the loss of adsorbed water on the surface of the nanorods. The second thermal event, which occurs between  $230$  and  $70^\circ\text{C}$ , with a mass loss of  $0.5\%$ , corresponds to the loss of crystallised water in the  $\text{Ag}_2\text{Mo}_3\text{O}_{10}\cdot 2\text{H}_2\text{O}$  nanorods. The DSC and TGA results are in excellent agreement and indicate that the sample has a wide range of thermal stability and, as such, can be used in thermal processes that involve the production of antibacterial composites.

The energy gap ( $E_{\text{gap}}$ ) of  $\text{Ag}_2\text{Mo}_3\text{O}_{10}\cdot 2\text{H}_2\text{O}$  nanorods can be estimated by extrapolating the linear part of Kubelka-Munk function, which is the ratio between the absorption and scattering factor from the optical diffuse reflectance spectrum [22]. Based on UV-visible diffuse reflectance measurements, a plot of  $(F(R)\text{h}\nu)^{1/2}$  versus photon energy ( $\text{h}\nu$ ) is shown in Figure 5, where it can be seen that  $\text{Ag}_2\text{Mo}_3\text{O}_{10}\cdot 2\text{H}_2\text{O}$  nanorods present a band gap energy ( $E_{\text{gap}}$ ) of about  $2.80\ \text{eV}$ . The  $E_{\text{gap}}$  obtained is similar to that

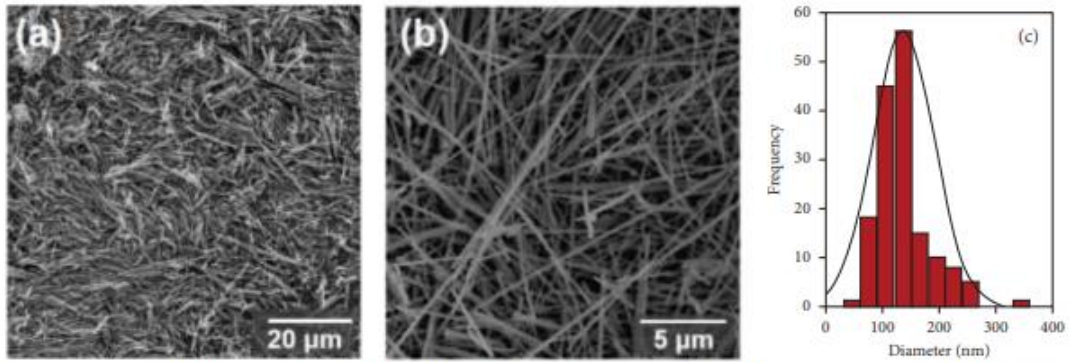


FIGURE 1: (a) Low and (b) high-magnification SEM images of  $\text{Ag}_2\text{Mo}_3\text{O}_{10}\cdot 2\text{H}_2\text{O}$  nanorods prepared by the hydrothermal method (magnifications: (a) 2 kx and (b) 10 kx). (c) The diameter size distribution of the nanorods.

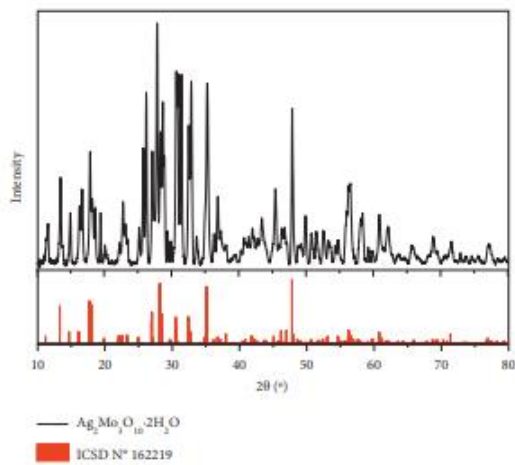


FIGURE 2: X-ray diffraction pattern of the  $\text{Ag}_2\text{Mo}_3\text{O}_{10}\cdot 2\text{H}_2\text{O}$  nanorods obtained by the hydrothermal method.

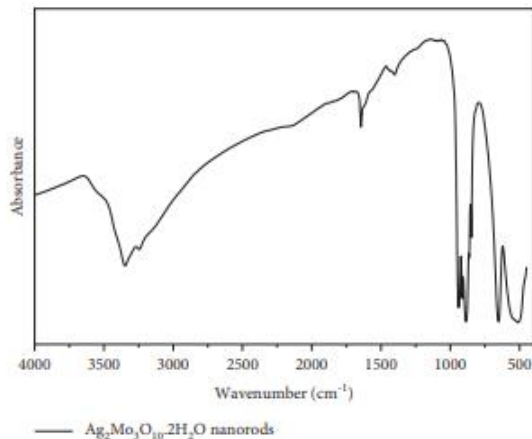


FIGURE 3: FTIR spectrum of  $\text{Ag}_2\text{Mo}_3\text{O}_{10}\cdot 2\text{H}_2\text{O}$  nanorods.

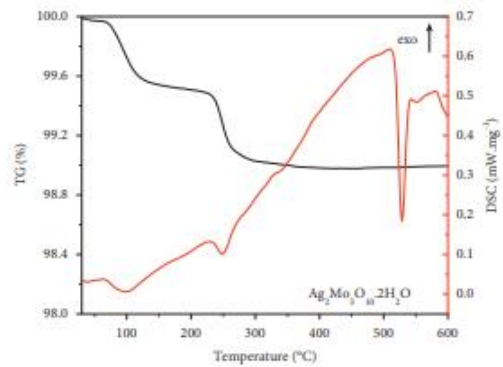


FIGURE 4: Thermogravimetric (black) and differential scanning calorimetry (red) curves of  $\text{Ag}_2\text{Mo}_3\text{O}_{10}\cdot 2\text{H}_2\text{O}$  nanorods.

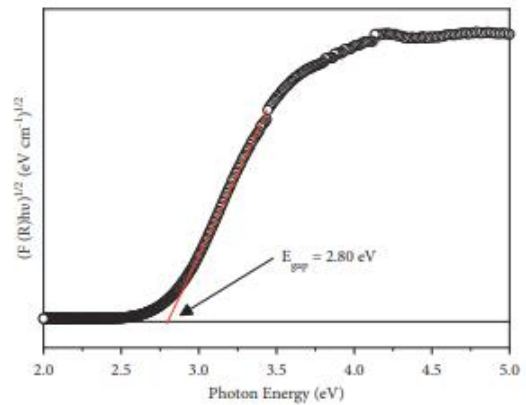


FIGURE 5: Diffuse reflectance ultraviolet-visible spectrum of  $\text{Ag}_2\text{Mo}_3\text{O}_{10}\cdot 2\text{H}_2\text{O}$  nanorods.

reported in the literature [17] and is located in the visible spectrum. The ability to absorb visible light makes this material promising for research with photocatalytic activity.

TABLE 1: Minimum inhibitory concentration (MIC) of  $\text{Ag}_2\text{Mo}_3\text{O}_{10}\cdot 2\text{H}_2\text{O}$ .

Treatment	E.C ATCC 25922	S.A ATCC 25923	E.C 06	S.A 10
$\text{Ag}_2\text{Mo}_3\text{O}_{10}\cdot 2\text{H}_2\text{O}$	512	426.66	512	512
$\text{Ag}_2\text{Mo}_3\text{O}_{10}\cdot 2\text{H}_2\text{O}$ + blue light	853,33	682.66	$\geq 1024$	$\geq 1024$
$\text{Ag}_2\text{Mo}_3\text{O}_{10}\cdot 2\text{H}_2\text{O}$ + yellow light	$\geq 1024$	128	$\geq 1024$	512
$\text{Ag}_2\text{Mo}_3\text{O}_{10}\cdot 2\text{H}_2\text{O}$ + red light	$\geq 1024$	512	$\geq 1024$	$\geq 1024$

S.A., *Staphylococcus aureus*; E.C., *Escherichia coli*. The MIC values are expressed in  $\mu\text{g}/\text{mL}$ .

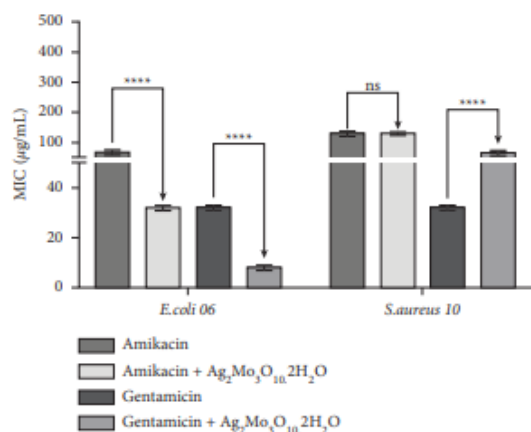


FIGURE 6: Minimum inhibitory concentration (MIC) of amikacin and gentamicin alone or in the presence of  $\text{Ag}_2\text{Mo}_3\text{O}_{10}\cdot 2\text{H}_2\text{O}$ , against multidrug-resistant strains of *S. aureus* and *E. coli*. \*\*\*\*  $P < 0.0001$  indicates significant differences between groups. Statistical significance was determined by one-way ANOVA and Bonferroni's post hoc test.

The antibacterial activity analysis results, given in Table 1, demonstrated that silver trimolybdate alone exerted a moderate action against standard and multidrug-resistant strains of *S. aureus* and *E. coli*, with no significant variation among these strains. Exposure to different LED lights resulted in variable changes in the MIC of this compound. While exposure to yellow light resulted in significantly increased antibacterial activity of silver trimolybdate against the standard *S. aureus* strain, it does not affect the activity of this substance against the corresponding resistant strain. In addition, all other combinations of LED lights and  $\text{Ag}_2\text{Mo}_3\text{O}_{10}\cdot 2\text{H}_2\text{O}$  nanorods showed antagonistic effects, indicating decreased antibacterial activity. Therefore, only yellow light was found to present clinically valuable results concerning the modulation of silver trimolybdate antibacterial activity. It is worth mentioning that this is the first study reporting the antibacterial activity of  $\text{Ag}_2\text{Mo}_3\text{O}_{10}\cdot 2\text{H}_2\text{O}$  nanostructures.

The antibacterial activity demonstrated by silver trimolybdate dihydrate is corroborated by previous studies demonstrating a significant action of  $\beta\text{-Ag}_2\text{MoO}_4$  crystals against *E. coli* [16]. In addition, different compounds obtained as silver molybdate crystals have demonstrated significant activities against both Gram-positive and Gram-negative bacteria [15], as well as against fungal strains [23]. However, the mechanisms of action underlying the antibacterial effects of crystals containing silver atoms remain to

be fully characterised. Nevertheless, it has been suggested that the chemical properties of these compounds favor their interaction with the negatively charged peptidoglycan wall, which could result in increased cell permeability, followed by cell disruption and bacterial death [24]. In addition, since bacterial cells present elevated concentrations of sulfur and phosphorus, the binding of these compounds to organelles containing these elements could lead to impaired cellular respiration and DNA denaturation, resulting in inhibition of crucial processes for bacterial growth [25]. Accordingly, Ali and collaborators [26] reported that the antibacterial effect of Ag-doped  $\text{TiO}_2$  nanoparticles was associated with the production of hydroxyl radicals, which mediated the formation of pores in the bacterial cell membrane.

These results obtained are promising considering that the pharmaceutical area is one of the most involved with the study and development of nanoparticles, since they can present different biological actions in the human body, either by direct contact or by incorporation with other products, being the main routes of entry into the body: the skin (topical use), the lung (inhalation), and the gastrointestinal tract (ingestion) [27].

Concerning the events observed in the present study, the generation of potent oxidative agents, including the superoxide ion ( $\text{O}_2^-$ ),  $\text{OOH}^\bullet$  radicals, and hydrogen ions ( $\text{H}^\bullet$ ), could occur as a consequence of electron-hole transfer in the bulk-surface interface [16]. Therefore, oxidation of macromolecules such as lipids, proteins, and nucleic acids could lead to significant cytotoxicity [28]. Since  $\text{Ag}_2\text{Mo}_3\text{O}_{10}\cdot 2\text{H}_2\text{O}$  nanorods present a bandgap in the visible spectrum region (Figure 5), they can absorb visible light, which in turn induces the formation of free radicals generated by the transfer of electron-hole pairs on the surface of the nanocrystals. Therefore, considering evidence that this substance presents photocatalytic properties [17], we analysed its antibiotic-enhancing properties associated with exposure to visible LED light.

An analysis of the photocatalytic effect of LED lights in association with  $\text{Ag}_2\text{Mo}_3\text{O}_{10}\cdot 2\text{H}_2\text{O}$  nanorods demonstrated that exposure to blue and red LED lights resulted in no clinically useful modulation of the antibacterial activity. In addition, some combinations resulted in antagonistic effects that could be harmful in antimicrobial therapy. Nevertheless, exposure to yellow light resulted in significantly increased antibacterial activity of silver trimolybdate nanorods against the standard *S. aureus* strain. This finding corroborated previous research showing that exposure to visible light increased the activity of graphitic carbon nitride incorporated into silver nanoparticles against *S. aureus* [29].

Following the antibacterial activity analysis, this study evaluated the ability of  $\text{Ag}_2\text{Mo}_3\text{O}_{10}\cdot 2\text{H}_2\text{O}$  nanorods to

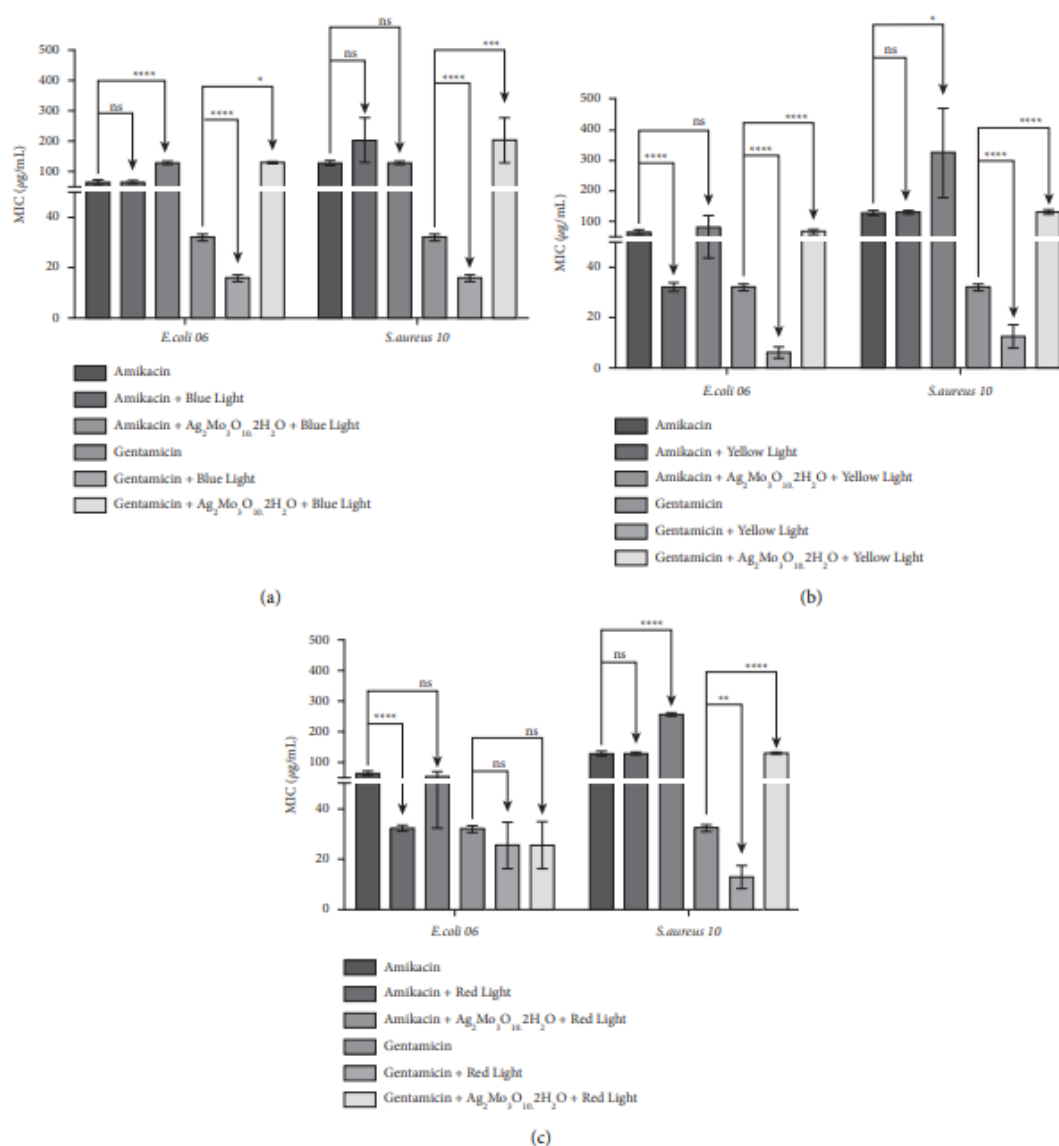


FIGURE 7: Minimum inhibitory concentration (MIC) of amikacin and gentamicin alone or in the presence of  $\text{Ag}_2\text{Mo}_3\text{O}_{10}\cdot 2\text{H}_2\text{O}$  and blue (a), yellow (b), or red (c) LED lights, against multidrug-resistant strains of *S. aureus* and *E. coli*. \*\*\*\* $P < 0.0001$  indicates significant differences between groups. Statistical significance was determined by one-way ANOVA and Bonferroni's post hoc test.

reverse bacterial resistance against amikacin and gentamicin. As shown in Figure 6, the compound significantly decreased the MIC of both antibiotics against the Gram-negative strain. However, in the tests with *S. aureus*, the association with a subinhibitory concentration of silver trimolybdate nanorods caused no change in the MIC of amikacin, besides increasing the MIC of gentamicin. Therefore, these findings suggest that  $\text{Ag}_2\text{Mo}_3\text{O}_{10}\cdot 2\text{H}_2\text{O}$  nanorods reverted, at least partially, the degree of observed resistance to aminoglycosides in *E. coli*, which was not found in *S. aureus*.

The synergism observed in the association between the silver trimolybdate nanorods and the aminoglycoside antibiotics represent a promising finding in targeted research for antibacterial drug development. Evidence has pointed to a massive increase in antibacterial resistance in *E. coli* strains [19]. In this context, chemical compounds containing silver have attracted considerable attention in antimicrobial therapy, as they exert a direct antibacterial activity associated with minimal induction of antibacterial resistance [30]. According to Smekalova and collaborators [31], the interaction between silver atoms and the peptidoglycan layer is

avored in Gram-negative strains due to its thinner and less rigid structure than in Gram-negative bacteria. Thus, according to this hypothesis, the interaction with the peptidoglycan would facilitate the penetration of the aminoglycosides, justifying their enhanced antibacterial activity against *E. coli*.

As we demonstrated that LED light exposure differentially modulated the antibacterial activity of silver trimolybdate nanorods, which in turn presented antibiotic-modulating properties in association with aminoglycosides, this study investigated the antibiotic-modulating effects of LED light exposure associated or not with  $\text{Ag}_2\text{Mo}_3\text{O}_{10}\cdot 2\text{H}_2\text{O}$  nanorods (Figures 7(a)–7(c)). Exposure to the blue LED light (A) potentiated the effects of gentamicin against both strains, which was not found for amikacin. However, in the presence of a subinhibitory concentration of  $\text{Ag}_2\text{Mo}_3\text{O}_{10}\cdot 2\text{H}_2\text{O}$  nanorods, no improvement in antibiotic activity was observed, and most associations resulted in antagonistic effects. On the other hand, the yellow LED light (B) potentiated the action of both antibiotics against *E. coli*, as well as potentiated the action of gentamicin in front of *S. aureus*. However, in the presence of  $\text{Ag}_2\text{Mo}_3\text{O}_{10}\cdot 2\text{H}_2\text{O}$ , both drugs presented reduced antibacterial activities against resistant strains of *E. coli* and *S. aureus*. Finally, exposure to the red LED light (C) increased the activity of amikacin and gentamicin against *E. coli* and *S. aureus*, respectively. However, when simultaneously combined with  $\text{Ag}_2\text{Mo}_3\text{O}_{10}\cdot 2\text{H}_2\text{O}$  nanorods and irradiated with the red light, both drugs had their MIC against *S. aureus* increased.

Studies have indicated that the antibacterial and antibiotic-modulating activities of LED lights are due to photodynamic inactivation of microorganisms that results from the generation of reactive oxygen species as a consequence of the interaction between the emitted light and the photosensitising agent [32]. Therefore, the association of aminoglycosides with LED lights may represent a promising strategy for treating skin infections caused by resistant bacteria. Notably, the development of target research aimed at optimising the applications of microorganism photo-inactivation can significantly contribute to advances in combined therapy for bacterial diseases [33].

The present study results show that different wavelengths in the visible spectrum can potentiate the action of aminoglycosides against both Gram-positive and Gram-negative strains. However, the simultaneous association with  $\text{Ag}_2\text{Mo}_3\text{O}_{10}\cdot 2\text{H}_2\text{O}$  nanorods seems to interfere with the biochemical mechanisms involved in this phenomenon, impairing antibacterial action. In addition, it has been demonstrated that, due to the photocatalyst effect,  $\text{Ag}_2\text{Mo}_3\text{O}_{10}\cdot 2\text{H}_2\text{O}$  nanorods can induce the degradation of organic compounds such as strains, as well as the antibiotics used. It is well known in the literature that the  $\text{Ag}_2\text{Mo}_3\text{O}_{10}\cdot 2\text{H}_2\text{O}$  nanostructured is an efficient visible-light-driven plasmonic photocatalyst for the degradation of glyphosate and rhodamine B dye, which shows high efficiency in the degradation of organic compounds [17, 34].

Liu et al. [35] synthesised  $\text{Ag}_2\text{Mo}_3\text{O}_{10}\cdot 1.8\text{H}_2\text{O}$  with rod-like structures by chemical precipitation, and after this obtaining,  $\text{AgI}/\text{Ag}_2\text{Mo}_3\text{O}_{10}\cdot 1.8\text{H}_2\text{O}$  was subsequently formed.

In tests to evaluate the photocatalytic activity of this material, efficient results in dye degradation were also obtained.

Thus, significant degradation of aminoglycosides could justify the frequent antagonistic effects resulting from the simultaneous association with  $\text{Ag}_2\text{Mo}_3\text{O}_{10}\cdot 2\text{H}_2\text{O}$  nanorods and visible LED lights.

Other studies have already reported these photocatalytic effects of antibiotics, such as the degradation of norfloxacin hydrochloride [36], gentamicin [37], and amikacin [38], so it becomes increasingly important, studies of synthesis and application of nanostructured materials for environmental recovery, since the inefficiency of effluent treatment methods or even the absence of these in municipalities, associated with the exacerbated consumption of antibiotics, contribute to the ubiquity of these drugs in various environments, especially aquatic, increasing the proliferation of multidrug-resistant bacteria and toxicity, which makes it essential, the development of new efficient tools to degrade these compounds [39].

#### 4. Conclusion

The synthesis of  $\text{Ag}_2\text{Mo}_3\text{O}_{10}\cdot 2\text{H}_2\text{O}$  nanorods using a simple hydrothermal method generated nanometric crystals with rod-like morphology. The treatment with silver trimolybdate nanorods alone or combined with visible LED lights exhibited clinically relevant antibacterial activity against Gram-negative and Gram-positive bacteria. This nanomaterial presented a variable antibiotic-modulating action, which was not improved by LED light exposure. Nevertheless, visible LED lights showed promising antibiotic-enhancing activities in the absence of  $\text{Ag}_2\text{Mo}_3\text{O}_{10}\cdot 2\text{H}_2\text{O}$  nanorods.

In conclusion, silver trimolybdate nanorods have antibacterial properties that can be photocatalysed by visible-light exposure. While showing the potential to be used to combat antibacterial resistance, the simultaneous combination of  $\text{Ag}_2\text{Mo}_3\text{O}_{10}\cdot 2\text{H}_2\text{O}$  nanorods, LED lights, and antibacterial drugs should be carefully analysed to avoid antagonist effects that could impair the effectiveness of antibiotic therapy.

#### Data Availability

The data used to support the findings of this study are available from the corresponding authors upon request.

#### Conflicts of Interest

The authors declare that there are no conflicts of interest.

#### Acknowledgments

The authors are thankful to the URCA, UFCA, and UNILEÃO for the support with the development of this study. The authors thank Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico-CNPq for the financial support (312114/2021-4). The authors also acknowledge Dr. P.T.C. Freire for his critical reading of the manuscript. This research was also supported by

Basic Science Research Program through the National Research Foundation of Korea (NRF) funded by the Ministry of Education (NRF2020R11A2066868) and the National Research Foundation of Korea (NRF) grant funded by the Korean Government (MSIT) (2020R1A5A2019413).

## References

- [1] M. Maczka, A. Souza Filho, W. Paraguassu, P. Freire, J. Mendes Filho, and J. Hanuza, "Pressure-induced structural phase transitions and amorphization in selected molybdates and tungstates," *Progress in Materials Science*, vol. 57, no. 7, pp. 1335–1381, 2012.
- [2] B. R. Yeo, G. J. Pudge, K. G. Bugler et al., "The surface of iron molybdate catalysts used for the selective oxidation of methanol," *Surface Science*, vol. 648, pp. 163–169, 2016.
- [3] J. Moura, G. Pinheiro, J. Silveira, P. Freire, B. Viana, and C. Luz-Lima, "NaCe (MoO<sub>4</sub>)<sub>2</sub> microcrystals: hydrothermal synthesis, characterization and photocatalytic performance," *Journal of Physics and Chemistry of Solids*, vol. 111, pp. 258–265, 2017.
- [4] H. Tang, Y. Fu, S. Chang, S. Xie, and G. Tang, "Construction of Ag<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>/Ag<sub>2</sub>MoO<sub>4</sub> Z-scheme heterogeneous photocatalyst for the remediation of organic pollutants," *Chinese Journal of Catalysis*, vol. 38, no. 2, pp. 337–347, 2017.
- [5] M. Feng, M. Zhang, J.-M. Song, X.-G. Li, and S.-H. Yu, "Ultralong silver trimolybdate nanowires: synthesis, phase transformation, stability, and their photocatalytic, optical, and electrical properties," *ACS Nano*, vol. 5, no. 8, pp. 6726–6735, 2011.
- [6] H. Tang, A. Lu, L. Li, W. Zhou, Z. Xie, and L. Zhang, "Highly antibacterial materials constructed from silver molybdate nanoparticles immobilized in chitin matrix," *Chemical Engineering Journal*, vol. 234, pp. 124–131, 2013.
- [7] D. Lombardo, M. A. Kiselev, and M. T. Caccamo, "Smart nanoparticles for drug delivery application: development of versatile nanocarrier platforms in biotechnology and nanomedicine," *Journal of Nanomaterials*, vol. 2019, Article ID 3702518, 26 pages, 2019.
- [8] A. C. Silva, J. S. Diodato, J. W. Castro et al., "Effect of the essential oils from piper sp. and blue led lights in the enhancement of the antibiotic activity of drugs against mdr bacterial strains," *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, vol. 199, Article ID 111604, 2019.
- [9] N. L. Pereira, P. E. Aquino, J. G. Júnior et al., "Antibacterial activity and antibiotic modulating potential of the essential oil obtained from *Eugenia jambolana* in association with led lights," *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, vol. 174, pp. 144–149, 2017.
- [10] E. F. Ferreira Matias, "Avaliação da atividade antibacteriana e moduladora do óleo essencial de *Cordia verbenacea* DC. associado às luzes de LED," *Revista Interfaces: Saúde, Humanas e Tecnologia*, vol. 5, pp. 07–14, 2017.
- [11] J. V. Kumar, R. Karthik, S.-M. Chen, V. Muthuraj, and C. Karuppiah, "Fabrication of potato-like silver molybdate microstructures for photocatalytic degradation of chronic toxicity ciprofloxacin and highly selective electrochemical detection of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>," *Scientific Reports*, vol. 6, no. 1, Article ID 34149, 2016.
- [12] Y.-Y. Bai, Y. Lu, and J.-K. Liu, "An efficient photocatalyst for degradation of various organic dyes: Ag@Ag<sub>2</sub>MoO<sub>4</sub>-AgBr composite," *Journal of Hazardous Materials*, vol. 307, pp. 26–35, 2016.
- [13] M. O. Da Silva and S. Aquino, "Resistência aos antimicrobianos: uma revisão dos desafios na busca por novas alternativas de tratamento," *Revista de Epidemiologia e Controle de Infecção*, vol. 8, no. 4, pp. 472–482, 2018.
- [14] J. Moura, T. Freitas, R. Cruz et al., "Antibacterial properties and modulation analysis of antibiotic activity of NaCe (MoO<sub>4</sub>)<sub>2</sub> microcrystals," *Microbial Pathogenesis*, vol. 126, pp. 258–262, 2019.
- [15] J. Moura, T. Freitas, R. Cruz et al., "β-Ag<sub>2</sub>MoO<sub>4</sub> microcrystals: characterization, antibacterial properties and modulation analysis of antibiotic activity," *Biomedicine & Pharmacotherapy*, vol. 86, pp. 242–247, 2017.
- [16] C. A. Oliveira, D. P. Volanti, A. E. Nogueira, C. A. Zamperini, C. E. Vergani, and E. Longo, "Well-designed β-Ag<sub>2</sub>MoO<sub>4</sub> crystals with photocatalytic and antibacterial activity," *Materials & Design*, vol. 115, pp. 73–81, 2017.
- [17] X. Chen, F. Liu, X. Yan et al., "Ag<sub>2</sub>Mo<sub>3</sub>O<sub>10</sub> nanorods decorated with Ag<sub>2</sub>S nanoparticles: visible-light photocatalytic activity, photostability, and charge transfer," *Chemistry—A European Journal*, vol. 21, no. 51, pp. 18711–18716, 2015.
- [18] NCCLS, *Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria that Grow Aerobically*, National Committee for Clinical Laboratory Standards, Albany, NY, USA, 2003.
- [19] H. D. Coutinho, J. G. Costa, E. O. Lima, V. S. Falcão-Silva, and J. P. Siqueira-Júnior, "Enhancement of the antibiotic activity against a multiresistant *Escherichia coli* by mentha arvensis L. and chlorpromazine," *Chemotherapy*, vol. 54, no. 4, pp. 328–330, 2008.
- [20] M. M. Javadpour, M. M. Juban, W. S. Lo et al., "A new method for determine the minimum inhibitory concentration of essential oils," *Journal of Applied Microbiology*, vol. 84, pp. 538–544, 1996.
- [21] A. Salvat, L. Antonnacci, R. H. Fortunato, E. Y. Suárez, and H. Godoy, "Screening of some plants from northern argentina for their antimicrobial activity," *Letters in Applied Microbiology*, vol. 32, no. 5, pp. 293–297, 2001.
- [22] A. B. Murphy and A. Murphy, "Band-gap determination from diffuse reflectance measurements of semiconductor films, and application to photoelectrochemical water-splitting," *Solar Energy Materials and Solar Cells*, vol. 91, no. 14, pp. 1326–1337, 2007.
- [23] C. C. Foggi, M. T. Fabbro, L. P. Santos et al., "Synthesis and evaluation of α-Ag<sub>2</sub>WO<sub>4</sub> as novel antifungal agent," *Chemical Physics Letters*, vol. 674, pp. 125–129, 2017.
- [24] V. T. Noronha, A. J. Paula, G. Duran et al., "Silver nanoparticles in dentistry," *Dental Materials*, vol. 33, no. 10, pp. 1110–1126, 2017.
- [25] E. Berni Neto, C. Ribeiro, and V. Zucolotto, *Síntese de nanopartículas de prata para aplicação na sanitização de embalagens*, Embrapa Instrumentação-Comunicado Técnico (INFOTECA-E), Brasília, Brazil, 2008.
- [26] T. Ali, A. Ahmed, U. Alam, I. Uddin, P. Tripathi, and M. Muneer, "Enhanced photocatalytic and antibacterial activities of Ag-doped TiO<sub>2</sub> nanoparticles under visible light," *Materials Chemistry and Physics*, vol. 212, pp. 325–335, 2018.
- [27] S. Chaturvedi and P. N. Dave, *Nanomaterials: Environmental, Human Health Risk, Handbook of Nanomaterials for Industrial Applications, Micro and Nano Technologies*, Elsevier, Amsterdam, Netherlands, 2018.
- [28] R. S. André, C. A. Zamperini, E. G. Mima et al., "Antimicrobial activity of TiO<sub>2</sub>: Ag nanocrystalline heterostructures: experimental and theoretical insights," *Chemical Physics*, vol. 459, pp. 87–95, 2015.

- [29] W. Bing, Z. Chen, H. Sun et al., "Visible-light-driven enhanced antibacterial and biofilm elimination activity of graphitic carbon nitride by embedded Ag nanoparticles," *Nano Research*, vol. 8, no. 5, pp. 1648–1658, 2015.
- [30] H. Cheng, W. Xiong, Z. Fang et al., "Strontium (Sr) and silver (Ag) loaded nanotubular structures with combined osteoinductive and antimicrobial activities," *Acta Biomaterialia*, vol. 31, pp. 388–400, 2016.
- [31] M. Smekalova, V. Aragon, A. Panacek, R. Pucek, R. Zboril, and L. Kvitek, "Enhanced antibacterial effect of antibiotics in combination with silver nanoparticles against animal pathogens," *Veterinary Journal*, vol. 209, pp. 174–179, 2016.
- [32] X. Ragàs, X. He, M. Agut et al., "Singlet oxygen in antimicrobial photodynamic therapy: photosensitizer-dependent production and decay in *E. coli*," *Molecules*, vol. 18, no. 3, pp. 2712–2725, 2013.
- [33] W. C. M. A. Melo and J. R. Perussi, "Comparando inativação fotodinâmica e antimicrobianos," *Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada*, vol. 33, pp. 331–340, 2012.
- [34] K. Hakouk, P. Deniard, L. Lajaunie et al., "Novel soft-chemistry route of  $\text{Ag}_2\text{Mo}_3\text{O}_{10} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  nanowires and in situ photogeneration of a  $\text{Ag}@ \text{Ag}_2\text{Mo}_3\text{O}_{10} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  plasmonic heterostructure," *Inorganic Chemistry*, vol. 52, no. 11, pp. 6440–6449, 2013.
- [35] J. Liu, Z. Liu, J. Zhang, and Z. Ma, "AgI/ $\text{Ag}_2\text{Mo}_3\text{O}_{10} \cdot 1.8 \text{H}_2\text{O}$ : a new photocatalyst working under visible light," *Materials Chemistry and Physics*, vol. 241, Article ID 122406, 2020.
- [36] V. A. d. S. Ribeiro, A. M. Ferrari, and C. R. G. Tavares, "Fotocatálise aplicada ao tratamento de efluentes de lavanderia de jeans: comparação entre  $\text{TiO}_2$  e ZnO na eficiência de remoção de cor/Photocatalysis applied to laundry wastewater treatment: comparison between  $\text{TiO}_2$  and ZnO on the efficiency of color removal," *Brazilian Journal of Business*, vol. 2, no. 3, pp. 2788–2798, 2020.
- [37] M. M. Baneshi, S. Jahanbin, A. Mousavizadeh, S. A. Sadat, A. Rayegan-Shirazi, and H. Biglari, "Gentamicin removal by photocatalytic process from aqueous solution," *Polish Journal of Environmental Studies*, vol. 27, no. 4, pp. 1433–1439, 2018.
- [38] Q. Chen, H. Liu, Y. Xin, and X. Cheng, " $\text{TiO}_2$  nanobelts—effect of calcination temperature on optical, photoelectrochemical and photocatalytic properties," *Electrochimica Acta*, vol. 111, pp. 284–291, 2013.
- [39] E. A. Serna-Galvis, F. Ferraro, J. Silva-Agredo, and R. A. Torres-Palma, "Degradation of highly consumed fluoroquinolones, penicillins and cephalosporins in distilled water and simulated hospital wastewater by UV254 and UV254/persulfate processes," *Water Research*, vol. 122, pp. 128–138, 2017.



### 5.1 ASPECTOS GERAIS DA PRODUÇÃO CIENTÍFICA

Os nanomateriais tungstato de bismuto e trimolibdato de prata dihidratado, foram inicialmente sintetizados por meio do método de síntese hidrotérmica. As análises morfológicas e as caracterizações estruturais dos materiais por MEV e XRD revelaram a estrutura em bastonete de  $\text{Ag}_2\text{Mo}_3\text{O}_{10}\cdot 2\text{H}_2\text{O}$  de natureza cristalina com alto grau de pureza e qualidade, uma vez que não foram observados materiais amorfos. Este resultado confirma a eficácia do método hidrotérmico já descrito na fundamentação teórica, uma vez que foi possível obter um material com ótima qualidade e com baixo custo. A cristalinidade das nanofolhas  $\text{Bi}_2\text{WO}_6$  também foi confirmada pela análise de difração de raio X e além disso, foi possível observar que esse material apresenta uma configuração em sanduíche.

Os espectros de infravermelho com transformada de Fourier (FT-IR) também foram analisados, sendo consistentes com os dados da literatura e confirmando os resultados da análise de XRD para os dois materiais. O espectro Raman obtido de  $\text{Bi}_2\text{WO}_6$  também está em total concordância com o que é mostrado na literatura, assim como as análises de microscopia de força atômica.

A análise térmica DSC e TGA realizada com  $\text{Ag}_2\text{Mo}_3\text{O}_{10}\cdot 2\text{H}_2\text{O}$ , revelaram eventos endotérmicos e exotérmicos que demonstram que este material apresenta uma ampla faixa de estabilidade térmica, podendo ser utilizados em diferentes processos térmicos. Esse dado é bastante interessante, do ponto de vista industrial, uma vez que esse material poderia ser empregado em diferentes aplicações com uso de temperaturas variadas, como os tratamentos de efluentes. Com base nas medições de refletância difusa UV-Visível, a capacidade dos nanobastões de absorver a luz visível, torna este material promissor para pesquisas com atividade fotocatalítica.

Nos experimentos para avaliar o efeito antibacteriano desses materiais, foram observados resultados promissores com as duas amostras, uma vez que os valores de concentração inibitória mínima contra as duas bactérias foram considerados relevantes de acordo com dados da literatura. Com base nos resultados, é possível inferir a possibilidade de que o mecanismo responsável pela atividade antibacteriana das nanofolhas em camadas de  $\text{Bi}_2\text{WO}_6$ , esteja relacionado à propriedade bidimensional do sistema. Os efeitos antibacterianos dos cristais contendo átomos de prata ainda não foram totalmente caracterizados, mas alguns estudos sugerem que as propriedades químicas desses compostos favorecem sua interação com a parede de peptidoglicano carregada negativamente, o que poderia resultar em aumento da permeabilidade celular, seguido de ruptura celular e morte bacteriana.

No intuito de avaliar uma possível atividade fotocatalítica das amostras sob bactérias, a atividade antibacteriana foi verificada com exposição dos experimentos ao LED com comprimentos de onda variados (415, 620 e 590 nm). Os dados obtidos nos testes com  $\text{Bi}_2\text{WO}_6$  mostram que nenhuma reação fotocatalítica é observada, uma vez que os valores de MIC não diminuem sob irradiação de luz visível. Já os resultados de  $\text{Ag}_2\text{Mo}_3\text{O}_{10}\cdot 2\text{H}_2\text{O}$  com exposição à luz amarela, resultou em um aumento significativo da atividade antibacteriana do trimolibdato de prata contra a cepa padrão de *S. aureus*, o que sugere uma possível atividade fotocatalítica de bactérias desse material.

O presente estudo também avaliou a capacidade das nanofolhas em camadas de  $\text{Bi}_2\text{WO}_6$  e do trimolibdato de prata, de reverterem a resistência bacteriana contra amicacina e gentamicina. Na associação dos aminoglicosídeos com as nanofolhas, nenhuma melhora na atividade antibiótica foi observada, entretanto, nos testes de modulação com  $\text{Ag}_2\text{Mo}_3\text{O}_{10}\cdot 2\text{H}_2\text{O}$ , foi verificada uma diminuição significativa da MIC de ambos os antibióticos contra a cepa Gram-negativa. Esses dados sugerem que o trimolibdato de prata reverteu, pelo menos parcialmente, o grau de resistência observada aos aminoglicosídeos frente *E. coli*, o que representa um dado promissor com relação as pesquisas direcionadas para o desenvolvimento de novas drogas antibacterianas, tendo em vista o aumento significativo de cepas de *E. coli* resistentes.

A associação de aminoglicosídeos sob irradiação de luz visível pode representar uma estratégia promissora no tratamento de infecções cutâneas causadas por bactérias resistentes, dessa forma, este estudo investigou os efeitos moduladores de antibióticos da exposição à luz do LED associada ou não aos materiais. Os resultados obtidos demonstram que diferentes luzes podem potencializar a ação dos aminoglicosídeos contra bactérias, mas a associação simultânea com os nanomateriais do presente estudo, parece interferir nos mecanismos bioquímicos envolvidos, prejudicando a ação antibacteriana.

Diante desse resultado, sugere-se que devido a um possível efeito fotocatalisador, os materiais podem induzir a degradação de outros compostos, o que levanta a hipótese de ter ocorrido uma degradação significativa dos aminoglicosídeos, justificando os resultados antagônicos observados. Com isso, infere-se que tais materiais poderiam apresentar efeitos potenciais no tratamento de efluentes contendo gentamicina e amicacina, tendo em vista, que um dos fatores que levam ao surgimento de resistência a antibióticos por bactérias patogênicas está relacionado ao descarte inadequado desses medicamentos.

## 5.2 CONCLUSÕES GERAIS

- Os métodos empregados para síntese e caracterização de nanobastões de  $\text{Ag}_2\text{Mo}_3\text{O}_{10}\cdot 2\text{H}_2\text{O}$  e nanofolhas  $\text{Bi}_2\text{WO}_6$  em camadas foram eficientes para obter e garantir amostras com qualidade.
- Os dois nanomateriais apresentaram efeito antibacteriano contra cepas Gram positivas e Gram negativas. Com relação a atividade fotocatalítica de bactérias, o trimolibdato de prata foi eficiente ao ser associado com a luz amarela frente *S.aureus*. Esses dados demonstram que esses materiais podem ser promissores para agirem como agentes antibacterianos e apresentam potencial terapêutico para o tratamento de doenças infecciosas.
- No que se refere a atividade moduladora de fármacos desses materiais, os nanobastões de  $\text{Ag}_2\text{Mo}_3\text{O}_{10}\cdot 2\text{H}_2\text{O}$  foram eficientes na diminuição da CIM de amicacina e gentamicina frente *E.coli*. Também foi possível verificar um possível efeito fotocatalítico de antibióticos das duas amostras, considerando os resultados dos testes de modulação com exposição ao LED, o que implica a realização de testes mais específicos, a fim de comprovar essa ação.

## 5.3 PERSPECTIVAS DE INVESTIGAÇÕES FUTURAS

O desenvolvimento de novos fármacos antimicrobianos necessita de diversas etapas para que se possa garantir a eficácia necessária bem como estimar níveis de toxicidade e possíveis efeitos adversos. Dessa forma, o presente estudo demonstra que os materiais nanoestruturados avaliados, apresentam efeito contra bactérias Gram negativas e Gram positivas *in vitro*, o que ressalta a importância de investigações mais aprofundadas desses mecanismos antibacterianos e também testes que possam avaliar os efeitos tóxicos em células, como por exemplo, a avaliação da citotoxicidade em hemácias.

O trimolibdato de prata apresentou ação promissora com relação aos testes de modulação do efeito antibiótico dos aminoglicosídeos frente a cepa Gram negativa, sugerindo que este material pode agir revertendo a resistência dessa bactéria. Com isso, é interessante a realização de novos experimentos para avaliar de que maneira  $\text{Ag}_2\text{Mo}_3\text{O}_{10}\cdot 2\text{H}_2\text{O}$  interage com os fármacos e com os microrganismos para diminuir a CIM. Uma metodologia sugerida que poderia ser empregada para verificar esses efeitos, seria a avaliação da expressão de genes de resistência pelas bactérias antes e depois do contato com o material, por meio de reação em cadeia da polimerase (PCR).

Com relação aos resultados dos testes com exposição a luz visível, foi obtido um resultado bastante interessante, uma vez que a hipótese de que esses materiais possam agir como fotocatalisadores de fármacos foi levantada. Esse efeito já foi demonstrado em alguns outros estudos com certos tipos de nanomateriais e trata-se de uma propriedade muito promissora no que diz respeito à aplicação desses no tratamento ambiental. Diante disso, sugere-se que testes específicos que avaliem diretamente esse efeito sejam realizados.

- ALMEIDA, ANA MARIA SOUZA; LEONÍDIO, ANGÉLICA RIBEIRO ARAÚJO; ANDRADE, MARIA AUXILIADORA. Associação dos quadros anatomopatológicos de colibacilose aviária com genes de virulência de *Escherichia coli*. **Veterinário em Foco**, v. 13, n. 2, p.113 - 131, 2016.
- ALÓS, JUAN-IGNACIO. Resistencia bacteriana a los antibióticos: una crisis global. **Enfermedades infecciosas y microbiología clínica**, v. 33, n. 10, p. 692-699, 2015.
- AMÉRICO, P.H.J., ISIQUE, D.W., MINILLO, A.; CARVALHO, D. L.S. Fármacos em uma estação de tratamento de esgoto na região centro-oeste do Brasil e os riscos aos recursos hídricos. **Revista Brasileira de Recursos Hídricos**, v. 17, n. 3, p. 61-67, 2012.
- BAGLIONI, P.; GIORGI, R. Soft and hard nanomaterials for restoration and conservation of cultural heritage. **Soft Matter**, v. 2, p. 293–303, 2006.
- BALAKUMAR, P.; ROHILLA, A.; THANGATHIRUPATHI, A. Gentamicin-induced nephrotoxicity: Do we have a promising therapeutic approach to blunt it? **Pharmacological Research**, v. 62, p. 179-186, 2010.
- BANESHI, MOHAMMAD MEHDI et al. Gentamicin removal by photocatalytic process from aqueous solution. **Polish Journal of Environmental Studies**, v. 27, n. 4, p. 1433-1439, 2018.
- BRASIL. Plano de ação nacional de prevenção e controle da resistência aos antimicrobianos no âmbito da saúde única 2018-2022 (PAN-BR) [recurso eletrônico] / Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de Vigilância das Doenças Transmissíveis. – Brasília: Ministério da Saúde, 24 p, 2019.
- C. SU, C.- M. TSENG, L.- F. CHEN, B.- H. YOU, B.- C. HSU, S.- S. CHEN. Sol–hydrothermal preparation and photocatalysis of titanium dioxide, **Thin Solid Films**, v. 498, p. 259-265, 2006.
- CANU, G.; BUSCAGLIA, V. Hydrothermal synthesis of strontium titanate: thermodynamic considerations, morphology control and crystallisation mechanisms. **CrystEngComm**, v. 19, n. 28, p. 3867–3891, 2017.
- CARVALHO, CAROLINE DE OLIVEIRA et al. Degradação fotocatalítica de ciprofloxacina usando óxido de zinco em espuma vítrea. **Revista Brasileira de Engenharia e Sustentabilidade**, v. 3, n. 1, p. 13-17, 2017.
- CHATURVEDI, S.; DAVE, P. N. Nanomaterials: Environmental, Human Health Risk. Handbook of Nanomaterials for Industrial Applications. **Micro and Nano Technologies**, Chapter 59, p. 1055-1062, 2018.
- CHEN, CHUANSHENG et al. Adsorption, photocatalytic and sunlight-driven antibacterial activity of Bi<sub>2</sub>WO<sub>6</sub>/graphene oxide nanoflakes. **Vacuum**, v. 116, p. 48-53, 2015.
- CHEN, P.; WANG, F.; CHEN, Z.-F.; ZHANG, Q.; SU, Y.; SHEN, L.; YAO, K.; LIU, Y.; CAI, Z.; LV, W.; LIU, G. Study of photocatalytic mechanism and detoxicity of gemfibrozil by a sunlight-driven TiO<sub>2</sub>/ carbon dots photocatalyst: The significant roles of reactive oxygen species. **Applied Catalysis B: Environmental**, v. 204, p. 250-259, 2017.

- CHEN, QINGHUA; HUILING LIU, YANJUN XIN, XIUWEN CHENG. TiO<sub>2</sub> nanobelts – Effect of calcination temperature on optical, photoelectrochemical and photocatalytic properties, **Electrochimica Acta**, v. 111, 2013.
- CHEN, X., LIU, F., YAN, X., YANG, Y., CHEN, Q., et al. Ag<sub>2</sub>Mo<sub>3</sub>O<sub>10</sub> Nanorods Decorated with Ag<sub>2</sub>S Nanoparticles: Visible-Light Photocatalytic Activity, Photostability, and Charge Transfer. **Chemistry–A European Journal**. v. 21, n. 51, p. 18711-18716, 2015.
- COSTA, ANDERSON LUIZ PENA DA; SILVA JUNIOR, ANTONIO CARLOS SOUZA. Resistência bacteriana aos antibióticos e Saúde Pública: uma breve revisão de literatura. **Estação Científica (UNIFAP)**, v. 7, n. 2, p. 45-57, 2017.
- COUTINHO, H. D. et al. Enhancement of the antibiotic activity against a multiresistant *Escherichia coli* by *Mentha arvensis* L. and chlorpromazine. **Chemotherapy**, v. 54, n. 4, p. 328-330, 2008.
- COUTINHO, H. D. M. et al. Effect of *Momordica charantia* L. in the resistance to aminoglycosides in methicilin-resistant *Staphylococcus aureus*. **Comparative immunology, microbiology and infectious diseases**, v. 33, n. 6, p. 467-471, 2010.
- DAMALAS, C.A.; ELEFTHEROHORINOS, I.G. Pesticide Exposure, Safety Issues, and Risk Assessment Indicators. **Int. J. Environ. Res. Public Health**, v. 8, p. 1402-1419, 2011.
- DA SILVA, MOISÉS OLIVEIRA; AQUINO, SIMONE. Resistência aos antimicrobianos: uma revisão dos desafios na busca por novas alternativas de tratamento. **Revista de Epidemiologia e Controle de Infecção**, v. 8, n. 4, p. 472-482, 2018.
- DAVIDIDOU, KONSTANTINA et al. Photocatalytic degradation of saccharin under UV-LED and blacklight irradiation. **Journal of Chemical Technology & Biotechnology**, v. 93, n. 1, p. 269-276, 2018.
- DIAS, BRUNA DE PAULA et al. A nanotecnologia no brasil e o desenvolvimento de produtos com atividade antimicrobiana. **Química Nova**, v. 44, p. 1084-1092, 2021.
- DIMER, FRANTIESCOLI A. et al. Impactos da nanotecnologia na saúde: produção de medicamentos. **Química Nova**, v. 36, p. 1520-1526, 2013.
- DI PAOLA, A.; GARCÍA-LÓPEZ, E.; MARCÌ, G.; PALMISANO, L. A survey of photocatalytic materials for environmental remediation. **Journal of Hazardous Materials**, v. 211–212, p. 3-29, 2012.
- DOS SANTOS RIBEIRO, VALQUÍRIA APARECIDA; FERRARI, ANA MARIA; TAVARES, CÉLIA REGINA GRANHEN. Fotocatálise aplicada ao tratamento de efluentes de lavanderia de jeans: comparação entre TiO<sub>2</sub> e ZnO na eficiência de remoção de cor. **Brazilian Journal of Business**, v. 2, n. 3, p. 2788-2798, 2020.
- DOS SANTOS, MIRIÃ CRISTINA et al. Utilização de fotocatálise heterogênea para a degradação de contaminantes emergentes: cloridrato de norfloxacino. Artigo técnico – Grupo GIPeFEA. 2017. Disponível em: <http://www.abq.org.br/rqi/2014/758/RQI-758-pagina25-Artigo-Tecnico.pdf>, acesso em 08 de Junho de 2021.
- DREXLED, K. Eric. Engines of creation: the coming era of nanotechnology. **Anchor Books**, 1986.

- EALIA, S. ANU MARY; SARAVANAKUMAR, M. P. A review on the classification, characterisation, synthesis of nanoparticles and their application. *In: IOP Conference Series: Materials Science and Engineering*. IOP Publishing, v. 263, 2017.
- EUROPEAN COMISSION, Recommendation on the definition of a nanomaterial [Internet]. Brussels; EC; 2011. Disponível em: <http://ec.europa.eu/environment/chemicals/nanotech/#definit>, acesso em 30 de março de 2021.
- CALIMAN, FLORENTINA ANCA; GAVRILESCU, MARIA. Pharmaceuticals, personal care products and endocrine disrupting agents in the environment—a review. **CLEAN—Soil, Air, Water**, v. 37, n. 4-5, p. 277-303, 2009.
- FAN, WENQUANG et al. Solar photocatalytic asphalt for removal of vehicular NOx: A feasibility study. **Applied Energy**, v. 225, p. 535-541, 2018.
- FENG, MEI et al. Ultralong silver trimolybdate nanowires: synthesis, phase transformation, stability, and their photocatalytic, optical, and electrical properties. **ACS nano**, v. 5, n. 8, p. 6726-6735, 2011.
- FERREIRA, E. A. C. et al. Influence of solution pH on forming silver molybdates obtained by sonochemical method and its application for methylene blue degradation. **Ceramics international**, v. 45, n. 9, p. 11448-11456, 2019.
- FOGGI, C.C. et al. Synthesis and evaluation of  $\alpha$ -Ag<sub>2</sub>WO<sub>4</sub> as novel antifungal agent. **Chemical Physics Letters**. v. 674, p. 125–129, 2017.
- FREIRE, NAIANA B. et al. Atividade antimicrobiana e antibiofilme de nanopartículas de prata sobre isolados de *Aeromonas* spp. obtidos de organismos aquáticos. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 38, n. 2, p. 244-249, 2018.
- WANG, GUANG-SHENG et al. Multiple nonlinear dielectric resonance of ultra-long silver trimolybdate nanowires. **Journal of Solid State Chemistry**, v. 202, p. 320-323, 2013.
- GAO, C.; WANG, J.; XU, H.; XIONG, Y. Coordination chemistry in the design of heterogeneous photocatalysts. **Chemical Society Reviews**, v. 46, p. 2799-2823, 2017.
- GONÇALVES, M. C. **Ciência e Engenharia de Materiais de Construção**. 1ª Ed, Editora IST Press, 2012.
- GONZÁLEZ-CARRERO, S; PÉREZ-PRIETO, J. Colloidal photoemissive nanoparticles. **ChemTexts**, v. 4, n. 3, 2018.
- HAKOUK, KHADIJA et al. Novel soft-chemistry route of Ag<sub>2</sub>Mo<sub>3</sub>O<sub>10</sub>· 2H<sub>2</sub>O nanowires and in situ photogeneration of a Ag@ Ag<sub>2</sub>Mo<sub>3</sub>O<sub>10</sub>· 2H<sub>2</sub>O plasmonic heterostructure. **Inorganic chemistry**, v. 52, n. 11, p. 6440-6449, 2013.
- HERNANDEZ, S.; HIDALGO, D.; SACCO, A.; CHIODONI, A.; LAMBERTI, A.; CAUDA, V.; TRESSO, E.; SARACCO, G. Comparison of photocatalytic and transport properties of TiO<sub>2</sub> and ZnO nanostructures for solar-driven water splitting. **Phys. Chem. Chem. Phys.** v. 17, p. 7775-7786, 2015.
- IVLELA, L. I.; VORONINA, I. S.; LYKOV, P. A.; BEREZOVSKAYA, L. Y.; OSIKO, V.V. “Growth of optically homogeneous BaWO<sub>4</sub> single crystals for Raman lasers”. **Journal of crystal growth**, v. 304, n. 1, p. 108-113, 2007.

JAMKHANDE, PRASAD GOVINDRAO et al. Metal nanoparticles synthesis: An overview on methods of preparation, advantages and disadvantages, and applications. **Journal of Drug Delivery Science and Technology**, v. 53, p. 101174, 2019.

JANA S.; DEB J K. Molecular understanding of aminoglycoside action and resistance. **Applied microbiology and biotechnology**, v. 70, p. 140-150, 2006.

JIA, YANAN et al. Fabrication of TiO<sub>2</sub>-Bi<sub>2</sub>WO<sub>6</sub> binanosheet for enhanced solar photocatalytic disinfection of *E. coli*: insights on the mechanism. **ACS applied materials & interfaces**, v. 8, n. 11, p. 6841-6851, 2016.

KIM, JUSTIN J. et al. Successful control of a methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* outbreak in a burn intensive care unit by addition of universal decolonization with intranasal mupirocin to basic infection prevention measures. **American journal of infection control**, v. 47, n. 6, p. 661-665, 2019.

KITTEL C. **Introduction to solid state physics**, John Wiley & Sons: New York, 8<sup>a</sup> ed, 2005.

KUMAR, J. VINOTH et al. Fabrication of potato-like silver molybdate microstructures for photocatalytic degradation of chronic toxicity ciprofloxacin and highly selective electrochemical detection of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. **Scientific reports**, v. 6, n. 1, p. 1-13, 2016.

KUMAR, Raj; SHARMA, Vishal. A novel combined approach of diffuse reflectance UV-Vis-NIR spectroscopy and multivariate analysis for non-destructive examination of blue ballpoint pen inks in forensic application. **Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, v. 175, p. 67-75, 2017.

LEE, JISOO et al. Nonclassical nucleation and growth of inorganic nanoparticles. **Nature Reviews Materials**, v. 1, n. 8, p. 1-16, 2016.

LEE, J. D. Química Inorgânica não tão concisa, 5<sup>a</sup>. Ed., Editora Edgard Blucher, 2003.

LEE, John David; Química Inorgânica. "Um Novo Texto Conciso, São Paulo: Edard Blücher Editora Ltda, 1980.

LEITE, DIEGO DE OLIVEIRA; PRADO, ROGÉRIO JUNQUEIRA. Espectroscopia no infravermelho: uma apresentação para o Ensino Médio. **Revista Brasileira de Ensino de Física**, v. 34, n. 2, p. 1-9, 2012.

LI, RUMIN et al. Controllable synthesis of nanostructured TiO<sub>2</sub> by CTAB-assisted hydrothermal route. **New Journal of Chemistry**, v. 38, n. 10, p. 4684-4689, 2014.

LI, ZIZHEN; MENG, XIANGCHAO; ZHANG, ZISHENG. Hexagonal SnS nanoplates assembled onto hierarchical Bi<sub>2</sub>WO<sub>6</sub> with enhanced photocatalytic activity in detoxification and disinfection. **Journal of colloid and interface science**, v. 537, p. 345-357, 2019.

LIU, JIE et al. AgI/Ag<sub>2</sub>Mo<sub>3</sub>O<sub>10</sub>·1.8 H<sub>2</sub>O: A new photocatalyst working under visible light. **Materials Chemistry and Physics**, v. 241, p. 122406, 2020.

LOMBARDO, DOMENICO; KISELEV, MIKHAIL A.; CACCAMO, MARIA TERESA. Smart nanoparticles for drug delivery application: development of versatile nanocarrier platforms in biotechnology and nanomedicine. **Journal of Nanomaterials**, 2019.

LOURO, H.; BORGES, T.; SILVA, M. J. Nanomateriais manufaturados: novos desafios para a saúde pública. **Revista Portuguesa de Saúde Pública**, v. 31, n. 2, p. 188-200, jul. 2013.



- MACZKA, M. et al. Pressure-induced structural phase transitions and amorphization in selected molybdates and tungstates. **Progress in materials science**, v. 57, n. 7, p. 1335-1381, 2012.
- MANGUIAT, L. S.; FANG, T. J. Microbiological quality of chicken-and pork-based street-vended foods from Taichung, Taiwan, and Laguna, Philippines. **Food microbiology**, v. 36, n. 1, p. 57-62, 2013.
- MARQUES, FABIELLE C.; STUMBO, ALEXANDRE M.; CANELA, MARIA C. Estratégias e materiais utilizados em fotocatalise heterogênea para geração de hidrogênio através da fotólise da água. **Química Nova**, v. 40, n. 5, p. 561-571, 2017.
- MATIAS, E.F.F. et al. Biological Activities and Chemical Characterization of Cordia verbenacea DC. as Tool to Validate the Ethnobiological Usage. **Evidence-based Complementary and Alternative Medicine**. v.1, n. 6, 2013.
- MENDES, LUIZA BARBOSA PETERSEN; MONTEIRO, LUCIANE PIMENTEL COSTA; PONTUAL, LEANDRO VAHIA. Avaliação da degradação fotocatalítica do metronidazol em solução aquosa utilizando espectrofotometria. **Brazilian Journal of Development**, v. 6, n. 8, p. 56821-56834, 2020.
- MOHR, LAURA CASSOL et al. Efeito antimicrobiano de nanopartículas de ZnO E TiO<sub>2</sub> frente as bactérias *S. aureus* e *E. coli*. In: **Revista do Congresso Sul Brasileiro de Engenharia de Alimentos**. v. 3, n.1, 2017.
- MOREIRA, FRANCISCA C. et al. Electrochemical advanced oxidation processes: a review on their application to synthetic and real wastewaters. **Applied Catalysis B: Environmental**, v. 202, p. 217-261, 2017.
- MOURA, J. V. B. et al.  $\beta$ -Ag<sub>2</sub>MoO<sub>4</sub> microcrystals: characterization, antibacterial properties and modulation analysis of antibiotic activity. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 86, p. 242-247, 2017.
- MOURA, João Victor Barbosa et al. Photocatalytic activity of molybdates: a technological prospecting. **Revista GEINTEC-Gestão, Inovação e Tecnologias**, v. 10, n. 1, p. 5302-5313, 2020.
- OLIVEIRA, CIBELE A. et al. Well-designed  $\beta$ -Ag<sub>2</sub>MoO<sub>4</sub> crystals with photocatalytic and antibacterial activity. **Materials & Design**, v. 115, p. 73-81, 2017.
- OLIVEIRA, M.; AQUINO, S. Resistência aos antimicrobianos : uma revisão dos desafios na busca por novas alternativas de tratamento. **Revista de Epidemiologia e Controle de Infecção**, p. 1–11, 2018.
- P.C.P. DAS NEVES, F. SCHENATO, F.A. BACHI, **Introdução à Mineralogia Prática**, 2. ed, Editora ULBRA, Canoas, 2008.
- PAITAN, YOSSEI. Current trends in antimicrobial resistance of Escherichia coli. **Escherichia coli, a Versatile Pathogen**, p. 181-211, 2018.
- PAL, SUKDEB; TAK, YU KYUNG; SONG, JOON MYONG. Does the antibacterial activity of silver nanoparticles depend on the shape of the nanoparticle? A study of the gram-negative bacterium *Escherichia coli*. **Applied and environmental microbiology**, v. 73, n. 6, p. 1712-1720, 2007.
- PARMEGGIANI, CAMILLA; CARDONA, FRANCESCA. Transition metal based catalysts in the aerobic oxidation of alcohols. **Green Chemistry**, v. 14, n. 3, p. 547-564, 2012.

- PARTHASARATHY, P.; NARAYANAN, K.S.; AROCKIAM, L. Study on kinetic parameters of different biomass samples using thermo-gravimetric analysis. **Biomass Bioenerg**, v. 58, 58-66, 2013.
- PAULINO, J. F.; AFONSO J. C. Elemento Químico: Tungstênio. **Química Nova na Escola**. v. 35, p. 141-142, 2013.
- PEREIRA, NARA LF et al. In vitro evaluation of the antibacterial potential and modification of antibiotic activity of the *Eugenia uniflora* L. essential oil in association with led lights. **Microbial pathogenesis**, v. 110, p. 512-518, 2017.
- PIGEOT-RÉMY, S. et al. Photocatalysis and disinfection of water: identification of potential bacterial targets. **Applied Catalysis B: Environmental**, v. 104, n. 3-4, p. 390-398, 2011.
- PINTO, ERVETON PINHEIRO; RAMOS, GLENDA QUARESMA; DA FONSECA FILHO, HENRIQUE DUARTE. O Microscópio de Força Atômica (AFM): importante ferramenta no estudo da morfologia de superfícies na escala nanométrica. **Estação Científica (UNIFAP)**, v. 3, n. 2, p. 41-50, 2015.
- WYCKOFF, RALPH WG. The crystal structure of silver molybdate. **Journal of the American Chemical Society**, v. 44, n. 9, p. 1994-1998, 1922.
- RANADE, VIVEK V.; JOSHI, SUNIL S. **Industrial catalytic processes for fine and specialty chemicals**. Elsevier, 2016.
- REN, JIA et al. Enhanced photocatalytic activity of Bi<sub>2</sub>WO<sub>6</sub> loaded with Ag nanoparticles under visible light irradiation. **Applied Catalysis B: Environmental**, v. 92, n. 1-2, p. 50-55, 2009a.
- REN, JIA et al. Photocatalytic inactivation of bacteria by photocatalyst Bi<sub>2</sub>WO<sub>6</sub> under visible light. **Catalysis Communications**, v. 10, n. 14, p. 1940-1943, 2009b.
- RUDOLPH, PETER (Ed.). **Handbook of crystal growth: Bulk crystal growth**. Elsevier, 2014.
- SANTANA, T. C. F. S. et al. Prevalência e resistência bacteriana aos agentes antimicrobianos de primeira escolha nas infecções do trato urinário no município de São Luís-MA. **Revista de Patologia Tropical**, v. 41, n. 4, p. 409-418, 2012.
- SANTOS, DIEGO P. DOS; GRASSESCHI, DANIEL. Nanomateriais plasmônicos: parte II. Química de coordenação de superfície e sua aplicação em sensores e catalisadores. **Química Nova**, v. 43, n. 10, p. 1482-1499, 2020.
- SCHULZ, PETER A. Nanomateriais e a interface entre nanotecnologia e ambiente. Vigilância Sanitária em Debate: Sociedade, Ciência & Tecnologia (Health Surveillance under Debate: Society, Science & Technology) – **Visa em Debate**, v. 1, n. 4, p. 53-58, 2013.
- SERNA-GALVIS, E. A.; FERRARO, F.; SILVA-AGREDO, J.; TORRES-PALMA, R. A. Degradation of highly consumed fluoroquinolones, penicillins and cephalosporins in distilled water and simulated hospital wastewater by UV254 and UV254/persulfate processes. **Water research**, v. 122, p. 128-138, 2017.
- SILVA, Rafael Almeida da et al. Resistência a Antimicrobianos: a formulação da resposta no âmbito da saúde global. **Saúde em Debate**, v. 44, p. 607-623, 2020.
- TANG, HU et al. Highly antibacterial materials constructed from silver molybdate nanoparticles immobilized in chitin matrix. **Chemical engineering journal**, v. 234, p. 124-131, 2013.

- TANG, HUA et al. Construction of Ag<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>/Ag<sub>2</sub>MoO<sub>4</sub> Z-scheme heterogeneous photocatalyst for the remediation of organic pollutants. **Chinese Journal of Catalysis**, v. 38, n. 2, p. 337-347, 2017.
- TEODORO, ANDERSON et al. Desinfecção de água cinza por fotocatalise heterogênea. **Engenharia Sanitaria e Ambiental**, v. 22, n. 5, p. 1017-1026, 2017.
- TONET, MICHELE DUARTE; LEONEL, ANDRÉ ARY. Nanociência e Nanotecnologia: uma revisão bibliográfica acerca das contribuições e desafios para o ensino de Física. **Caderno Brasileiro de Ensino de Física**, v. 36, n. 2, p. 431-456, 2019.
- TORTORA, G. J.; CASE, C. L.; FUNKE, B. R. Microbiologia. **Artmed Editora**, 2016.
- UZUNIAN, A; WANH A. Coronavirus SARS-CoV-2 and Covid-19. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, v.4 ,n.56, 2020.
- VELICKÝ, MATĚJ; TOTH, PETER S. From two-dimensional materials to their heterostructures: An electrochemist's perspective. **Applied Materials Today**, v. 8, p. 68-103, 2017.
- VIEGAS, V. et al. Infecção por *Staphylococcus aureus*. **Acta Pediátrica Portuguesa**, v. 41, n. 2, p. 79-81, 2010.
- WANG, HONGJUAN; FANG, WEI-HAI; CHEN, XUEBO. Mechanism of the enantioselective intramolecular [2+ 2] photocycloaddition reaction of coumarin catalyzed by a chiral Lewis acid: comparison with enone substrates. **The Journal of organic chemistry**, v. 81, n. 16, p. 7093-7101, 2016.
- WANG, LINLIN; HU, CHEN; SHAO, LONGQUAN. The antimicrobial activity of nanoparticles: present situation and prospects for the future. **International journal of nanomedicine**, v. 12, p. 1227, 2017.
- WELLER, MARK et al. **Química inorgânica**. Bookman Editora, 2017.
- XU, ZONGWEI et al. Topic review: application of Raman spectroscopy characterization in micro/nano-machining. **Micromachines**, v. 9, n. 7, p. 361, 2018.
- Y. ZHOU, Y. ZHANG, M. LIN, J. LONG, Z. ZHANG, H. LIN, J.C.S. WU, X. WANG, Monolayered Bi<sub>2</sub>WO<sub>6</sub> nanosheets mimicking heterojunction interface with open surfaces for photocatalysis, **Nat. Commun.** v. 6, 2015.
- YANG, XIANGLONG et al. Surface plasmon resonance-induced visible-light photocatalytic performance of silver/silver molybdate composites. **Chinese Journal of Catalysis**, v. 38, n. 2, p. 260-269, 2017.
- YOON, TEHSHIK P.; ISCHAY, MICHAEL A.; DU, JUANA. Visible light photocatalysis as a greener approach to photochemical synthesis. **Nature chemistry**, v. 2, n. 7, p. 527-532, 2010.
- ZARBIN, A. J. G. Química de (nano)materiais. **Química. Nova**, v. 30, p. 1469-1479, 2007.
- ZHENG, QIUJU et al. Understanding glass through differential scanning calorimetry. **Chemical reviews**, v. 119, n. 13, p. 7848-7939, 2019