SÍNTESE VERDE DE NANOPARTÍCULAS DE PRATA EMPREGANDO EXTRATOS DE SEMENTES DE *Myrciaria cauliflora* E A GOMA DO ABACAXI (*Ananas comosus L. Merril*)

Bianca Siqueira Schveigert (PROVIC), Dhésmon Lima, Luma Clarindo Lopes, Ana Carolina Mendes Hacke, Romaiana Picada Pereira, Christiana Andrade Pessôa (Orientadora) e-mail: christianapessoa@hotmail.com
Universidade Estadual de Ponta Grossa/Departamento de Química.

Área: Química, Sub-área: Química Inorgânica.

Palavras-chave: Nanopartículas de prata, síntese verde, jabuticaba.

Resumo

No presente trabalho, extratos de sementes de *Myrciaria cauliflora* (MC), foram utilizadas para o desenvolvimento de um novo método de síntese verde de AgNPs. A morfologia e o tamanho de partículas das AgNPs-MC foram investigados pela análise de TEM, e foi constatado que as mesmas são esféricas. Além disso, o histograma de distribuição de tamanho revelou um tamanho médio de partícula de 17,28 ± 1,6 nm. A partir de medidas periódicas de espectroscopia UV-VIS, foi verificada a estabilidade das AgNPs-MC, sendo possível observar que, não ocorreram deslocamentos significativos da banda plasmônica com o decorrer do tempo. As AgNPs-MC e o extrato de MC não exibiram efeitos tóxicos para a membrana plasmática de leucócitos. O tratamento de eritrócitos humanos com a AgNPs-MC e o extrato não desestabilizaram a membrana plasmática das referidas células. Portanto, a ausência de efeitos tóxicos detectáveis em glóbulos brancos e vermelhos evidencia a natureza hemocompatível do extrato de MC com AgNPs, o que é um pré-requisito importante para futuros estudos biomédicos.

Introdução

A utilização de processos “verdes” para o desenvolvimento de rotas químicas de síntese que sejam mais sustentáveis e menos agressivas ao meio ambiente está se tornando cada vez mais popular e necessária, como uma consequência de problemas mundiais associados à contaminação ambiental.[1] No âmbito da nanotecnologia, a demanda por princípios verdes ocorre porque, apesar das propriedades inovadoras e atrativas que os materiais nanoestruturados possuem, um impacto ambiental e à saúde pode ocorrer como consequência do emprego de compostos potencialmente tóxicos para a sua produção. Neste sentido, nos dias atuais existe um constante esforço para que procedimentos verdes de síntese sejam desenvolvidos, a fim de se minimizar o uso de solventes, agentes redutores e estabilizantes nocivos para a síntese sobretudo de nanopartículas metálicas (MNPs), assim como para substituir tais reagentes por alternativas que sejam eco e biocompatíveis.[2] Entre estas alternativas podem ser citados extratos vegetais, polissacarídeos, peptídeos e até mesmo microorganismos que podem atuar simultaneamente como agentes redutores e estabilizantes para síntese de MNps.[1-5]

As nanopartículas de prata (AgNPs) têm sido objeto de estudo de pesquisadores das mais diversas áreas devido às suas propriedades altamente atrativas, como estabilidade química, alta condutividade elétrica, atividade catalítica, interação com a luz visível (por meio do fenômeno de ressonância plasmon de superfície) e pronunciada atividade antimicrobiana, as quais permitem uma vasta gama de aplicações biomédicas, biotecnológicas e industriais.[6-8]

A jabuticaba consiste em uma fruta brasileira, apreciada para consumo *in natura* e também para a produção de geleias, licores e vinhos em indústrias de processamento.[9] Recentemente, Hacke e colaboradores[10] demonstraram que sementes de jabuticaba, as quais são consideradas um resíduo pelas indústrias de alimentos é uma fonte rica de compostos bioativos, principalmente de compostos fenólicos. Portanto, extratos das referidas sementes podem encontrar uma importante aplicação na síntese de MNPs, possuindo o potencial de atuar não somente como agente redutor, mas também como agente estabilizante das mesmas.[11, 12]

Neste sentido, o presente projeto propõe a aplicação de extratos aquosos de sementes de jabuticaba para a síntese de AgNPs, na tentativa de que um novo procedimento verde para a obtenção de tais nanopartículas seja estabelecido. As AgNPs assim obtidas foram então exploradas no que se refere à suas aplicações biotecnológicas, principalmente na avaliação de hemocompatibilidade.

Material e Métodos

As sementes de jabuticaba trituradas e pulverizadas utilizadas neste trabalho foram obtidas segundo método previamente descrito[10]. A síntese das AgNPs foi realizada por meio da adição de 250 µL do extrato aquoso das referidas sementes a 2,50 mL de solução de $AgNO_3$ 0,2 mmol L^{-1}, sob agitação e em banho de gelo por 25 minutos. As AgNPs-MC obtidas nas condições otimizadas foram caracterizadas por espectroscopia na região do UV-VIS, potencial zeta e MET (microscopia eletrônica de transmissão). Além disso, medidas periódicas de espectroscopia UV-VIS em uma mesma suspensão de AgNPs-MC foram realizadas, a fim de se verificar a estabilidade das mesmas. A citotoxicidade das AgNPs-MC e do extrato das sementes de MC frente a leucócitos foi avaliada empregando-se o método de exclusão com azul de Tripan[13]. A influência em eritrócitos humanos foi avaliada pela medida de sua resistência à hemólise em concentrações crescentes de soluções de NaCl[14].

Resultados e Discussão

O espectro UV-VIS das AgNPs-MC otimizadas mostrou uma única banda em 413 nm, correspondente ao efeito de ressonância plasmon de superfície, confirmando a presença de AgNPs em suspensão (Figura 1A). Observou-se que não ocorreram deslocamentos significativos da banda plasmônica no decorrer de 70 dias (Figura 1B), confirmando-se desta forma a estabilidade das suspensões sintetizadas. A imagem obtida por MET revelou que as AgNPs-MC sintetizadas possuem uma morfologia aproximadamente esférica (Figura 1C), com um tamanho médio de partícula igual a 17,3 ± 1,6 nm (Figura 1D). As AgNPs-MC apresentaram um valor de potencial zeta igual a -13,1 mV, o que denota que as mesmas são negativamente carregadas, devido a adsorção dos íons nitrato à superfície das AgNPs.

As AgNPs-MC e o extrato de MC não exibiram efeitos tóxicos para a membrana plasmática de leucócitos, mesmo após 3 horas de exposição. Além disso, observou-se que o tratamento de eritrócitos humanos com a AgNPs-MC e com o extrato não fragilizou a membrana plasmática dos mesmos. A ausência de efeitos tóxicos detectáveis em ambos os tipos de células sanguíneas consiste, portanto, em um importante tópico visando futuras aplicações biomédicas destas nanopartículas (Figura 2A). As propriedades hemocompatíveis da AgNPs-MC e do extrato de MC foram posteriormente avaliadas a partir da realização de ensaios de fragilidade osmótica em eritrócitos humanos. Um comportamento semelhante foi observado em relação à fragilidade dos eritrócitos após a incubação de sangue com AgNPs-MC, MC e água destilada (controle), não houve diferença significativa entre os eritrócitos

tratados em relação aos respectivos controles (água destilada) ($p > 0,05$). Isto sugere que o tratamento de eritrócitos com as amostras estudadas não desestabilizou sua membrana plasmática (Figura 2B).

Figura 1: (A) Espectro UV-VIS, **(B)** estudo de estabilidade, **(C)** imagem de TEM e **(D)** histograma de distribuição de tamanho das AgNPs-MC.

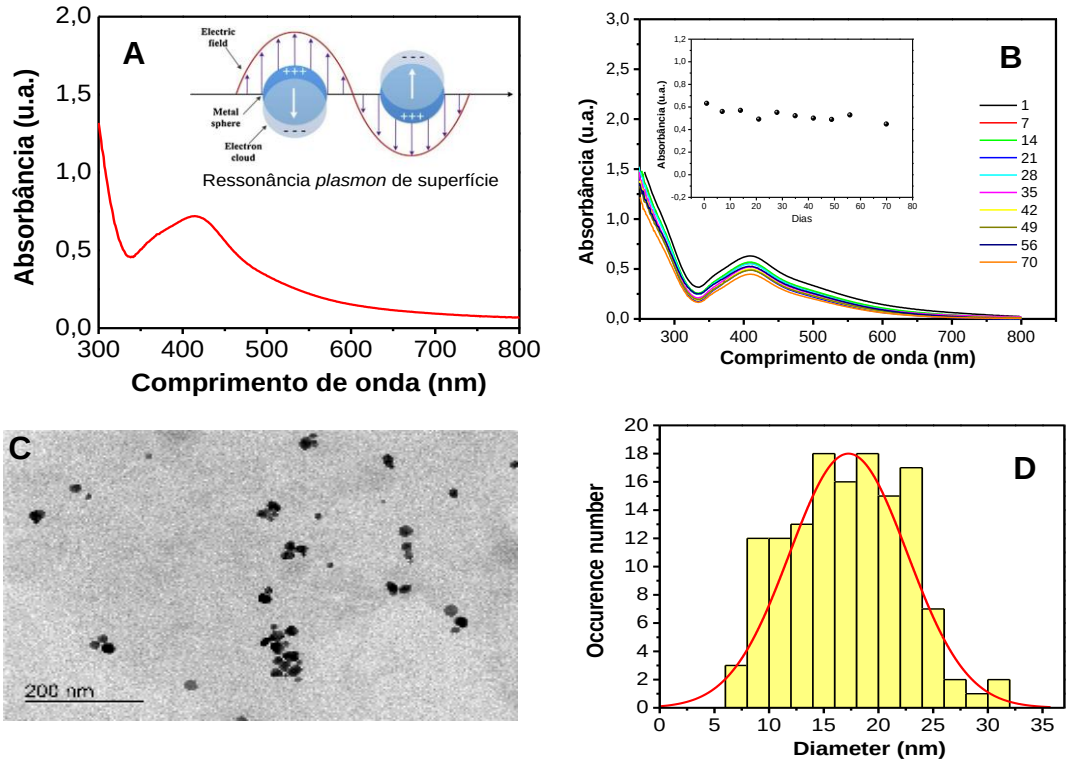
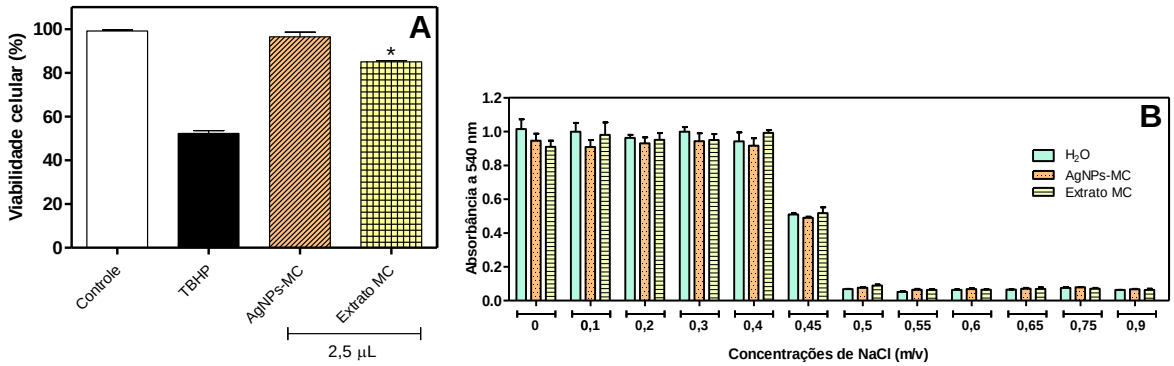


Figura 2: (A) Efeito de AgNPs-MC e do extrato de MC em leucócitos humanos, **(B)** efeito das AgNPs-MC e do extrato de MC na fragilidade osmótica dos eritrócitos.



Conclusão/ões

O extrato das sementes de *Myrciaria cauliflora* demonstrou ser um eficiente agente redutor e estabilizante para a formação das nanopartículas de prata, as quais apresentaram-se estáveis por ao menos 70 dias. As nanopartículas sintetizadas foram hemocompatíveis, uma vez que não apresentaram efeitos tóxicos detectáveis em ambos os tipos de células sanguíneas *in vitro*, possibilitando futuras aplicações biomédicas.

ISSN 1676-0093

Agradecimentos
À UEPG, ao GDEM e ao FNDE.

Referências
[1]KHARISSOVA, O. V.; DIAS, H. V. R.; KHARISOV, B. I.; PÉREZ, B. O.; PÉREZ, V. M. J. The greener synthesis of nanoparticles. **Trends in Biotechnology**, v. 31, n. 4, p. 240-248, 2013.
[2]KUMAR, S.; LATHER, V.; PANDITA, D. Green synthesis of therapeutic nanoparticles: an expanding horizon. **Nanomedicine**, v. 10, n. 15, 2451-2471, 2015.
[3]DUAN, H.; WANG, D.; LI, Y. Green chemistry for nanoparticle synthesis. **Chemical Society Reviews**, v. 44, p. 5778-5792, 2015.
[4]MITTAL, A. K.; CHISTI, Y.; BANERJEE, U. C. Synthesis of metallic nanoparticles using plan extracts. **Biotechnology Advances**, v. 31, p. 346-356, 2013.
[5]RAUWEL, P.; KÜÜNAL, S.; FERDOV, S.; RAUWEL, E. A Review on the green synthesis of silver nanoparticles and their morphologies studied via TEM. **Advances in Materials Science and Engineering**, v. 2015, article ID 682749, p. 1-9, 2015.
[6]AHMED, S.; AHMAD, M.; SWAMI, B. L.; IKRAM, S. A review on plants extract mediated synthesis of silver nanoparticles for antimicrobial applications: a green expertise. **Journal of Advanced Research**, v. 7, p. 17-28, 2016.
[7]WEI, L.; LU, J.; XU, H.; PATEL, A.; CHEN, Z.; CHEN, G. Silver nanoparticles: synthesis, properties, and therapeutic application. **Drug Discovery Today**, v. 20, n. 05, p. 595-601, 2015.
[8]SRIKAR, S. K.; GIRI, D. D.; PAL, D. B.; MISHRA, P. K.; UPADHYAY, S. N. Green synthesis of silver nanoparticles: a review. **Green and Sustanaible Chemistry**, v. 6, p. 34-56, 2016.
[9]PEREIRA, M. C. T.; SALOMÃO, L. C. C.; MOTA, W. F.; VIEIRA. G. Atributos físicos e químicos de frutos de oito clones de jabuticabeiras. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 22, p. 16-21, 2000.
[10]HACKE, A. C. M.; GRANATO, D.; MACIEL, L. G.; WEINERT, P. L.; PRADO-SILVA, L.; ALVARENGA, V. O.; SANT'ANA, A. S.; BATAGLION, G. A.; EBERLIN, M. N.; ROSSO, N. D. Jabuticaba (Myrciaria cauliflora) seeds: chemical characterization and extraction of antioxidant and antimicrobial compounds. **Journal of Food Science**, v. 81, n. 09, p. C2206-C2217, 2016.
[11]DHAND, V.; SOUMYA, L.; BHARADWAJ, S.; CHAKRA, S.; BHATT, D.; SRREDHAR, B. Green synthesis of silver nanoparticles using Coffea arabica seed extract and its antibacterial activity. **Materials Science and Engineering C**, v. 58, p. 36-43, 2016.
[12]SETT, A.; GADEWAR, M.; SHARMA, P.; DEKA, M.; BORA, U. Green synthesis of gold nanoparticles using aqueous extract of Dillenia indica. **Advances in Natural Sciences: Nanoscience and Nanotechnology**, v. 7, n. 02, 8 p., 2016.
[13]MISCHELL, B. B, SHIINGI, S. M., Selected Methods in Cellular Immunology, **WH Freeman Company**, New York, 1980.
[14]GODAL, H. C., HEISTO, H., High Prevalence of Increased Osmotic Fragility of Red Blood Cells among Norwegian Blood Donors, **Scand. J. Haematol**. v. 27, p. 30–34, 1981.