



BIOSSÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DE NANOPARTÍCULA DE PRATA USANDO EXTRATO DA PLANTA *STRYPHODENDRON ADSTRINGENS* E AVALIAÇÃO DO SEU POTENCIAL BIOLÓGICO

Palavras-Chave: NANOPARTÍCULAS DE PRATA, PLANTAS MEDICINAIS, BACTÉRIAS.

Autores/as:

MAELSON LACERDA, IQ, UNICAMP

Prof.(^a) Dr.(^a) LJUBICA TASIC (orientadora) IQ, UNICAMP

INTRODUÇÃO:

Com a descoberta das nanopartículas, os produtos biotecnológicos contendo prata têm sido usados para uma ampla variedade de finalidades, como no combate de bactérias, fungos, tratamento de feridas, queimaduras, infecções e para uso em materiais médicos e hospitalares que afetam variedades de patógenos. As nanopartículas de prata (AgNP) incorporadas nos diversos tipos de produtos atuam como um reservatório para liberação contínua e controlada de íons de prata, dessa forma, obtém-se maior eficiência no tratamento proposto^[1].

As nanopartículas podem ser obtidas usando agentes redutores orgânicos ou inorgânicos que reduzem íons prata para prata metálica. Todavia, a utilização desses reagentes químicos e solventes geralmente torna esses métodos trabalhosos, caros e produz resíduos tóxicos, principalmente ao meio ambiente^[2,3]. Uma alternativa é a síntese verde, a qual utiliza-se de meio biológico ou extratos de plantas para redução do íon (Ag⁺) para a sua forma metálica

Ag(0). A síntese das AgNP, usando extrato de plantas, reduz o uso de agentes químicos redutores, uma vez que, esse método biológico envolve o uso de extratos vegetais contendo moléculas capazes de reduzir íons metálicos a AgNP em uma única etapa. A vantagem deste método para o químico é que as plantas produzem biomoléculas funcionais que reduzem os íons metálicos e aderem à superfície dessas nanopartículas, conferindo-lhes diversas propriedades, como proteção e estabilidade, além de alta eficiência, sustentabilidade ambiental e baixo custo de produção^[3,4].

Portanto, alternativas mais sustentáveis - tanto financeira e/ou ambiental - devem ser consideradas e estudadas. Dessa forma, o objetivo do atual projeto tem como finalidade a biossíntese e caracterização de nanopartículas de prata, avaliação do seu potencial biológico e avaliar a toxicidade das AgNP@SA frente às células Vero utilizando Ressonância Magnética Nuclear.

METODOLOGIA:

Biossíntese das nanopartículas

A planta escolhida para obtenção do extrato foi o Barbatimão (*Stryphnodendron adstringens*). É uma espécie pertencente à família *Fabaceae* que é largamente distribuída pelas cinco regiões brasileiras^[5].

Uma porção da casca da árvore adulta colhida no Parque Estadual Caminho dos Gerais, localizado entre nos municípios mineiros de Mamonas, Monte Azul, Gameleiras e Espinosa, entre as coordenadas de 14°48'S; 43°06'W e 15°18'S; 42°50'W, foi seca, triturada e 2 (duas) gramas do produto foi pesado, adicionado em 50 mL de água destilada. Após 3 (três) dias em repouso, temperatura ambiente e protegido da luz, foi realizada uma filtração simples e colhido o extrato.

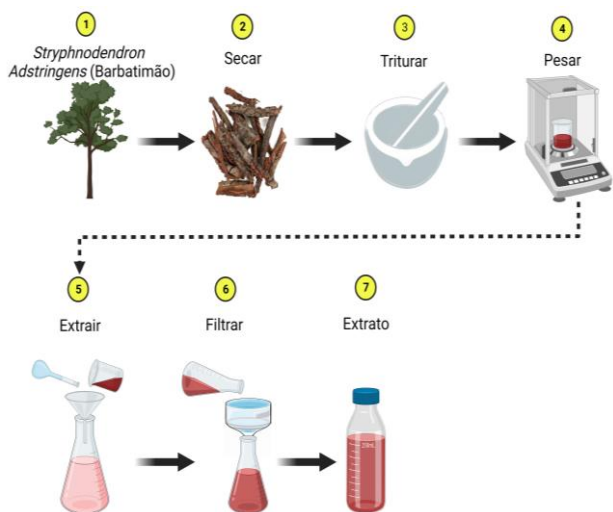


Figura 1 - Procedimento experimental para obter o extrato da planta – fonte: autor

Para a biossíntese, 500 µL do extrato foi adicionado a 20 mL de uma solução de nitrato de prata a $1 \times 10^{-3} \text{ mol/L}^{-1}$. A mistura foi mantida sob agitação branda até observar a mudança de cor. A formação das nanopartículas de prata foi acompanhada por espectroscopia de ultravioleta-visível (UV-Vis) visto que nanopartículas de prata apresentam uma banda

de absorção na região de 400 nm (banda de absorção de Plasmon) ^[6].

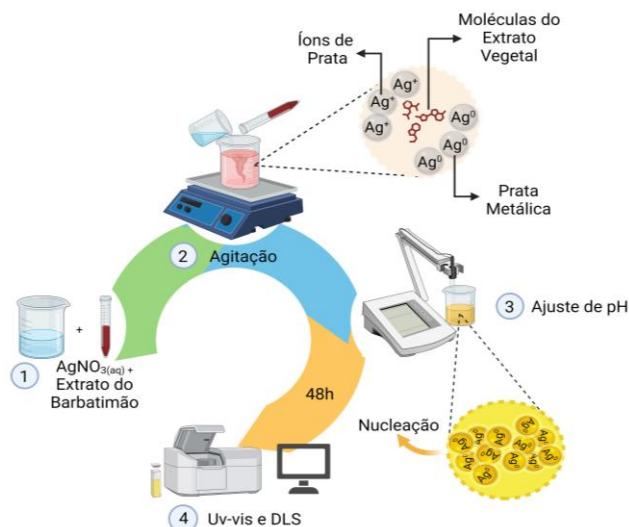


Figura 2 - Procedimento experimental para biossíntese das AgNP@SA - fonte: autor

Instrumentação

Os espectros eletrônicos das soluções contendo as AgNP@SA foram obtidos em um espectrofotômetro Agilent 8453, utilizando-se celas de quartzo de 1 cm de caminho ótico.

Os tamanhos das partículas e o potencial Zeta das AgNP@SA foi medido utilizando o equipamento Zeta Size Nano – ZEN3600.

RESULTADOS E DISCUSSÃO:

O procedimento Experimental descrito, possibilitou a obtenção de nanopartículas de prata de coloração amarela e com boa estabilidade. Essa estabilidade pode ser observada pelo fato das AgNP@SA permanecerem em suspensão e não se aglomerar.

A análise de UV-vis (Ultravioleta-Visível) é uma técnica amplamente utilizada para estudar as propriedades ópticas de nanopartículas de prata. As AgNPs são

caracterizadas devido um efeito conhecido como absorção de fótons na região do visível^[7].

A ressonância plasmônica de superfície (SPR) é o fenômeno que rege o aparecimento das bandas reativas das AgNPs na região do UV-vis, esse fenômeno está ligado às suas propriedades físicas como tamanho e formas. As SPRs ocorrem devido à interação entre os elétrons livres na superfície da partícula e o campo eletromagnético incidente. A posição e a intensidade dessa banda de absorção podem ser influenciadas pelo tamanho, a forma e o ambiente local das nanopartículas^[8].

Sabemos que diferentes solventes têm propriedades químicas e físicas distintas, o que pode influenciar sua capacidade de extrair diferentes compostos de uma substância ou mistura. Portanto, a escolha do solvente é um parâmetro importante a ser considerado, a fim de avaliar, qual solvente será mais eficaz na extração dos compostos responsável pela redução da prata, foi realizado a síntese com dois extratos, proveniente de solventes diferentes: água e etanol 70 %.

Como podemos observar na (Figura 3), foram realizadas análise de UV-vis das AgNP@SA sintetizadas com os diferentes extratos e obtido o espectro de absorção. Os espectros exibem uma banda de absorção característica em torno de 415 nm. Portanto, não há diferença significativa entre os dois extratos para a biossíntese das nanopartículas de prata, como a água é considerado um solvente universal, optamos por seguir com o projeto utilizando extrato em água.

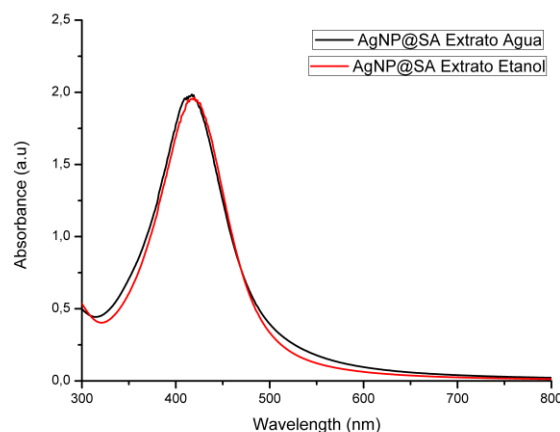


Figura 3 - Análise UV-vis das AgNP@SA com diferentes extratos da planta – fonte: autor

Outra variável estudada foi o efeito do pH do meio reacional, que desempenha um papel fundamental na síntese de nanopartículas de prata, pois afeta tanto as etapas de nucleação quanto as etapas de crescimento. Ajustar o pH pode controlar a taxa de redução do agente redutor, bem como a estabilidade coloidal das nanopartículas formadas^[9].

Em geral, a faixa de pH ótima para a síntese de nanopartículas de prata varia de acordo com o método de síntese e os reagentes utilizados. No entanto, muitos estudos relataram que pHs alcalinos são favoráveis para a formação de nanopartículas de prata de tamanho controlado. Isso ocorre porque pHs alcalinos fornecem um ambiente propício para a redução eficiente do íon prata (Ag^+) e ajudam a prevenir a agregação e a oxidação das nanopartículas recém-formadas^[9].

A (Figura 4) mostra que em pH baixo (4,1), praticamente não há formação das nanopartículas, uma vez que a absorção na região de 400 nm é pouco intensa. Em pHs mais altos (8.2), observa uma banda intensa em 415 nm, característica de AgNP esférica.

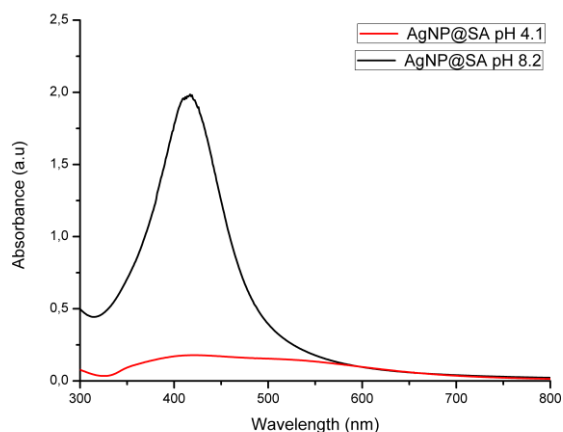


Figura 4 - Análise UV-vis das AgNP@SA com controle de pH - fonte: autor

Por fim, na (Figura 5), pode observar a diminuição da absorbância com o passar do tempo, isso ocorre devido a estabilização das AgNP@SA.

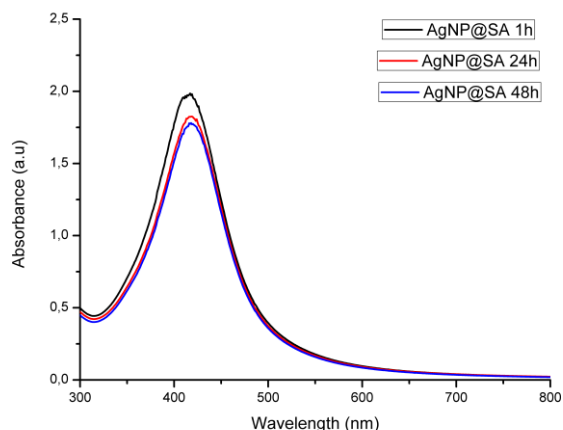


Figura 5 - Análise UV-vis das AgNP@SA, 1h, 24h e 48h após a síntese - fonte: autor

Espalhamento Dinâmico da Luz (DLS - Dynamic Light Scattering)

A técnica de dispersão de luz dinâmica (DLS) foi utilizada para determinar o tamanho das partículas e o seu perfil de distribuição na suspensão. Nesta técnica um monocromático feixe de luz, como um laser, atinge as partículas em movimento e altera o comprimento de onda da luz que entra. Esta mudança está relacionada com o tamanho das partículas em análise^[10].

A (Figura 6) mostra a distribuição de tamanho das nanopartículas de prata, 48:00h após a síntese, onde são observados um pico, que indica a formação de partículas com tamanhos médios de (3,10 nm) de diâmetro na suspensão.

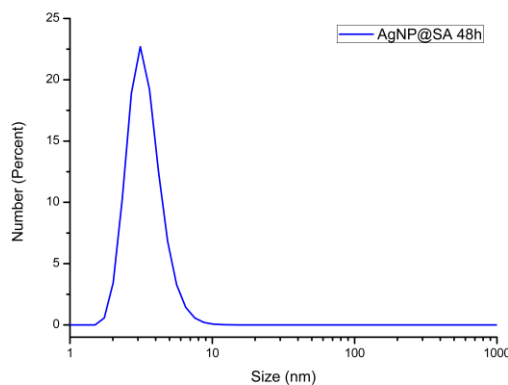


Figura 6 - Análise DLS do Tamanho das AgNP@SA após 48h da síntese - fonte: autor

Outra quantificação realizada foi o potencial zeta das AgNP@SA. O potencial zeta é uma medida da carga elétrica superficial e da estabilidade das partículas dispersas em uma solução coloidal. É uma propriedade importante para entender a interação eletrostática entre as partículas.^[11]

Quanto maior o valor absoluto do potencial zeta, maior é a força repulsiva entre as partículas, o que contribui para a estabilidade da suspensão coloidal. Para os valores de potencial zeta negativo, as partículas têm tendência a se dispersar e permanecer em suspensão, o que evita a precipitação. O potencial zeta pode ser influenciado por diversos fatores, como pH da solução, força iônica, presença de estabilizantes ou surfactantes^[11].

Observando os valores da (Tabela 1), é possível verificar os parâmetros das AgNP@SA, obtidos pela técnica de DLS.

Tabela 1 – Parâmetros obtidos no DLS, para AgNP@SA, 1h, 24h e 48h após a síntese - fonte: autor

Tempo após reação	Diâmetro (nm)	Potencial Zeta (mV)
1h	4,09	-25,4
24h	3,83	-35,6
48h	3,10	-39,1

CONCLUSÕES:

Embora este trabalho de iniciação científica ainda esteja em andamento, até o momento foi possível investigar e analisar várias informações relevantes sobre o tema proposto. Com isso, foi realizada a biossíntese e a caracterização das AgNP@SA, além de, avaliar o efeito do pH e dos diferentes extratos. Dessa forma, pode concluir que em pH baixo praticamente não há formação das nanopartículas, uma vez que a absorção na região de 400 nm é pouco intensa. Em pHs mais altos (8.2), observa uma banda intensa em 415 nm, característica de AgNP@SA esférica. Também, pode observar a diminuição da absorbância com o passar do tempo.

Com as análises de DLS (Dynamic Light Scattering), pode determinar o diâmetro médio (3,10 nm) e o potencial Zeta (-39,1 mV).

As etapas iniciais foram essenciais para delinear o caminho da pesquisa e fornece uma base sólida para a continuidade do estudo. Com o progresso contínuo, espero alcançar os objetivos propostos e contribuir para o avanço da área de pesquisa.

BIBLIOGRAFIA

[1] - FERNANDES, MFM. Google, **nanotecnologia e historiografia da ciência do tempo presente**. Revista Brasileira de Ciência, Tecnologia e Sociedade, 2011.

[2] - SADOWSKI, Z., MALISZEWSKA, IH, GROCHOWALSKA, B., POLOWCZYK, I., KOZLECKI, T. **Synthesis of silver nanoparticles using microorganisms**. Materials Science-poland, 2008

[3] - LU, W., SENAPATI, D., WANG, S., TOVMACHENKO, O., SINGH, AK E YU, H. **Effect of surface coating on the toxicity of silver nanomaterials on human skin keratinocytes**. chemistry physics cards, 2010.

[4] - RAI, M., YADAV, A., & GADE, A. **Silver nanoparticles as a new generation of antimicrobials**. *Advances in Biotechnology*, 2009.

[5] - SILVA, L. P. **Nanopartículas verdes: Plantas do cerrado são usadas na produção de nanossistemas para controle de patógenos e pragas da agricultura, entre outras aplicações**. Pesquisa FAPESP, São Paulo (SP),2014.

[6] - DURÁN, N.; MARCATO, P.D.; ALVES, O.L.; G.I.H.; ESPOSITO, E. **Mechanistic aspects of biosynthesis of silver nanoparticles by several Fusarium oxysporumstrains**. *Journal of Nanobiotechnology*, 2005.

[7] - Haiss, W., Thanh, N. T. K., Aveyard, J., & Fernig, D. G. **Determination of size and concentration of gold nanoparticles from UV-vis spectra**. *Analytical Chemistry*,2007.

[8] - Jain, P. K., Huang, X., El-Sayed, I. H., & El-Sayed, M. A. **Review of some interesting surface plasmon resonance-enhanced properties of noble metal nanoparticles and their applications to biosystems**. *Plasmonics*,2008.

[9] - GONTIJO, L.A.P.; RAPHAEL, E.; FERRARI, D.P.S. **pH effect on the synthesis of different size silver nanoparticles evaluated by DLS and their size-dependent antimicrobial activity**. *Revista Matéria*, 2020.

[10] SOLOMON, S. D. et. al. **Synthesis and Study of Silver Nanoparticles** Drexel university, Philadelphia, 2007.

[11] - Ana P., Alessandra L., Marystela F., Fabio L., Osvaldo N. **Dynamic Light Scattering Applied to Nanoparticle Characterization**, William Andrew Publishing, 2017.