

Síntese verde de nanopartículas de prata utilizando extrato de *Podocarpus lambertii*

Green synthesis of silver nanoparticles using *Podocarpus lambertii* extract as a natural reducer

RESUMO

Danielle Vitoria Santana Dias
daniellevsd@gmail.com
Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Toledo, Paraná, Brasil.

Cairo Alencar Zancanella
cairo.zancanella@gmail.com
Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Toledo, Paraná, Brasil.

Debora Marina Bandeira
dm-bandeira@hotmail.com
Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Cascavel, Paraná, Brasil.

Juliana Moço Corrêa
Julianacb6974@hotmail.com
Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Cascavel, Paraná, Brasil.

Fabiana Gisele da Silva Pinto
Fabiana.pinto@unioeste.br
Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Cascavel, Paraná, Brasil.

Renato Eising
renatoeising@utfpr.edu.br
Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Toledo, Paraná, Brasil.

O presente trabalho teve como objetivo sintetizar nanopartículas de prata (AgNPs) utilizando o extrato vegetal de *Podocarpus lambertii*. Para tal, foram feitas análises de caráter multivariado em relação aos parâmetros de temperatura (°C) e concentração do extrato (mg mL⁻¹). A melhor condição de síntese para as AgNPs foi determinada como 180 µL de NaOH 0,001 mol L⁻¹, 1440 µL da solução de extrato de *P. lambertii* na concentração de 1 mg mL⁻¹, 180 µL de solução de AgNO₃ 2,5 x 10⁻³ mol L⁻¹ como precursor dos íons de prata e mantendo-se a solução resultante sob aquecimento constante na temperatura de 90 °C por 60 min. Ao final de todas as sínteses pôde-se observar a mudança na coloração do meio reacional (de incolor para amarela), um indicativo que ocorreu a redução dos íons Ag⁺ e a formação das AgNPs. Tal observação foi corroborada por análises de espectrofotometria de UV-vis, nas quais todas as sínteses apresentaram bandas próximas a 400 nm.

PALAVRAS-CHAVE: Síntese orgânica; pinho-bravo; materiais nanoestruturados.

ABSTRACT

The present work aimed to synthesize silver nanoparticles (AgNPs) using *Podocarpus lambertii* extract. For this purpose, multivariate analyzes were performed in relation to the following parameters: temperature (°C) and concentration of the extract (mg mL⁻¹). The best condition for the AgNPs synthesis was determined as 180 µL of 0,001 mol L⁻¹ NaOH, 1440 µL of *P. lambertii*'s extract solution in the concentration of 1 mg mL⁻¹, 180 µL of 2,5 x 10⁻³ mol L⁻¹ AgNO₃, as the silver ions' precursor, the resulting solution being kept under constant heating at 90 °C for 60 min. At the end of all syntheses, it was possible to observe a change of color of the reaction medium (from colorless to yellow), an indication that there was a reduction in Ag⁺ ions and the formation of AgNPs. Such observation was corroborated by UV-vis spectrophotometry analyzes, in which all of the syntheses presented bands close to 400 nm.

KEYWORDS: Organic synthesis; wild pine; nanostructured materials.

Recebido:

Aprovado:

Direito autorial: Este trabalho está licenciado sob os termos da Licença Creative Commons-Atribuição 4.0 Internacional.



INTRODUÇÃO

Nanotecnologia é uma ciência multidisciplinar que lida com a pesquisa e desenvolvimento de materiais em escala nanométrica (RAI e DURAN, 2011). A nanotecnologia e a nanociência possuem aplicações em diversas áreas, incluindo eletrônica, de comunicação, química, da saúde, alimentícia, dentre outras (RAVICHANDRAN, 2010). Materiais nanoestruturados possuem ao menos uma de suas dimensões na faixa nanométrica, sendo que as nanopartículas (NPs) possuem suas três dimensões nessa escala, tendo tamanhos que podem variar de 1 a 100 nm e exibindo diversas formas (ZHANG et al, 2016; RAI e DURAN, 2011).

As nanopartículas de prata (AgNPs) destacam-se por suas propriedades físicas, químicas e biológicas, e têm sido utilizadas extensivamente em diversas áreas - farmacêutica, química, alimentícia etc - como agentes fungicidas, bactericidas, catalíticos e ópticos (RODRIGUES et al, 2019; GURUNATHAN et al, 2015). Pelas razões supracitadas as AgNPs são um dos nanomateriais mais amplamente comercializados (GURUNATHAN et al, 2015).

Devido à ampla utilização de AgNPs em inúmeras áreas, foram desenvolvidos diversos métodos de síntese para tais, sendo os mais convencionais os físicos e químicos. Esses, contudo, utilizam reagentes dispendiosos e/ou nocivos ao meio ambiente, de forma que podem ser substituídos por métodos verdes funcionais e ambientalmente amigáveis (GURUNATHAN et al, 2015; HE et al, 2016). Dentre as várias vias sintéticas para AgNPs destacam-se as abordagens verdes utilizando extratos de plantas, que são capazes de produzir nanopartículas de tamanho e morfologia bem definidos (ZHANG et al, 2016).

As plantas do gênero *Podocarpus* ocorrem naturalmente em regiões do hemisfério sul, incluindo estados do Brasil (CARVALHO, 2004). São conhecidas por suas propriedades medicinais popular e empiricamente, além de apresentar propriedades antimicrobiana e antimutagênica (ABDILLAHI et al, 2012; ABDILLAHI et al, 2008). Tais características do gênero fazem com que a espécie *Podocarpus lambertii*, natural dos estados do Rio Grande do Sul, Santa Catarina, Paraná, São Paulo, Minas Gerais e Bahia (CARVALHO, 2004), seja uma boa opção para atuar como redutor na síntese de nanopartículas de prata.

O presente trabalho teve como objetivo sintetizar nanopartículas de prata (AgNPs) utilizando o extrato vegetal de *Podocarpus lambertii*.

MATERIAIS E MÉTODOS

A obtenção do extrato de *Podocarpus lambertii* (*P. lambertii*) foi realizada segundo a metodologia proposta por Pandini et al (2015) com modificações. O material vegetal seco (composto por folhas da planta) foi adicionado na proporção de 1:10 (m:V) em etanol P.A (EE) e mantido em agitador rotativo a 220 rpm durante 24 horas. Após este período, a solução foi filtrada utilizando papel filtro Whatman nº 1 e centrifugado em tubos Falcon de 50 mL, a 3800 rpm durante 15 minutos. Em seguida, o sobrenadante do extrato foi submetido à rotaevaporação para total eliminação do solvente, obtendo-se um extrato bruto ao final do processo. O qual foi armazenado ao abrigo de luz a 4°C (SCUR et al, 2014)

Durante a otimização das variáveis de síntese - concentração do extrato e temperatura - para formação de nanopartículas de prata foram realizados 12 experimentos (8 experimentos básicos mais 4 repetições do ponto central), utilizando um projeto fatorial completo de dois níveis. Este projeto envolveu testes preliminares para determinar os limites máximos e mínimos dos parâmetros que serão avaliados. Os valores, correspondentes aos pontos alto (+), baixo (-) e central

(0) para cada parâmetro são apresentados na Tabela 1. Ressalta-se que os parâmetros pH, tempo de reação e concentração de AgNO_3 foram fixos para todos os níveis.

Tabela 1 – Níveis dos parâmetros no design experimental (parâmetros fixados: pH = 10; tempo de reação = 60 min; $[\text{AgNO}_3] = 2,5 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$).

Nível	[extrato] ($\text{mg} \times \text{mL}^{-1}$)	Temperatura ($^{\circ}\text{C}$)
-2	0,1	25
-1	0,325	41,25
0	0,55	57,5
+1	0,78	73,75
+2	1	90

Fonte: Elaborado pelos autores.

A metodologia de síntese foi adaptada de três estudos (GUIMARÃES et al, 2019; SILVA et al, 2019; VEISI et al, 2019). As sínteses consistiram na a adição de 180 μL de NaOH $0,001 \text{ mol L}^{-1}$ em 1440 μL da solução de extrato de *P. lambertii* na concentração adequada para cada síntese. Em seguida adicionou-se 180 μL de AgNO_3 $2,5 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$, como precursor dos íons de prata. As soluções resultantes foram mantidas sob temperatura constante, por um período de reação de 60 min.

A avaliação dos resultados do planejamento fatorial foi realizada por meio de análise de absorvância utilizando espectroscopia de Ultravioleta-Visível (UV-Vis), da marca Thermo Scientific modelo Genesys 10uv scanning, nos intervalos de 300 - 800 nm, em cubeta de vidro óptico de caminho óptico de 0,5 cm.

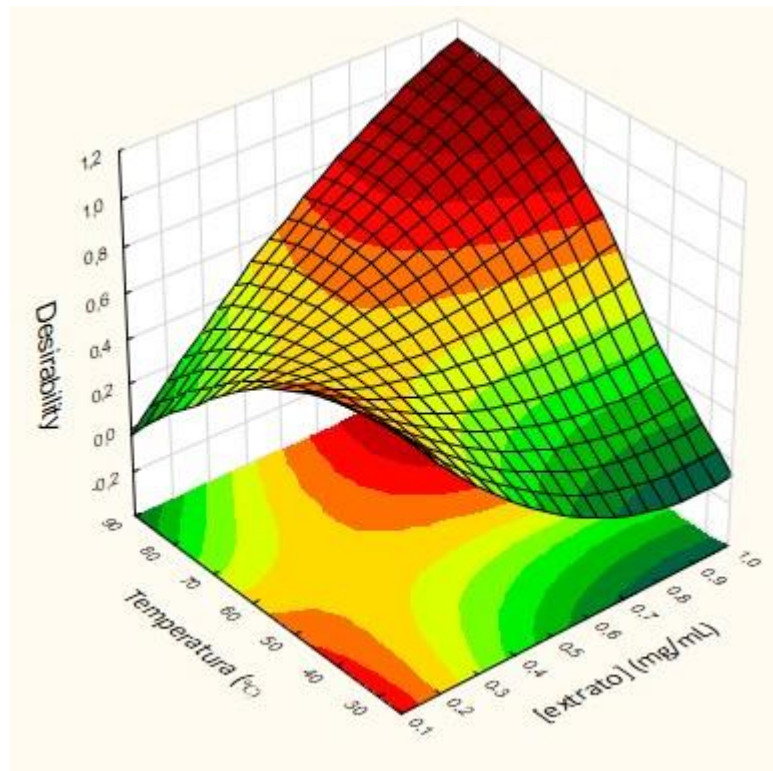
RESULTADOS E DISCUSSÃO

Durante os testes preliminares constatou-se que em pHs ácidos e neutros as sínteses não ocorriam de forma satisfatória, como também descrito por Davidovic et al (2017) e Dada et al (2019), tendo este parâmetro sido fixado em 10 para todos os níveis. Do mesmo modo, observou-se que quanto maior o tempo de reação, melhor as sínteses se desenvolviam, porém não ocorriam modificações significativas após uma hora de reação. Considerando isto, o tempo de reação foi fixado em 60 min. Ainda com base em análises preliminares, a concentração de nitrato de prata também foi fixada, em $2,5 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$.

A faixa de variação da concentração do extrato foi determinada entre 0,1 e $1,0 \text{ mg mL}^{-1}$. O limite inferior foi determinado como a menor concentração onde foi possível observar a formação de AgNPs. O superior foi definido devido a baixa capacidade de solubilização do extrato em meio aquoso onde, em concentrações mais elevadas, a quantidade de partículas em suspensão prejudicaria a leitura correta das amostras por espectroscopia UV-Vis.

A partir destas informações o design experimental foi elaborado e como resposta foi utilizada a absorvância da banda de Plasmon de superfície (SPR). Para analisar os resultados obtidos foi optado pela utilização do modelo de superfície de resposta, que é apresentado na Figura 1.

Figura 1. Superfície de resposta para as variáveis: concentração de extrato e temperatura (indicam a absorbância desejada).

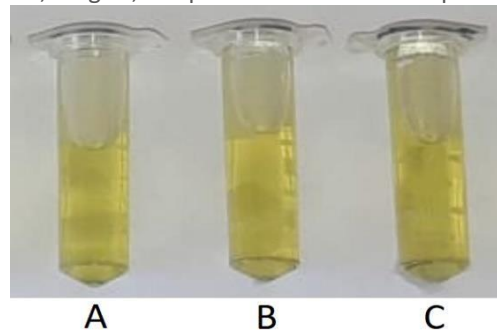


Fonte: Elaborado pelos autores.

Na Figura 1, observa-se claramente um máximo no gráfico na região de maior concentração de extrato e temperatura, indicando as condições ótimas de síntese. Baseado nesta observação, determinou-se as condições ótimas de síntese como: pH 10, $2,5 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ de AgNO_3 , $1,0 \text{ mg L}^{-1}$ de extrato vegetal, temperatura de $90 \text{ }^\circ\text{C}$ e tempo de reação de 60 min.

Foram feitas três sínteses utilizando os parâmetros ótimos, durante as quais observou-se a mudança de coloração de todas as amostras (Figura 2), indo de incolor para amarelo vivo - cor característica em sínteses de AgNPs (DADA et al, 2019).

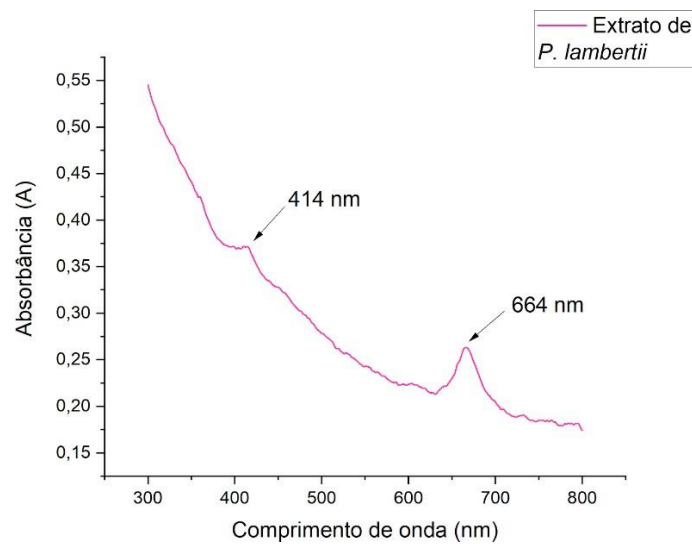
Figura 2. Sínteses A, B e C realizadas com parâmetros ótimos (pH 10, $[AgNO_3] = 2,5 \times 10^{-3}$ mol L⁻¹, [extrato] = 1,0 mg L⁻¹, temperatura de 90°C e tempo de reação de 60 min).



Fonte: Elaborado pelos autores.

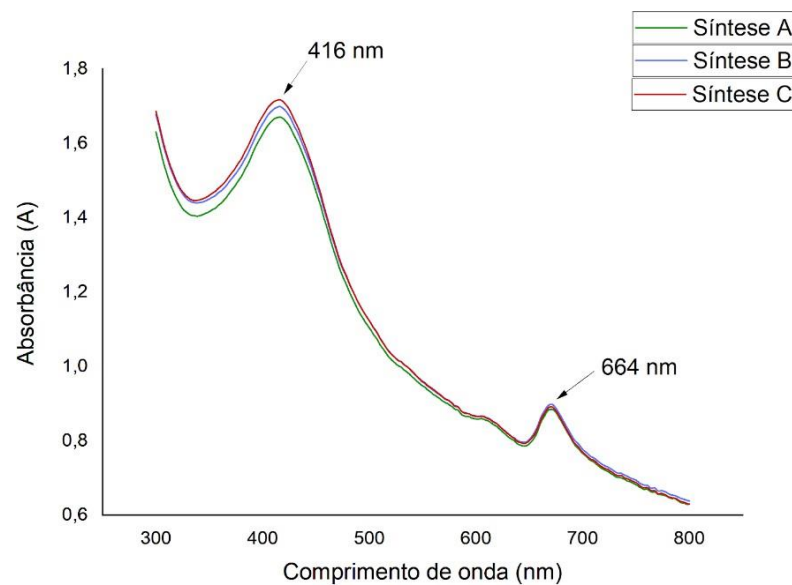
Além da alteração de coloração, foram feitas análises de espectroscopia UV-Vis tanto do extrato de *P. lambertii* (Figura 3) como das amostras após as sínteses (Figura 4).

Figura 3. Espectro de absorvância do extrato de *P. lambertii*, com bandas em 414 e 664 nm.



Fonte: Elaborado pelos autores.

Figura 4. Espectros de absorbância das sínteses A, B e C, com bandas em 416 e 664 nm.



Fonte: Elaborado pelos autores.

Os espectros de absorbância das sínteses não se mostraram simétricos. Estes apresentaram uma banda no comprimento de onda de 664 nm – a mesma encontrada no espectro da Figura 3, que pode ser considerada uma banda característica do extrato –, demonstrando que nem todo material vegetal foi consumido durante as sínteses.

Em todas as sínteses pôde-se observar nitidamente as bandas de ressonância de plasmon de superfície (SPR) e seus picos estáveis de máxima absorbância em 416 nm. Portanto indicando um sinal espectroscópico espontâneo para formação de nanoestruturas, demonstrando a redução da prata em AgNPs (DADA et al, 2019), o que corrobora a capacidade redutora do extrato de *P. lambertii*.

CONCLUSÃO

Este estudo constata que a síntese de nanopartículas de prata depende de fatores como pH, temperatura, concentração do extrato vegetal utilizado e tempo de reação. Ademais, foi corroborado que AgNPs podem ser sintetizadas utilizando extrato de *P. lambertii*. Tendo isto sido feito por meio de análises de absorbância utilizando a técnica de UV-Vis, nas quais todas as amostras apresentaram bandas próximas a 400 nm.

Outrossim se faz necessária a caracterização por outras técnicas, tais como microscopia eletrônica de transmissão e espalhamento de luz que permitirão determinar o diâmetro e formato das nanopartículas.

AGRADECIMENTOS

Agradecemos à UTFPR, à Unioeste e CAPES pelo suporte financeiro. E a todos que contribuíram de forma direta ou indireta para a realização do presente trabalho.

REFERÊNCIAS

- ABDILLAH, H. S.; STAFFORD, G. I.; FINNIE, J. F.; VAN STADEN, J. **Antimicrobial activity of South African *Podocarpus* species.** *J. of Ethnopharmacology*, 2008, vol. 119, 191-194.
- ABDILLAH, H. S.; VERSCHAEVE, L.; FINNIE, J. F.; VAN STADEN, J. **Mutagenicity, antimutagenicity and cytotoxicity evaluation of South African *Podocarpus* species.** *J. of Ethnopharmacology*, 2012, vol. 139, 728-738.
- BINDHU, M. R.; UMADEVI, M. **Silver and gold nanoparticles for sensor and antibacterial applications.** *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 2014, vol. 218, 37-45.
- CARVALHO, P. E. R. **Pinheiro-Bravo – *Podocarpus lambertii*.** *Circular técnica EMBRAPA*, 2004.
- DADA, A. O.; ADEKOLA, F. A.; DADA, F. E.; ADELANI-AKANDE, A. T.; BELLO, M. O.; OKONKWO, C. R.; INYINBOR, A. A.; OLUYORI, A. P.; OLAYANJU, A.; AJANAKU, K. O.; ADETUNJI, C. O. **Silver nanoparticles by *Acalypha wilkesiana* extract: phytochemical screening, characterization, influence of operational parameters, and primary antibacterial testing.** *Heliyon*, 2019, vol. 5.
- DAVIDOVIĆ, S.; LAZIĆ, V.; VUKOJE, I.; PAPAN, J.; ANHRENKIEL, S. P.; DIMITRIJEVIĆ, S.; NEDELJKOVIĆ, J. M. **Dextran coated silver nanoparticles – chemical sensor for selective cysteine detection.** *Colloids and surfaces B: Biointerfaces*, 2017, vol. 160, 184-191.
- GUIMARÃES, M. L.; SILVA, F. A. G. Jr.; COSTA, M. M.; OLIVEIRA, H. P. **Green synthesis of silver nanoparticles using *Ziziphus joazeiro* leaf extract for production of antibacterial agents.** *Appl Nanosci*, 2020, vol. 10, 1073–1081.
- GURUNATHAN, S.; PARK, J. H.; HAN, J. W.; KIM, J. H. **Comparative assessment for the apoptotic potential of silver nanoparticles synthesized by *Bacillus tequilensis* and *Calocybe indica* in MDA-MB-23 I human breast cancer cells: targeting p53 for anticancer therapy.** *Int. J. of Nanomedicine*, 2015, vol. 3, 4203-4223.
- HE, X.; HWANG, H.M. **Nanotechnology in food science: Functionality, applicability, and safety assessment.** *J. Food Drug Anal.*, 2016, vol. 24, 671-681.
- PANDINI, J. A.; PINTO, F. G. S.; SCUR, M. C.; ALVES, L. F. A.; MARTINS, C. C. **Antimicrobial, insecticidal, and antioxidant activity of essential oil and extracts**

of Guarea kunthiana A. Juss. *Journal of Medicinal Plant Research*, 2015, vol. 9, p.48-55, 2015.

RAI, M.; DURAN, N. **Metal Nanoparticles in Microbiology**. Springer-Verlag Berlin Heidelberg., 2011, vol. 1, XI, 303.

RAVICHANDRAN, R. **Nanotechnology applications in food and food processing: Innovative green approaches, opportunities and uncertainties for Global Market**. *Int. J. Green Nanotechnol. Phys. Chem.*, 2010, vol. 1, 72-96.

RODRIGUES, J. F. B; BRANDÃO, P. E. de Souza; GUIMARÃES, P. Q; PINTO, M. R. de O.; WELLEN, R. M. R.; FOOK, M. V. L. **Aplicação de método estatístico no estudo da influência do peróxido de hidrogênio e do borohidreto de sódio na síntese de nanopartículas de prata (AGNPS)**. *Epub Sep 16.*, 2019, vol. 24, no. 3.

SCUR, M. C.; PINTO, F. G. S.; BONA, E. A. M.; WEBER, L. D.; ALVES, L. F. A.; MOURA, A. C. **Occurrence and antimicrobial resistance of Salmonella serotypes isolates recovered from poultry of Western Paraná, Brazil**. *African Journal of Agricultural Research*, 2014, v.9, 823-830, 2014.

SILVA, A. F. V.; FAGUNDES, A. P.; MACUVELE, D. L. P.; CARVALHO, E. F. U.; DURAZZO, M.; PADOIN, N.; SOARES, C.; RIELLA, H. G. **Green synthesis of zirconia nanoparticles based on Euclea natalensis plant extract: Optimization of reaction conditions and evaluation of adsorptive properties**. *Colloids and Surfaces A 583*, 2019.

VEISI, H.; DADRES, N.; MOHAMMADI, P.; HEMMATI, S. **Green synthesis of silver nanoparticles based on oil-water interface method with essential oil of orange peel and its application as nanocatalyst for A3 coupling**. *Materials Science & engineering. C, Materials for Biological Applications.*, 2019, vol. 105, 110031.

ZHANG, X.-F.; Liu, Z.-G.; SHEN, W.; GURUNATHAN, S. **Silver nanoparticles: Synthesis, characterization, properties, applications, and therapeutic approaches**. *Int. J. Mol. Sci.*, 2016, vol. 17, 1534.