

PRODUÇÃO DE NANOPARTICULAS METÁLICAS MEDIADAS POR EXTRATOS VEGETAIS DE *Myrciaria Dubia* (CAMU-CAMU)

Jhennifer Nalissa Martins Guedes – UFAM/ICET
Gustavo Frigi Perotti – UFAM/ICET

E-mail para contato: jnalissa37@gmail.com

Agência Financiadora: FAPEAM

Eixo Temático: Ciências Exatas e da Terra

Categoria: Comunicação Oral

RESUMO

Nos últimos anos, o desenvolvimento de métodos de Química Verde eficientes para a síntese de nanopartículas metálicas tornou-se um grande foco para pesquisadores, bem como a caracterização desses materiais produzidos. Este trabalho objetivou estudar e produzir nanopartículas de prata mediadas por extrato vegetal sem a adição de qualquer outro constituinte para sua estabilização no meio reacional. Nesse estudo foram analisados os métodos de síntese mediados pela redução dos íons prata por ácido ascórbico e outras biomoléculas presente no extrato vegetal do fruto camu-camu (*Myrciaria dubia*), buscando sua reprodutibilidade quanto às condições de síntese utilizadas. Foram obtidas dispersões coloidais de nanopartículas de prata variando condições de síntese, como tempo de reação, concentração de reagentes e temperatura, e foi acompanhado o progresso da reação através dos resultados da espectroscopia UV-visível. O estudo mostrou que o extrato de camu-camu, como agente redutor, é capaz de reduzir os íons prata para gerar nanopartículas em meio aquoso. Somando-se a isso, compreende-se que diferentes parâmetros de reação, como concentrações dos extratos e a temperatura do meio a influenciam diretamente, podendo o extrato, em concentrações elevadas, diminuir a cinética de reação e ocasionar um decréscimo na taxa de formação das partículas. Adicionalmente, há uma redução na absorbância máxima detectada de maneira progressiva quando se eleva a temperatura do meio de reação, tornando a capacidade de redução do extrato menor em virtude da degradação das biomoléculas.

Palavras-chave: Nanotecnologia. Química verde. *Myrciaria dubia* (camu-camu).

1. INTRODUÇÃO

O campo da nanotecnologia é uma das áreas mais ativas de pesquisa em ciência de matérias modernas (AHMED et al., 2016). As nanopartículas se destacam por exibirem propriedades inovadoras baseadas em particularidades, como tamanho, distribuição e morfologia (FRACASSETTI et al., 2013). Desse modo, a nanotecnologia é uma ciência que tem habilidade de criar, controlar e manipular objetos na escala entre 0,1 nm a 100 nm (MOHANRAJ; CHEN, 2006). Nessa escala reduzida, a maior parte da massa da partícula se concentra próxima a sua superfície e com isso, a razão entre a área

superficial da partícula e seu volume é muito elevada (MOHANRAJ; CHEN, 2006). Essa propriedade admite que uma pequena quantidade de nanopartículas tenha área superficial de milhares de m^2 por grama de sólido (AHMED et al., 2016), no qual a finalidade da nanotecnologia é fundamentada na manipulação de átomos, moléculas e demais partículas de grandeza nanométrica com o objetivo de criar novas estruturas ou melhorar os materiais e, com isso, alcançar diferentes propriedades (SOLOMON et al., 2007). Recentes avanços na nanotecnologia permitiram a produção de prata metálica como nanopartículas, as quais são mais eficientes do que os íons prata, já que carecem de menores concentrações para operarem de forma eficiente (DURAN; MARCATO, 2010). Entre os diversos tipos de nanomateriais, as nanopartículas de prata ocupam lugar de destaque nos quesitos desinfetantes e antissépticos (AHMED et al., 2016).

A síntese verde de AgNP emprega produtos extraídos da natureza como uma rota sustentável e alternativa à métodos químicos tradicionais, empregando solventes não tóxicos com intuito de reduzir os riscos químicos ao ambiente (BRIGGER; DUBERNET; COUVREUR, 2002), o que difere das rotas convencionais que fazem uso de agentes redutores e estabilizantes potencialmente nocivos (IRAVANI, 2011). Diversas pesquisas nessa área têm utilizado extratos vegetais como agentes mediadores da redução da prata catiônica em solução em virtude de sua composição fitoquímica complexa, compreendida por aminoácidos, flavonoides e polissacarídeos que permitem uma reação consideravelmente reprodutível com espécies metálicas (SCHAUSS et al., 2006). Nesse aspecto, o uso de extratos vegetais apresenta uma grande flexibilidade frente à rota química convencional, uma vez que a composição fitoquímica do extrato, por ser constituída por biomoléculas que são capazes de reduzir os íons metálicos e estabilizar a superfície das partículas em uma única etapa de síntese, indica que não existe a necessidade da inserção de qualquer outro constituinte para promover a redução dos íons Ag^+ e estabilizar as nanopartículas produzidas (AHMED et al., 2016). Seu tamanho reduzido ainda permite que tais partículas tenham interações intensificadas com outras substâncias, principalmente em sistemas biológicos (THAKKAR; MHATRE; PARIKH, 2010). Por essa razão, são capazes de interagir de forma não destrutivo com o DNA e de permear membranas celulares e, deste modo, vislumbra-se uma ampla gama de potenciais aplicações médicas (THAKKAR; MHATRE; PARIKH, 2010).

Os processos de preparação tradicionais envolvem geralmente o uso de agentes redutores, tais como citrato de sódio, boridreto de sódio, hidrazinas, formaldeídos, hidroxilaminas, álcoois saturados e insaturados e açúcares (ANDREESCU; KUMAR; GOIA, 2006). Dentre os açúcares, o ácido ascórbico produz as nanopartículas mais

estáveis devido à sua forte ação redutora (ANDREESCU; KUMAR; GOIA, 2006). Sabendo-se da grande biodiversidade existente na bacia Amazônica e, voltando para um olhar ao qual se faz enaltecer frutos pouco visionados, destaca-se a potencialidade do camu-camu (*Myrciaria dubia*) (ANASTAS; EGHBALI, 2010), que cresce em áreas sujeitas a inundações periódicas, o que o torna economicamente importante para a região, porque essas áreas são geralmente consideradas inadequadas para outros cultivos (RODRIGUES et al., 2001). Nesse contexto, tem-se investigado como os diferentes métodos de preparação da síntese, a natureza do meio reacional e como a interação metal-extrato afetam o tamanho e a forma das nanopartículas visando a aumentar a estabilidade dos coloides formados e, por consequência, a gama de aplicações.

O objetivo deste presente trabalho foi obter nanopartículas de prata através da síntese mediada por extratos de camu-camu obtidos em diferentes condições de reação. Especificamente, foram feitas obtenções dos extratos de camu-camu e sua caracterização por espectroscopia eletrônica UV-vis, assim como o monitoramento do progresso de síntese das nanopartículas pela mesma técnica. Após monitoramento, estudou-se o efeito de diferentes parâmetros de reação (tempo de reação, quantidades de Ag^+ e extratos vegetais e temperatura do meio de reação) na síntese das nanopartículas, também monitorados por espectroscopia eletrônica UV-vis.

2. METODOLOGIA

Os extratos de camu-camu foram obtidos através de frutos coletados no município de Silves-AM. Após a retirada da semente, o material restante foi disperso em água com auxílio de liquidificador. Em seguida, os extratos foram filtrados e centrifugados para a remoção de particulados remanescente e acondicionados em geladeira para a produção das nanopartículas. Os extratos de camu-camu usados na mediação da formação das nanopartículas foram preparados com auxílio das leituras obtidas por espectrofotômetro UV-vis. Através de processos de diluição foi monitorada a banda em 265 nm referente ao máximo de absorção do ácido ascórbico, (TÓTH; KUKOR; VALENT, 2002) de forma que a solução produzida tenha sempre inicialmente absorvância igual ou próxima de 1,0 u.a.

A solução de nitrato de prata (Laderquímica) $0,1 \text{ mmol L}^{-1}$ foi preparada e posteriormente os testes foram realizados usando três diferentes volumes na relação água:extrato de camu-camu nas proporções de 1:1, 1:2 e 1:4 e adicionados a 50 mL de solução de nitrato de prata, de modo a totalizar sempre um volume de 55 mL de mistura reacional. A evolução na produção das nanopartículas foi acompanhada pela técnica da espectroscopia eletrônica no UV-vis (Quimis), através do monitoramento da banda

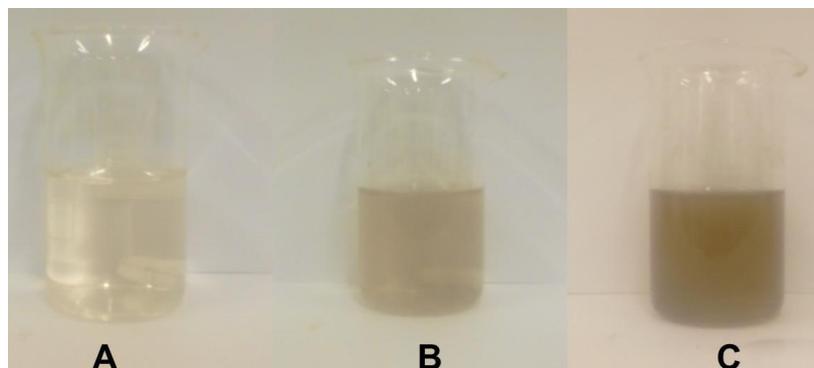
associada à ressonância de *plasmon* de superfície, localizada próximo a 440 nm. (PRATHNA et. al., 2011). Foram retiradas alíquotas de 5 em 5 minutos para acompanhamento na evolução da reação por um período de 30 minutos, após o início do contato entre as soluções. Em seguida, se fez o monitoramento nos intervalos de 30 em 30 minutos nas primeiras 4 horas de acompanhamento na evolução da reação. Posteriormente a esta primeira etapa de acompanhamento, o monitoramento na evolução da reação foi feito de 12 em 12 horas desde o seu início, totalizando uma investigação de 96 horas (4 dias) de análises na espectroscopia eletrônica UV-vis, sendo que a reação foi agitada constantemente nas primeiras 24 horas. Após esse período, a solução foi armazenada em um refrigerador. O impacto da temperatura na formação das nanopartículas de prata também foi investigado empregando os mesmos parâmetros de acompanhamento de síntese pela espectroscopia UV-vis mencionados previamente para a condição de diluição de extrato de camu-camu 1:4 nas temperaturas de 40 e 50 °C, além da temperatura ambiente.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A ressonância plasmônica é influenciada por condições que rodeiam a partícula, como o tipo de ligante, solvente e geometria. Desse modo, sabe-se que as nanopartículas de prata apresentam coloração marrom-amarelada em solução aquosa devido à ressonância dos *plasmons* de superfície das nanopartículas de prata (SHANKAR et al., 2004). Com isso, conclui-se que a mudança de coloração do meio reacional é um indicativo da formação de um sistema nanoparticulado (EUSTIS; EL-SAYED, 2006). Com o aumento do tamanho das partículas de prata, a dispersão coloidal passou de uma forma quase incolor para tom de marrom devido à redução dos íons prata pelo ácido ascórbico (Figura 1), que indicou formação de nanopartículas de prata até atingir a coloração característica da prata em escala macroscópica (JUNIOR et al., 2012).

Segundo Jin et al. (2001), uma suspensão de Ag⁰ totalmente livre de aglomerados deve ter uma coloração amarela mais clara. De acordo com estudos anteriores realizados por outros autores, dispersões com alta concentração de aglomerados se apresentavam bastante turvas, o que pode justificar a coloração bastante escura, conforme mostrado na Figura 1 (C). É geralmente reconhecido que a espectroscopia UV-vis pode ser usada para examinar nanopartículas controladas por tamanho e forma em suspensões aquosas (WILEY et al., 2006).

Figura 1 - (A) Extrato de Camu-camu e solução $0,1 \text{ mmol L}^{-1}$ de AgNO_3 após 4 h de reação; (B) Extrato de Camu-camu e solução $0,1 \text{ mmol L}^{-1}$ de AgNO_3 após 12 h de reação; (C) Extrato de Camu-camu e solução $0,1 \text{ mmol L}^{-1}$ de AgNO_3 após 96 h de reação.

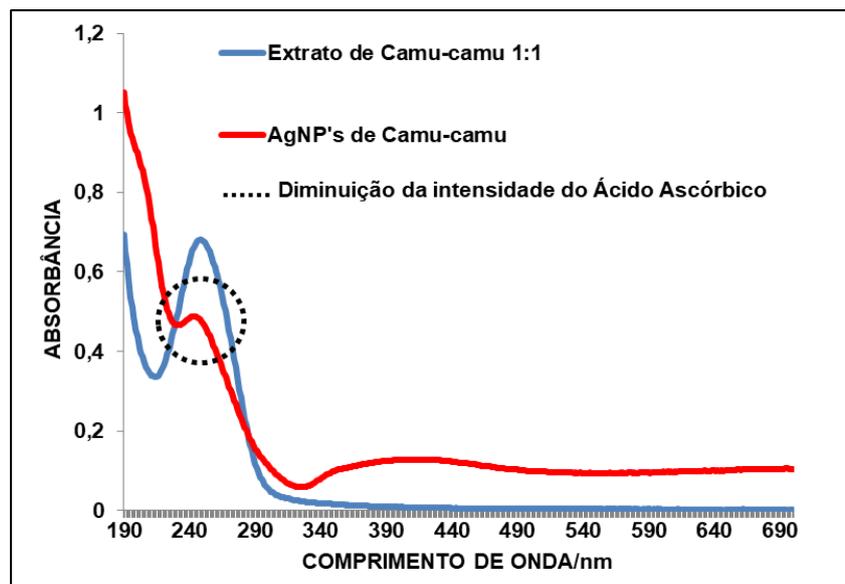


Fonte: A Autora (2019).

A Figura 2 mostra o gráfico com dois espectros de UV-vis registrados a partir da solução de extratos de camu-camu, diluído com a proporção 1:1 (água:extrato) usada na síntese das nanopartículas e também o espectro das nanopartículas de prata mediadas pelo extrato vegetal. A literatura mostra que o ácido ascórbico apresenta uma banda característica em 265 nm, sendo confirmada dessa forma pelo espectro apresentado. Conforme mostra a linha em vermelho na Figura 2, é possível também observar que, com o progresso da reação, a banda em 265 nm tem a sua intensidade diminuída após o contato com a solução de nitrato de prata, indicando a existência de uma transformação química envolvendo esse constituinte presente no extrato vegetal e a prata catiônica.

Assim como a literatura especifica a banda para o ácido ascórbico, também há uma banda característica para a identificação das nanopartículas de prata em dispersão. Os espectros eletrônicos das nanopartículas de prata formadas nos meios de reação têm uma banda em 440 nm e a presença de um sinal alargado nessa região como mostrado na Figura 2, indicando polidispersividade no tamanho dessas nanoestruturas (SWIHART, 2003). A agregação pode ser também provocada pela grande quantidade de AgNO_3 em relação ao extrato, aumentando a força iônica do meio e como consequência, acarretam em uma interação maior entre as partículas (SOLOMON et al., 2007).

Figura 2 - Espectros de UV-Vis registrados para o extrato de camu-camu 1:1 (azul) e das nanopartículas de prata formadas usando extrato de camu-camu 1:1 (vermelho).

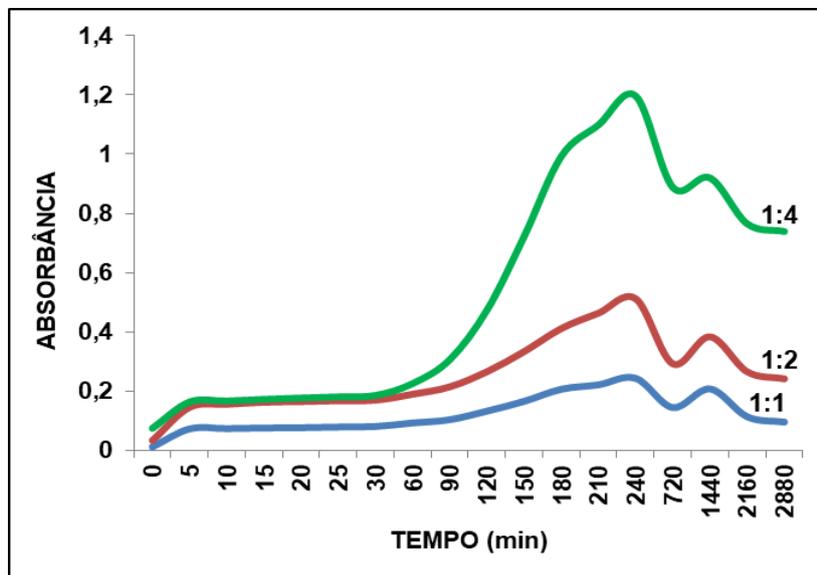


Através das informações obtidas pelo gráfico da Figura 2, acompanhou-se o progresso da reação através do sinal de absorbância em 440 nm durante diferentes períodos de reação através do contato entre o nitrato de prata e os extratos vegetais nas condições de diluição (1:1), (1:2) e (1:4). Nesse caso, utilizou-se como valor inicial de absorbância (tempo = 0) a mistura de 5 mL de extrato vegetal e 50 mL de água destilada. Os valores coletados de absorbância durante o procedimento de formação das nanopartículas de prata foram subtraídos do valor inicial e geraram a Figura 3.

Pode-se verificar que os espectros apresentam dois picos em cada curva, sendo que em todas as condições estudadas a taxa de formação das AgNPs é baixa até o tempo de 90 minutos de reação. Após esse período, a taxa de formação das AgNPs aumenta significativamente, onde o primeiro pico pode ser observado no tempo de 240 min, sofrendo uma diminuição na sua intensidade após 720 min e aumentando novamente no tempo de 1440 min. Em virtude da aceleração da velocidade da reação de redução da prata, acredita-se que a reação de estabilização da superfície das nanopartículas não ocorra com a mesma velocidade, fazendo com que ocorra a agregação das partículas em suspensão em períodos de tempo acima de 4 h (240 min), conforme atestado pela redução do sinal de ressonância do *plasmon* de superfície em todas as condições (QIN et al., 2010). O decréscimo na absorbância, predominantemente relacionado à saída das nanopartículas da forma de suspensão para a forma de

precipitado, é evidenciado pela deposição de partículas de cor cinza escuro no fundo do recipiente contendo a mistura.

Figura 3 - Espectros eletrônicos das diferentes condições de diluição de extrato de camu-camu para síntese das AgNPs em temperatura ambiente.



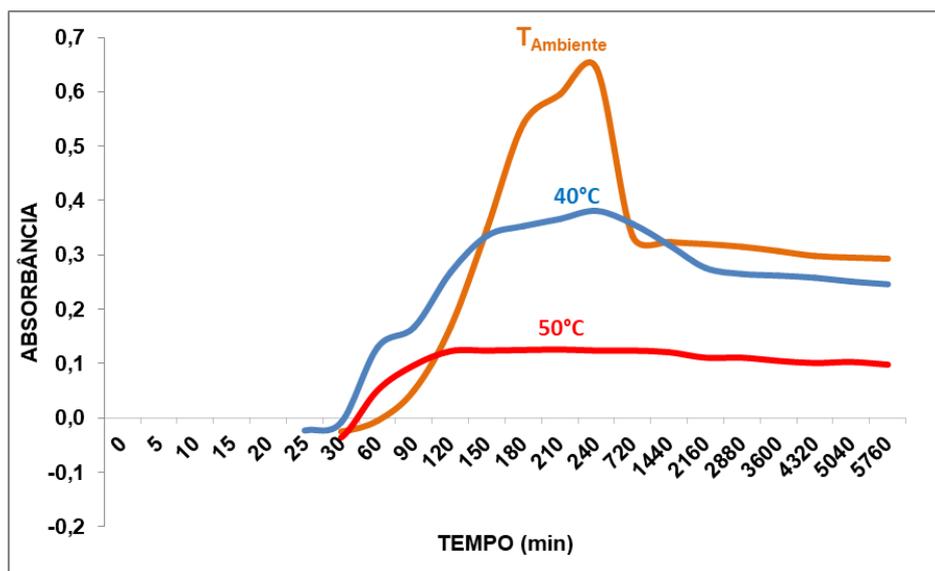
Fonte: A Autora (2019).

Nesses resultados, observa-se também um efeito negativo no aumento da concentração do extrato na produção das AgNPs. Em virtude da alta concentração de ácido ascórbico presente no camu-camu, o pH inicial do extrato vegetal é abaixo de 4 e por essa razão, é capaz de diminuir a reatividade dessa espécie (QIN et al., 2010) e dessa forma, causar um decréscimo na taxa de produção das nanopartículas. Adicionalmente, de acordo com Sondi et al. (2003), a equação química que representa o processo de redução da prata pelo ácido ascórbico e com formação do ácido desidroascórbico ($\text{C}_6\text{H}_6\text{O}_6$) pode ser descrita como:



Apesar de um aumento na quantidade de ácido ascórbico causar um deslocamento do equilíbrio químico para a formação de produtos, conforme previsto pelo princípio de Le Chateliêr, a presença de um meio significativamente ácido também é capaz de deslocar o equilíbrio químico na direção dos reagentes, causando uma diminuição na quantidade de nanopartículas formadas (PRIS, 2014). A partir desses resultados deu-se início ao estudo da influência da temperatura na produção de AgNPs com os mesmos parâmetros para a produção de nanopartículas iniciais.

Figura 4 - Influência da temperatura na produção de AgNPs empregando extrato de camu-camu na diluição 1:4.



Fonte: A Autora (2019).

Em virtude da apresentação de melhores resultados para a condição de extrato 1:4 na síntese de AgNPs, replicou-se as condições dessa síntese, alterando-se os valores de temperatura para 40 e 50 °C. Os dados coletados e plotados no gráfico da Figura 4 revelam um efeito prejudicial do aumento da temperatura na formação das nanopartículas de prata. Embora se possa pensar que o aumento na temperatura influencie diretamente no aumento da velocidade de reação por aumentar a energia cinética dos reagentes, antecipando o aumento da absorbância para tempos de reação mais baixos, há uma redução na absorbância máxima detectada de maneira progressiva quando se eleva a temperatura. Tal efeito pode estar relacionado intimamente com a conversão do ácido ascórbico em ácido desidroascórbico (MUNYAKA et al., 2010), a forma oxidada da primeira espécie e que possui capacidade de redução muito menor.

4. CONSIDERAÇÕES FINAIS

O estudo mostrou que o extrato de camu-camu como agente redutor é viável para a redução dos íons prata na produção das nanopartículas em meio aquoso, de modo que em diferentes concentrações a reação é diretamente influenciada, podendo esta, em concentrações elevadas diminuir a reatividade da espécie, ocasionando decréscimo no crescimento das partículas. Outra característica da reação também foi notada em todas as concentrações testadas foi a lenta taxa de formação das AgNPs no início da reação que cresceu significativamente após 90 min de reação em todas as ocasiões, o que torna a possibilidade do processo estabilização das nanopartículas pelo revestimento de suas superfícies recém-criadas por biomoléculas do extrato ser mais lento do que a taxa

formação das nanopartículas em tempos de reação mais elevados. O outro parâmetro testado foi a influência da temperatura, a qual se elevada impacta de modo negativo o progresso de formação das nanopartículas, tendo o extrato um efeito de redução muito menor do que em temperatura ambiente por converter o ácido ascórbico, principal agente redutor presente no extrato de camu-camu, em outras espécies menos reativas

REFERÊNCIAS

- AHMED, S. et al. A Review on Plants Extract Mediated Synthesis of Silver Nanoparticles for Antimicrobial Applications: A Green Expertise. **Journal of Advanced Research**, v.7, n.1, p. 17-28, 2016.
- ANASTAS, P.; EGHBALI, N. Green Chemistry: Principles and Practice. **Chemical Society Reviews**, v.39, n. 1, p. 301-312, 2010.
- ANDREESCU, D.; KUMAR, T.; GOIA, D. V. Stabilizer-free nanosized gold sols. **Journal of Colloid and Interface Science**, v.298, n. 21, p.742-751, 2006.
- BRIGGER, I.; DUBERNET, C.; COUVREUR, P. Nanoparticles in Cancer Therapy and Diagnosis. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v.54, n. 39, p.631-651, 2002.
- DURAN, N. et al. Potential Use of Silver Nanoparticles on Pathogenic Bacteria, their Toxicity and Possible Mechanisms of Action. **Journal of Brazilian Chemical Society**, v.21, n.6, p. 949-959, 2010.
- EUSTIS, S.; EL-SAYED, M. A. Why Gold Nanoparticles are more precious than pretty gold: Noble metal Surface Plasmon resonance and its enhancement of the radiative and nonradiative properties of nanocrystals of different shapes. **Chemical Society Reviews**, v.35, n.2, p. 209-217, 2006.
- FRACASSETTI, D. et al. Ellagic acid derivatives, Ellagitannins, Proanthocyanidins and Other Phenolics, Vitamin C and Antioxidant Capacity of two Powder Products from Camu-camu Fruit (*Myrciaria dubia*). **Food Chemistry**, v.139, n. 3, p. 578-588, 2013.
- IRAVANI, S. Green synthesis of metal nanoparticles using plants. **Green Chemistry**, v.13, n.1, p. 2638-2650, 2011.
- JIN, R. et al. Photoinduced Conversion of Silver Nanospheres to Nanoprisms. **Science**, v.94, n. 2, p. 1901-1903, 2001.
- JUNIOR, M. A. M. et al. F. Preparação de Nanopartículas de Prata e Ouro: um método simples para a introdução na nanociência em laboratório de ensino. **Química Nova**, v.35, n.1, p. 1872-1878, 2012.
- MOHANRAJ, V. J.; CHEN, Y. Nanoparticles – A Review. **Tropical Journal of Pharmaceutical Research**, v.5, n. 1, p. 561-573, 2006.

- MUNYAKA, A. W. et al. Thermal Stability of L-Ascorbic Acid and Ascorbic Acid Oxidase in Broccoli (*Brassica oleracea*). **Journal of Food Science**, v.75, n.4, p. 336-340, 2010.
- PRATHNA, T. C. et al. Biomimetic Synthesis Of Silver Nanoparticles By Citrus Limon (Lemon) Aqueous Extract And Theoretical Prediction Of Particle Size. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v.82, n.1, p. 152-159, 2011.
- PRIS, M. **Influence of Different Parameters on Wet Synthesis of Silver Nanoparticles**, 2014. 43 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharel em Física Aplicada) - Universidade de Twente, Enschede, Holanda.
- QIN, Y. et al. Size control over spherical silver nanoparticles by ascorbic acid reduction. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v.372, n.13, p.172-176, 2010.
- RODRIGUES, R. B. et al. Review Article. An Amazonian fruit with a high potential as a natural source of vitamin C: The Camu-camu (*Myrciaria dubia*). **Food Technology**, v.56, n.5, p. 345-354, 2001.
- SCHAUSS, A. G. et al. Antioxidant Capacity and Other Bioactivities of the Freeze-Dried Amazonian Palm Berry, *Euterpe oleracea* Mart. (Acai). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.54, n.22, p. 8604-8610, 2006.
- SHANKAR, S. S. et al. Biological Synthesis of Triangular Gold Nanoprisms. **Nature Materials**, v.3, n.1, p. 482-488, 2004.
- SOLOMON, S. et al. Synthesis and Study of Silver Nanoparticles. **Journal of Chemical Education**, v.84, n.2, p. 322-325, 2007.
- SONDI, I.; GOIA, D.V.; MATIJEVIĆ, E. Preparation of highly concentrated stable dispersions of uniform silver nanoparticles. **Journal of Colloid and Interface Science**, v.260, n.2, p. 75-81, 2003.
- SWIHART, M. T. Vapor-phase synthesis of nanoparticles. **Current Opinion in Colloid and Interface Science**, v.8, n.1, p. 231-247, 2003.
- THAKKAR, K. N.; MHATRE, S. S.; PARIKH, R. Y. Biological Synthesis of Metallic Nanoparticles: Review Article. **Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine**, v.6, n.1, p. 257-262, 2010.
- TÓTH, M.; KUKOR, Z.; VALENT, S. Chemical stabilization of tetrahydrobiopterin by L-ascorbic acid: contribution to placental endothelial nitric oxide synthase activity. **Molecular Human Reproduction**, v.8, n.3, p. 271-280, 2002.
- WILEY, B. J. et al. Maneuvering the Surface Plasmon Resonance of Silver Nanostructures through Shape-Controlled Synthesis. **Journal Physical Chemistry B**, v.110, n.32, p. 15666-15675, 2006.