

Caracterização estrutural, óptica, fotocatalítica e propriedades anti-inflamatórias de $Zn_2GeO_4:Mn$

Structural, optical, photocatalytic characterization and anti-inflammatory properties of $Zn_2GeO_4:Mn$

RESUMO

Victor Yuudi Suzuki
victorsuzuki@alunos.utfpr.edu.br
Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Londrina, Paraná, Brasil

Felipe de Almeida La Porta
felipelaporta@utfpr.edu.br
Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Londrina, Paraná, Brasil

Luis Henrique Cardoso Amorin
luis.amorin@gmail.com
Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Londrina, Paraná, Brasil

Foi estudado o efeito da incorporação de manganês (Mn) nas propriedades estruturais, ópticas e fotocatalíticas de matrizes hospedeiras de Zn_2GeO_4 (ZGO), sintetizados por rota hidrotérmica. Ainda, foi avaliada a capacidade de modular mediadores inflamatórios in vitro e inflamação aguda in vivo. Os nanobastões de ZGO foram dopados com 0, 1, 2 e 4% de Mn (ZGO:Mn). Tanto ZGO quanto ZGO:Mn mostraram uma estrutura romboédrica e excelentes propriedades ópticas com emissão de fotoluminescência na região visível a 543 nm atribuindo às transições eletrônicas (${}^4T_1 \rightarrow {}^6A_1$) entre os orbitais $3d^5$ dos íons Mn^{2+} . Os nanobastões foram eficientes fotocatalisadores para a degradação ultravioleta do azul de metileno na presença de H_2O_2 . O catalisador ZGO:Mn com 2% de Mn apresentou a melhor degradação do azul de metileno (degradação completa em 10 min). A acidez superficial dos nanobastões ZGO: Mn também contribuiu para a sua capacidade fotocatalítica. Enquanto isso, os nanobastões de ZGO:Mn reduziram significativamente o fator de necrose tumoral e o conteúdo de óxido nítrico. Assim, os nanobastões dopados com 4% foram altamente eficazes na redução do edema de pata induzido por carragenina. Os resultados da inflamação aguda (em macrófagos) revelaram que os nanobastões com 4% de Mn^{2+} exibiram propriedades anti-inflamatórias promissoras.

PALAVRAS-CHAVE: Materiais nanoestruturados. Catálise heterogênea. Agentes anti-inflamatórios. Fotoluminescência

ABSTRACT

The effect of manganese incorporation (Mn) on the structural, optical and photocatalytic properties of Zn_2GeO_4 (ZGO) host matrices synthesized by hydrothermal route was studied. Also, the ability to modulate inflammatory mediators in vitro and acute inflammation in vivo was evaluated. ZGO nanorods were doped with 0, 1, 2 and 4% Mn (ZGO:Mn). Both ZGO and ZGO:Mn showed a rhombohedral structure and excellent optical properties with photoluminescence emission in the visible region at 543 nm attributing to the electronic transitions (${}^4T_1 \rightarrow {}^6A_1$) between the $3d^5$ orbitals of the Mn^{2+} ions. The nanorods were efficient photocatalysts for the ultraviolet degradation of methylene blue in the presence of H_2O_2 . The 2% Mn ZGO: Mn catalyst showed the best degradation of methylene blue (complete degradation in 10 min). The surface acidity of ZGO:Mn nanorods also contributed to their photocatalytic capacity. Meanwhile, ZGO: Mn nanorods significantly reduced tumor necrosis factor and nitric oxide content. Thus, 4% doped nanorods were highly effective in reducing carrageenan-induced paw edema. Results of acute inflammation (in macrophages) revealed that nanorods with 4% Mn^{2+} exhibited promising anti-inflammatory properties.

KEYWORDS: Nanostructured materials. Heterogeneous catalyses. Anti-inflammatory agents. Photoluminescencia.

Recebido: 19 ago. 2019.

Aprovado: 01 out. 2019.

Direito autorial: Este trabalho está licenciado sob os termos da Licença Creative Commons-Atribuição 4.0 Internacional.



INTRODUÇÃO

O germanato de zinco (Zn_2GeO_4 (ZGO)), que é um n-tipo semicondutor de óxido com *bandgap* direto (≈ 4.4 eV) com propriedades únicas para várias aplicações tecnológicas tais como para aplicações em dispositivos ópticos e sensores eletroquímicos. (SUZUKI et al., 2019a, ZHAO et al., 2019) Entre diversos métodos possíveis para se obter ZGO, o método hidrotérmico é considerado a abordagem mais eficiente para a preparação escalável de vários óxidos de germânio ternários. Essa abordagem fornece alta pureza cristalina produtos sem qualquer tratamento adicional. Assim, a síntese hidrotérmica assistida por micro-ondas tem recebido imensa atenção para a preparação de uma diversidade de cristais com formas e tamanhos bem definidos, reduzindo o tempo de síntese. (SHI; SONG; ZHANG, 2013) Embora nanoestruturas tenham sido amplamente utilizadas em vários campos incluindo saúde e medicina, eles apresentam toxicidade acentuada, e seus efeitos tóxicos de longo prazo em humanos são desconhecidos. Nanopartículas à base de zinco e germânio já mostraram modular respostas inflamatórias. (BHATTACHARJEE et al., 2013) Portanto, neste estudo, foram investigados os efeitos dos defeitos estruturais, propriedades ópticas e fotocatalíticas, e citotoxicidade das nanoestruturas ZGO:Mn (com dopagem de 0, 1, 2 e 4% de Mn) preparadas usando o método hidrotermal assistido por micro-ondas em sua capacidade de modular respostas inflamatórias.

MATERIAL E MÉTODOS

Em primeiro lugar, duas soluções aquosas de 40 ml cada, uma com nitrato de zinco hexa-hidratado ($Zn(NO_3)_2 \cdot 6H_2O$, 98%, Sigma Aldrich) e outro com dióxido de germânio (GeO_2 , 99,99%, Alfa Aesar). Depois de misturar estas duas soluções, com agitação constante é adicionado acetato de manganês tetra-hidratado ($Mn(CHCOO)_2 \cdot 4H_2O$, 99,999%, Alfa Aesar). Quatro sínteses foram preparadas: uma com apenas $Zn(NO_3)_2 \cdot 6H_2O$ e GeO_2 na relação molar de 2:1 e as demais substituindo 1%, 2% e 4% em mols de $Zn(NO_3)_2 \cdot 6H_2O$ por $Mn(CHCOO)_2 \cdot 4H_2O$, respectivamente. Depois de preparar a mistura de todos os reagentes, adiciona-se hidróxido de amônio (NH_4OH) para ajustar o pH a 8. Após agitação constante durante 10 minutos, a mistura é colocada num reator de Teflon e colocada num microondas. Toda a síntese hidrotérmica foi realizada a $140^\circ C$ por 10 minutos. Em seguida, o material é lavado várias vezes com água destilada e álcool até neutralizado. Finalmente, o material é seco num forno a $80^\circ C$ durante cerca de 24 horas para obter um pó branco. As amostras serão denominadas, respectivamente, pelo seu percentual de dopagem.

Todos os materiais obtidos foram caracterizados pela difração de raios-X (DRX) na faixa de 2θ de 5 a 80° a $0,02^\circ \text{ min}^{-1}$, usando uma fonte de raios X Rigaku-Max/2500 PC com CuK_α ($\lambda=1,5406 \text{ \AA}$). Os espectros de fotoluminescência (FL) foram coletados em temperatura ambiente com um monocromador Thermal Jarrel-Ash Monospec e um fotomultiplicador Hamamatsu R955 com configuração lock-in. O comprimento de onda excitante de 350,7 nm (2,57 eV) de um laser de íons kriptônio (Coerent Innova 200K) foi usado com a saída do laser mantido a 500 mW e chegando a 15mW na amostra após modulação e filtragem através de um prisma. A espectroscopia de reflectância difusa na região ultravioleta-visível (DRS/UV-vis) de ZGO e ZGO:Mn foi medida usando espectrofotômetro Cary 5G. A

análise por microscopia eletrônica de transmissão (MET) foi realizada em um microscópio JEOL JEM 2100F operando a 200 kV.

Para o teste de degradação MB, foi usado 40 mg do catalisador foi usado em uma mistura da solução de corante (10 mgL^{-1}) com peróxido de hidrogênio na relação 9:1 (relação volumétrica). Após a mistura de todos os componentes para a realização da fotocatalise sob agitação constante, foi deixada no escuro por 10 minutos para atingir o equilíbrio de adsorção-dessorção. Então, com as lâmpadas fotorreatoras UVC 254 nm (15W, G15T8 / OF, OSRAM) anexadas, alíquotas de 1,00 mL foram coletadas nos tempos de 0, 1, 2, 3, 5, 7 e 10 minutos. Finalmente, as alíquotas foram diluídas em 1,00 mL de água destilada e espectroscopia realizada na região do ultravioleta visível (UV-Vis). O processo de degradação fotocatalítica pode ser bem ajustado pela cinética de pseudo-primeira ordem. Portanto, a taxa de pseudo-primeira ordem (k) foi usada para comparar a eficiência de fotodegradação dos catalisadores.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

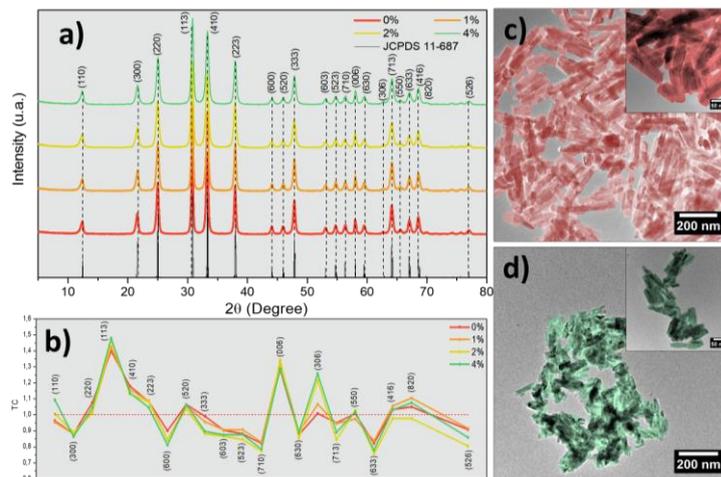
A partir do padrão de difração de raios-X (DRX) mostrado na Fig. 1a, pode-se observar que ZGO mostrou um alto grau de cristalinidade. Os picos podem ser indexados ao *Joint Committee on Powder Diffraction Standards* (JCPDS) 11-687 Apresenta uma estrutura cristalina romboédrica pertencente ao grupo espacial R-3 (no.148). Consiste em clusters de germânio tetraédrico $[\text{GeO}_4]$ e zinco $[\text{ZnO}_4]$ ambos ligados a quatro átomos de oxigênio. Com a inserção de Mn^{2+} na rede cristalina ocorre também a formação de $[\text{MnO}_4]$. O coeficiente de textura (TC) desses cristais foi calculado usando os resultados de DRX para determinar seu grau de orientação. Os valores de TC foram calculados usando a Eq. (1)

$$TC(hkl)_i = \frac{\frac{I(hkl)_i}{I_0(hkl)_i}}{\frac{1}{N} \sum_n \frac{I(hkl)_n}{I_0(hkl)_n}} \quad (1)$$

onde $I(hkl)_i$ é a intensidade do plano $(hkl)_i$, $I_0(hkl)_i$ é a intensidade do plano $(hkl)_i$ do JCPDS 11-687, e N é o número do total de picos analisados. A figura 1b mostra os valores TC dos cristais. A linha vermelha pontilhada representa a divisão da presença ou ausência de direções preferenciais de crescimento. Em $TC > 1$, o crescimento ocorre preferencialmente na direção indicada pelos correspondentes índices de Miller. Assim, constatou-se que o teor de dopagem afetou significativamente o crescimento dos cristais nas direções (113), (006) e (306), sugerindo que os clusters tetraédricos $[\text{MnO}_4]$ apresentaram fortes interações nessas direções por causa das condições ambientais de crescimento. Com o aumento do teor de dopagem, o crescimento do cristal ocorreu preferencialmente ao longo de uma direção paralela às direções (113) e (306).

As amostras apresentaram tamanhos médios de cristalitos, calculado pelo método de Scherrer, de 4.179, 3.792, 3.309 e 3.259 Å para as amostras com 0, 1, 2 e 4% de Mn^{2+} , respectivamente. Esta diminuição no tamanho do cristalito com um aumento no conteúdo de dopagem de Mn foi confirmada pelos resultados da microscopia eletrônica de transmissão (TEM) (Fig. 1c e 1d). As imagens mostraram que os nanobastões tinham bordas suaves e morfologia uniforme. Além disso, o grau de aglomeração diminuiu, o que é importante para os fenômenos físicos que dependem da interface de contato.

Figura 1. (a) Padrões de DRX e (b) TC para os picos indexados das amostras ZGO:Mn e imagens de MET de amostras dopadas com (c) 0% e (d) 4% de Mn²⁺

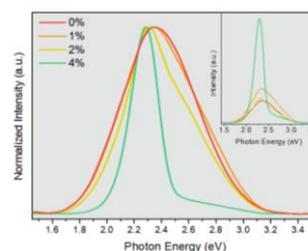


Fonte: Autoria própria

As energias de *bandgap* óptico dos nanobastões ZGO:Mn com diferentes conteúdos de dopagem de Mn (0, 1, 2 e 4%) foram determinadas a partir dos picos de suas curvas DRS/UV-vis de primeira derivada. ZGO mostrou *bandgap* de 3,34 eV. A energia do *bandgap* variou de 3,45 para 3,38 eV com um aumento no conteúdo de doping de 1 para 2%. No entanto, um aumento adicional no conteúdo de dopagem para 4% resultou em uma diminuição significativa no *bandgap* para 2,95 eV. Essa variação na energia do gap óptico das amostras sugere a geração de estados intermediários em os estados eletrônicos proibidos de ZGO:Mn por causa da deformação da estrutura cristalina ZGO. Essas variações alteraram as propriedades da rede cristalina ZGO. (ANOOP; KRISHNA; JAYARAJ, 2008)

As propriedades ópticas das amostras ZGO: Mn também foram investigadas obtendo seus espectros FL (Fig. 2). A amostra dopada com 4% mostrou uma largura de banda significativamente estreita. No canto superior direito na Fig. 2, pode-se observar que a intensidade de luminescência aumentou com o aumento do conteúdo de dopagem. A emissão máxima de FL das amostras variou de 522,7 (0%) a 543,0 nm (4%), um desvio para o vermelho na emissão de FL, é causado pela geração de níveis intermediários *bandgap* entre as bandas de valência e condução.

Figura 2. FL das amostras de ZGO:Mn

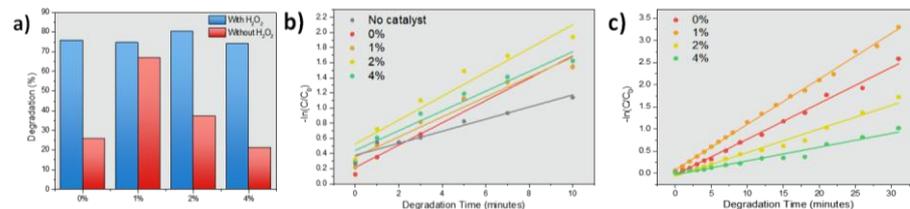


Fonte: Autoria própria

Nos testes de fotocatalise, a redução significativa nos picos máximos de absorção de MB dos catalisadores mostra que os catalisadores fotoativados degradaram quase todo o corante na solução em 10 min. Por outro lado, o

processo de fotodegradação exigiu 30 min quando a degradação foi realizada apenas na presença de H_2O_2 sem os catalisadores. Os gráficos $-\ln(C/C_0)$ vs. tempo de degradação dos catalisadores foram obtidos para calcular o valor k da reação de degradação. (Fig. 3).

Figura 3. (a) Degradação de corante com catalisadores de ZGO:Mn; Gráficos $-\ln(C/C_0)$ vs. tempo de degradação (b) com e (c) sem H_2O_2 .



Fonte: Autoria própria

Nanopartículas à base de zinco e germânio podem aumentar a liberação de mediadores inflamatórios (em baixas concentrações) em diversas linhas celulares (BHATTACHARJEE et al., 2013) e podem até reduzir as concentrações de TNF e NO. Nesse caso, o tratamento com nanopartículas reduziu a viabilidade das amostras ZGO (100 e $10 \mu\text{g mL}^{-1}$) e 2% ZGO: Mn ($100 \mu\text{g mL}^{-1}$). A redução do NO e do TNF- α não foi considerada devido à sua citotoxicidade. 1% ZGO: Mn apresentou redução de NO em torno de 50% em todas as concentrações. 4% ZGO: Mn apresentou a maior redução de NO (mais de 86% ($100 \mu\text{g mL}^{-1}$)) sem citotoxicidade. Os compostos dopados mostraram uma redução significativa na produção de TNF- α (redução de 80% em $10 \mu\text{g mL}^{-1}$ de 1 e 2% ZGO:Mn). O ZGO não apresentou redução na produção de TNF- α , provavelmente devido à sua diferente via de reação e à ausência de estruturas interativas nele. A presença de Mn pode reduzir a citotoxicidade do ZGO, provavelmente devido às interações das nanopartículas dopadas.

Assim, 4% ZGO: Mn mostrou a redução do edema da pata induzido por carragenina após 3 h de indução e mostrou a mesma eficiência que a demonstrada pela dexametasona. Esta amostra foi escolhida para utilização neste ensaio devido à sua boa inibição de TNF- α e NO sem citotoxicidade. Este modelo de inflamação aguda é amplamente utilizado para avaliar a atividade anti-inflamatória de diferentes compostos. Portanto, nossos resultados sugerem que a incorporação de Mn apresenta efeito positivo na modulação da resposta inflamatória de nanobastões preparados de ZGO: Mn. Dessa forma, estudos da associação entre inflamação e câncer são bastante atrativos para a pesquisa de novos alvos terapêuticos e compostos biologicamente ativos.

CONCLUSÃO

Nós investigamos o efeito da incorporação de Mn^{2+} nas propriedades estruturais, ópticas e fotocatalíticas; citotoxicidade; e modulação da resposta inflamatória de nanobastões ZGO: Mn preparados usando o método hidrotermal assistido por micro-ondas. O centro de emissão de FL dos nanobastões passou de 522,7 (0%) para 543,0 nm (4%). A dopagem com Mn também resultou em um aumento significativo na intensidade da luminescência e um estreitamento significativo do perfil da banda FL (estreitamento de 58%). Além disso, os

resultados da fotocatalise mostraram que os catalisadores ZGO:Mn poderiam degradar eficientemente MB sob luz UV. Além disso, os nanobastões de ZGO:Mn poderiam modular os mediadores inflamatórios em macrófagos sem reduzir a viabilidade desta linhagem celular. A amostra com 4% de dopagem mostrou ser potente para a modulação in vitro e poderia reduzir a inflamação aguda de forma tão eficaz quanto a dexametasona.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem o apoio das agências brasileiras CNPq, CAPES, Fundação Araucária, FAPESP e FAPEMIG.

REFERÊNCIAS

ANOOP, G.; KRISHNA, K. Mini; JAYARAJ, M. K.. The Effect of Mg Incorporation on Structural and Optical Properties of Zn₂GeO₄: Mn Phosphor. **Journal Of The Electrochemical Society**, [S.l.], v. 155, n. 1, p.7-10, 2008. The Electrochemical Society. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1149/1.2799585>. Acesso em: 18 ago. 2019.

BHATTACHARJEE, Sourav et al. Cytotoxicity of surface-functionalized silicon and germanium nanoparticles: the dominant role of surface charges. **Nanoscale**, [S.l.], v. 5, n. 11, p.4870-4883, 2013. Royal Society of Chemistry (RSC). Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1039/c3nr34266b>. Acesso em: 18 ago. 2019.

SHI, Weidong; SONG, Shuyan; ZHANG, Hongjie. Hydrothermal synthetic strategies of inorganic semiconducting nanostructures. **Chemical Society Reviews**, [S.l.], v. 42, n. 13, p.5714-5743, 2013. Royal Society of Chemistry (RSC). Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1039/c3cs60012b>. Acesso em: 18 ago. 2019.

SUZUKI, V.Y. et al. Characterization of the structural, optical, photocatalytic and in vitro and in vivo anti-inflammatory properties of Mn²⁺ doped Zn₂GeO₄ nanorods. **Journal of Materials Chemistry C**, [S.l.], v. 7, p. 8216-8225, mai. 2019. Royal Society of Chemistry (RSC). Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1039/C9TC01189G>. Acesso em: 18 ago. 2019.

SUZUKI, V.Y. et al. Exploring effects of microwave-assisted thermal annealing on optical properties of Zn₂GeO₄ nanostructured films. **Materials Science And Engineering: B**, [S.l.], v. 246, p.7-12, jul. 2019. Elsevier BV. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.mseb.2019.05.023>. Acesso em: 18 ago. 2019.

ZHAO, Yiming et al. Catalyst-free growth of a Zn₂GeO₄ nanowire network for high-performance transfer-free solar-blind deep UV detection. **Physica e: Low-dimensional Systems and Nanostructures**, [S.l.], v. 107, p.1-4, mar. 2019. Elsevier BV. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.physe.2018.11.015>. Acesso em: 18 ago. 2019.