DESENVOLVIMENTO, CARACTERIZAÇÃO E ESTUDO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DE NANOPARTÍCULAS DE PRATA SINTETIZADAS PELO EXTRATO DE GRAVIOLA.

Bruna Horne Larocca (PIBIC/CNPq/UEPG), Josiane de Fátima Padilha de Paula (Orientador), e-mail: jopadilha@terra.com.br

Universidade Estadual de Ponta Grossa/ Departamento de Ciências Farmacêuticas.

Química e Química orgânica

Palavras-chave: Nanopartículas de prata, sementes de graviola, química verde.

Resumo

As nanopartículas de Prata (AgNPs) têm sido amplamente utilizadas e são conhecidas pelo seu potencial antimicrobiano. Assim, o objetivo deste trabalho foi a produção, desenvolvimento e caracterização de nanopartículas de prata, através da química verde, utilizando como agente redutor o extrato da polpa da graviola. Foram avaliados os aspectos morfológicos através microscopia eletrônica de varredura (SEM-FEG), o tamanho de partícula, índice de polidispersão e potencial zeta, das AgNPs.

Introdução

Nanopartículas de prata são aglomerados de átomos de prata de 1-100 nm em pelo menos uma dimensão. Devido às suas propriedades físicas e químicas únicas, as nanopratas são amplamente usadas em diversas áreas, com produção exponencialmente crescente. (LIU et al, 2012).

Annona muricata é conhecida como graviola e seus extratos foram caracterizados como antimicrobianos, anti-inflamatórios, antiprotozoários, antioxidantes e citotóxicos para células tumorais. (CORIA-TELLEZ et al, 2016). Duzentos e doze compostos foram encontrados em *A. muricata*. Os compostos predominantes são as acetogeninas, alcaloides e fenóis. (CORIA-TELLEZ et al, 2016).

Após a síntese das nanopartículas, é necessária a caracterização precisa das mesmas, porque as propriedades físico-químicas de uma partícula podem ter um impacto significativo sobre suas propriedades biológicas. Para avaliar os nanomateriais sintetizados, muitas técnicas analíticas têm sido utilizadas, incluindo espectroscopia de ultravioleta visível (UV-vis espectroscopia), espectroscopia de infravermelho por transformada de Fourier (FTIR), microscopia eletrônica de varredura (SEM). (XI-FENG ZHANG, ZHI-GUO LIU et al, 2016).

Material e Métodos

- Obtenção do Extrato:

Para obtenção do extrato da *Annona muricata* foram utilizados 60 gramas da polpa, obtida pelo despolpamento manual da fruta in natura e 60 mL de água destilada, O Extrato foi então filtrado e armazenado em geladeira, a 4°C a 8°C e utilizados como agentes de redução e agentes estabilizantes na síntese de nanopartícula de Prata.

- Síntese de Nanopartículas de Prata (AgNPs):

Para síntese da nanopartícula de Prata, foi preparada uma solução aquosa de nitrato de prata a 1mM ($AgNO_3$). Na sequência, em um erlenmeyer foram colocados 15 mL da uma solução de nitrato de prata a 0,01M, sob agitação magnética. A essa solução, foram adicionadas 15 mL do extrato obtido da polpa da *Annona muricata*, gota a gota, com o auxílio de uma bureta. A mistura resultante permaneceu sob agitação por 4 horas, em temperatura ambiente.

A formação de nanopartículas de prata foi ainda confirmada por análise no espectrofotômetro UV-Vis. A solução foi, então, armazenada em um frasco âmbar a uma temperatura de 4 a 8°C para manutenção da estabilidade.

- *Caracterização das Nanopartículas:*

A caracterização foi realizada por Análise por espectroscopia UV-vis, Determinação de diâmetro médio e potencial Zeta, Microscopia Eletrônica de varredura com efeito de emissão do campo (SEM-FEG) e Espectroscopia de infravermelho por transformada de Fourier (FTIR).

Resultados e Discussão

As nanopartículas de prata foram produzidas pelo método de síntese verde, através da redução da prata iônica pelo extrato da polpa da graviola. Foi possível observar, após 1 hora, a mudança de cor incolor para amarelo acastanhado coloidal, significando redução completa do $AgNO_3$ para Ag^0. A formação de nanopartícula de prata foi ainda confirmada por análise no espectrofotômetro UV-vis. A solução foi, então, armazenada em um frasco âmbar a uma temperatura de 4 a 8°C para manutenção da estabilidade.

O aparecimento de cor no decorrer da reação ocorre devido à excitação de vibrações de plasmon de superfície e a absorção no comprimento de onda entre 400 e 500 nm representa a identificação espectroscópica da formação de AgNPs (ASHRAF et al., 2016; CRUZ et al., 2012).

- *Análise por espectroscopia UV-vis*:

Foi possível observar, a presença de uma banda pequena em torno de 420 nm nas amostras coletadas após 1h, 2h, 3h e 4h. As bandas na faixa de 400-500 nm é indicativo da forma esférica das AgNPs.

- Determinação do diâmetro médio e potencial Zeta**:**

O potencial zeta reflete o potencial de superfície das partículas, o qual é influenciado pelas mudanças na interface com o meio dispersante, em razão da dissociação de grupos funcionais na superfície da partícula ou da adsorção de espécies iônicas presentes no meio aquoso de dispersão (SCHAFFAZICK et.al, 2003). É uma medida da carga líquida da superfície da partícula e indica o potencial necessário para penetrar na camada de íons em torno da partícula para desestabilizar. Portanto, o PZ, é a potência eletrostática entre a separação das camadas vizinhas da partícula (SANDOVAL et al., 2003).

O índice de polidispersão (IPD) apresentou valores acima de 0,9, indicando que o sistema formado é polidisperso, uma vez que o IPD fornece informações sobre a homogeneidade da distribuição dos tamanhos. Um IPD igual a 1 indica grandes variações no tamanho da partícula, enquanto que um valor próximo de 0 indica uma população de partículas monodispersas (LACATUSU et al., 2012).

Os valores do potencial zeta das AgNPs variaram de |20,5| a |25,8| mV. De acordo com Neves et al. (2013), as partículas podem ser consideradas estáveis quando o valor absoluto do PZ é próximo de |30| mV.

Os resultados do diâmetro médio das AgNPs apresentam tamanhos entre 1014 a 1899 nm, confirmando que o material é polidisperso.

- Microscopia Eletrônica de varredura com emissão do compo (FEG):

As nanopartículas de Prata sintetizadas a partir da polpa da graviola possuem características morfológicas amorfos, tendendo ao esférico. Foi possível observar, ainda, que as nanopartículas estão aglomeradas. As medidas dos tamanhos das AgNPs individuais são feitas pelo software do equipamento, os tamanhos variam de 52,86 a 61,72 nm, nas amostras coletadas após 3h e 4h, respectivamente.

- Infravermelho:

O FTIR permite caracterizar os grupos funcionais que poderiam estar envolvidos na síntese das nanopartículas. Foi observado que não houve mudança no perfil, não houve nenhuma interação diferente para formação de novas bandas, de um novo grupo. Todos os grupos anteriores foram mantidos significando que o extrato da graviola está presente na nanopartícula, pois todas as bandas permaneceram.

Conclusão/ões

O método de síntese verde com o extrato da polpa da graviola se mostrou de fácil execução.

Através da caracterização pela espectroscopia de UV-vis é possível observar a banda de plasmon, formação da banda em 420 nm, característico da formação de nanopartícula de prata. É possível concluir também que não houve diferença na espectroscopia de UV-vis quanto ao tempo de agitação, pois com a retirada das amostras de 1h, 2h, 3h e 4h foi observado a formação da mesma banda.

A espectroscopia de FTIR demostrou que não houve mudança no perfil, que todos os grupos anteriores foram mantidos significando que o extrato da graviola está presente na nanopartícula.

Através do SEM-FEG, é possível que o tamanho da partícula está apropriado, entre 52 e 62 nm e com estruturas amorfas e polidispersas. E através do Zetasizer, é possível observar que o potencial zeta está variando de -20,5 a -25,8 mV.

Podemos concluir que tamanho real das nanopartículas são observadas pelo SEM-FEG porem elas estão aglutinadas e por estarem desta forma, quando lemos no zeta que é por dispersão de luz ele interpreta a aglutinação e ocorre essa diferença dos valores entre o SEM-FEG e o Zetasizer.

Agradecimentos

Agradeço, aos familiares e ao namorado. À minha orientadora, Prof. Dra. Josiane de Fátima Padilha de Paula. À minha co-orientadora, Danielle Priscila da Silva Fardin Assunção. Ao Complexo de Laboratórios Multiusuários, da Universidade Estadual de Ponta Grossa. Á Fundação Araucária.

Referências

ASHRAF, J. M. et al. Green synthesis of silver nanoparticles and characterization of their inhibitory effects on AGEs formation using biophysical techniques. Scientific Reports, v. 6, n. February, p. 20414, 2016.

CORIA-TELLEZ, A. V. et al. Annona muricata: A comprehensive review on its traditional medicinal uses, phytochemicals, pharmacological activities, mechanisms of action and toxicity. Arabian Journal of Chemistry, january 2016.

CRUZ, D. A. et al. Nanopartículas metálicas y plasmones de superficie: Una relación profunda. Avances en Ciencias e Ingeniería, v. 3, n. 2, p. 67–78, 2012.

LACATUSU, I. et al. Novel bio-active lipid nanocarriers for the stabilization and sustained release of sitosterol. Nanotechnology, v. 23, n. 45, p. 455702, 2012.

LIU, J. et al. Methods for separation, identification, characterization and quantification of silver nanoparticles. TrAC Trends in Analytical Chemistry, v. 33, p. 95–106, 2012.

SANDOVAL, L. Y. et al. Potencial zeta como una herramienta para determinar la aglomeración de las nanopartículas en la reducción del volumen del lodo a disponer. México: [s.n.]. Disponível em: <www.bvsde.paho.org/bvsaidis/tratagua/mexicona/R-0150.pdf>.

SCHAFFAZICK, S.R. et.al. Caracterização e estabilidade físico-química de sistemas poliméricos nanoparticulados para administração de fármacos. Química Nova, v.26 n.5 São Paulo set./out. 2003.

ZHANG, X. e LIU, Z. et al. Silver Nanoparticles: Synthesis, Characterization, Properties, Applications, and Therapeutic Approaches. International Journal of Molecular Sciences, set 2016.