SÍNTESE, CARACTERIZAÇÃO E ESTUDO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DE NANOPARTÍCULAS DE PRATA OBTIDAS POR SÍNTESE VERDE.

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

Universidade Estadual de Ponta Grossa/ Departamento de Ciências Farmacêuticas.

UEPG

Química e Química orgânica

Palavras-chave: Nanopartículas de prata, sementes de uvas, 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 com exposição à luz, utilizando como agente redutor o extrato das cascas, das polpas e das sementes de uvas. 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

Devido ao aumento significativo da resistência de microorganismos a ação de drogas, especialmente antibióticos, é importante procurar outros agentes bactericidas. (MUKHA et al., 2013). Nanopartículas de Prata (AgNPs) têm sido amplamente utilizadas em uma variedade de aplicações biológicas, tais como antibacterianos. (GUO et al., 2015). Nanopartícula de Prata representam um amplo espectro de atividade antimicrobiana, e pode matar tanto Bactérias Gram-positivas e Gram-negativas, por exemplo, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Staphylococcus aureus*. (LIU et al,2012). Em baixas concentrações a prata é segura para o organismo humano (Concentração de Prevenção da Mutação de 0,05 mg/L). (MUKHA et al., 2013).

Curiosamente, as AgNPs preparadas biologicamente apresentam alto rendimento, solubilidade e alta estabilidade. Entre vários métodos sintéticos para AgNPs, os métodos biológicos parecem ser simples, rápidos, não tóxicos, confiáveis e verdes. (XI-FENG ZHANG, ZHI-GUO LIU et al, 2016).

Materiais e Métodos

- Obtenção do Extrato:

As uvas Niágara colhidas maduras foram lavadas cuidadosamente com água da torneira para remover toda sujidade, depois foram secas com o auxílio do papel toalha. Em seguida, ocorreu o processo de separação da casca, da polpa e da semente, manualmente. Posteriormente, a casca e a polpa foram processadas separadas, com ajuda de um ultra processador da marca Philco, durante 2 minutos, na potência mínima. A casca processada gerou em torno de 100 mL enquanto que a

polpa gerou em média 400 mL. Ambos os extratos foram armazenados 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 1 mol/L ($AgNO_3$). Em seguida, 5 mL de extrato puro da casca ou da semente ou da polpa da uva foram adicionados a 45 mL de solução aquosa de $AgNO_3$ 1 mol/L. Posteriormente, a mistura foi separada em dois béqueres, no qual cada uma continha 25 mL, uma das misturas foi exposta a luz e a outra protegida.

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 e fotorredução, através da redução da prata iônica pelo extrato da casca, da polpa e da semente da uva. Foi possível observar, após 20 minutos, a mudança de cor incolor para amarelo acastanhado coloidal, significando redução completa do $AgNO_3$ para Ag^0, porem foi observado tal mudança no frasco que foi submetido a luz. 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:

A redução completa do $AgNO_3$ para Ag^0 foi analisada por meio de espectrofotômetro UV-VIS NIR VARIAN CARY 50. Foi possível observar a presença de uma banda pequena em torno de 410 nm nas amostras que continham extrato da semente da uva, deixados na presença da luz. Foi possível observar a presença de uma banda pequena em torno de 523 nm nas amostras que continham extrato da casca da uva, deixados na presença da luz. Não foi possível observar a presença de bandas nas amostras que continham extrato da polpa da uva. As bandas na faixa de 400-500 nm é indicativo da forma esférica das AgNPs.

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

O tamanho das nanopartículas e índice de polidispersão (IPD) foram realizadas utilizando um aparelho Zetasizer Nano series ZS90 (MALVERN INSTRUMENTS, Worcestershire, Reino Unido) com ângulo de detecção de 20°C. O índice de polidispersão (IPD) apresentou valores acima de 0,5, 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 |15,2| a |34,1| 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 39,38 a 376,6 nm, confirmando que o material é polidisperso.

- Microscopia Eletrônica de varredura com efeito de emissão do campo (SEM-FEG):

A avalição morfológica e da superfície das nanopartículas foi realizada em microscópio eletrônico de varredura com emissão de campo MYRA 3 LMH (TESCAN, Brno, República Tcheca). Através do equipamento SC7620 mini sputter Coater as amostras foram metalizadas com ouro. As amostras foram visualizadas empregando voltagens de aceleração entre 10 e 25 kV e as micrografias obtidas.

As nanopartículas de Prata sintetizadas a partir da casca, da polpa e da semente da uva possuem aspecto amorfo, tendendo ao esférico. Foi possível observar, que as nanopartículas estão aglomeradas. As medidas dos tamanhos das AgNPs individuais foram feitas pelo software do equipamento, os tamanhos variam de 44 a 77 nm.

- Espectroscopia de infravermelho por transformada de Fourier (FTIR):

Leitura realizada no equipamento IRPrestige-21 (SHIMADZU, Quito, Japão), com parâmetros de 32 scans.min^{-1} e resolução de 4 cm^{-1}, considerando a faixa experimental de interesse de 4000-400 ondas.cm^{-1}; e leitura de referência com pastilha de KBr puro, como linha de base.

O FTIR permitiu caracterizar os grupos funcionais que poderiam estar envolvidos na síntese das Nanopartículas. Foi observado três regiões, pertinente a semente, em que as intensidades das bandas foram reduzidas em 3410, 1616 e 1048 cm^{-1}, correspondentes a ligações do tipo O-H, C=O e C-O respectivamente. Foi observado duas regiões, pertinentes a casca, em que as intensidades das bandas foram reduzidas em 3370 e 1060 cm^{-1}, correspondentes a ligações do tipo O-H e C-O respectivamente.

Conclusões

O método de síntese verde com o extrato da casca, da polpa e da semente da uva na presença da luz apresentou baixo impacto ao meio ambiente e se mostrou de fácil execução.

Através da caracterização pela espectroscopia de UV-vis é possível observar a banda de plasmon, característico da formação de nanopartícula de prata, com exceção a nanopartícula da polpa. A espectroscopia de FTIR demostrou a possível presença dos grupos funcionais que estão relacionados com a redução da prata iônica.

O tempo de 1h 30 mim de exposição à luz foi o mais adequado para a obtenção das AgNPs da semente e o tempo de 1h e 10 min de exposição à luz foi o mais adequado para a obtenção das AgNPs da casca. Possuem tamanhos apropriados entre 40 e 70 nm observados no SEM-FEG, polidispersas e com potencial zeta variando de -18,10 a -31,8 mV.

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.

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.

GUO, D. et al. Colloidal silver nanoparticles improve anti-leukemic drug efficacy via amplification of oxidative stress. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces, v. 126, p. 198–203, 2015.

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.

MUKHA, I. P. et al. Antimicrobial activity of stable silver nanoparticles of a certain size. Applied Biochemistry and Microbiology, v. 49, n. 2, p. 199–206, 2013.

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