

**Síntese verde de nanopartículas de prata utilizando extrato metanólico
de *Podocarpus lambertii* Klotzch ex Endl**

**Green synthesis of silver nanoparticles using methanol extract of
Podocarpus lambertii Klotzch ex Endl**

DOI:10.34117/bjdv7n4-595

Recebimento dos originais: 04/02/2021

Aceitação para publicação: 01/03/2021

Danielle Vitoria Santana Dias

Discente de graduação Engenharia de Bioprocessos e Biotecnologia
Laboratório de Tecnologias Químicas

Instituição: Universidade Tecnológica Federal do Paraná - UTFPR.

Endereço: Rua Cristo Rei, 19 – Campus Toledo – CEP 85902-490- Toledo - PR

E-mail: daniellevsd@gmail.com

Cairo Alencar Zancanella

Discente de graduação Engenharia de Bioprocessos e Biotecnologia
Laboratório de Tecnologias Químicas

Instituição: Universidade Tecnológica Federal do Paraná - UTFPR

Endereço: Rua Cristo Rei, 19 – Campus Toledo – CEP 85902-490- Toledo - PR

E-mail: cairo.zancanella@gmail.com

Débora Marina Bandeira

Mestranda em Conservação e Manejo de Recursos Naturais

Laboratório de Microbiologia e Biotecnologia - LAMIBI

Instituição: Universidade Estadual do Oeste do Paraná- UNIOESTE

Endereço: Rua Universitária, 2069 - Campus Cascavel - CEP 85819-110 - Cascavel -
PR

E-mail: dm-bandeira@hotmail.com

Juliana Moço Correa

PNPD em Conservação e Manejo de Recursos Naturais

Laboratório de Microbiologia e Biotecnologia - LAMIBI

Instituição: Universidade Estadual do Oeste do Paraná- UNIOESTE

Endereço: Rua Universitária, 2069 - Campus Cascavel - CEP 85819-110 - Cascavel –
PR

E-mail: juliana.correa2@unioeste.br

Fabiana Gisele da Silva Pinto

Doutor em Microbiologia – Universidade Estadual de Londrina

Laboratório de Microbiologia e Biotecnologia - LAMIBI

Instituição: Universidade Estadual do Oeste do Paraná- UNIOESTE

Endereço: Rua Universitária, 2069 - Campus Cascavel - CEP 85819-110 - Cascavel –
PR

E-mail: fabiana.pinto@unioeste.br

Renato Eising

Doutor em Química – Universidade Federal de Santa Catarina
Laboratório de Tecnologias Químicas

Instituição: Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Toledo, Paraná, Brasil.

Endereço: Rua Cristo Rei, 19 – Campus Toledo – CEP 85902-490- Toledo - PR

E-mail: renatoeising@utfpr.edu.br

RESUMO

O presente trabalho teve como objetivo sintetizar nanopartículas de prata (AgNPs) utilizando o extrato metanólico de *Podocarpus lambertii* Klotzch ex Endl. Para tal, foram feitas análises de caráter multivariado em relação aos parâmetros de temperatura ($^{\circ}\text{C}$) e concentração do extrato (mg mL^{-1}). A melhor condição de síntese para as AgNPs foi determinada como 180 μL de NaOH $0,001 \text{ mol L}^{-1}$, 1440 μL da solução de extrato de *P. lambertii* na concentração de 1 mg mL^{-1} , 180 μL de solução de AgNO_3 $2,5 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ 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; Pinheiro-bravo; Materiais nanoestruturados.

ABSTRACT

The present work aimed to synthesize silver nanoparticles (AgNPs) using the methanol extract from the leaves of *Podocarpus lambertii* Klotzch ex Endl. For this purpose, multivariate analyzes were performed in relation to the parameters of temperature ($^{\circ}\text{C}$) and concentration of the extract (mg mL^{-1}). The best synthesis condition for AgNPs was determined as 180 μL of NaOH 0.001 mol L^{-1} , 1440 μL of the solution of *P. lambertii* extract in the concentration of 1 mg mL^{-1} , 180 μL of $2.5 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ AgNO_3 solution as a precursor to silver ions and keeping the resulting solution under constant heating at a temperature of 90°C for 60 min. At the end of all syntheses, it was possible to observe a change in the color of the reaction medium (from colorless to yellow), an indication that the reduction of Ag^+ ions and the formation of AgNPs occurred. Such observation was corroborated by UV-vis spectrophotometry analyzes, in which all syntheses presented bands close to 400 nm.

Keywords: Organic synthesis; Wild pine; Nanostructured materials.

1 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 & 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 (ABDILLAHY et al., 2012; ABDILLAHY 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 metanólico de folhas de *Podocarpus lambertii* Klotzch ex Endl.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 OBTENÇÃO DO EXTRATO METANÓLICO DE *PODOCARPUS LAMBERTII*

A obtenção do extrato metanólico de *Podocarpus lambertii* (*P. lambertii*) foi realizada segundo a metodologia proposta por Pandini et al., (2015) e Mallman et al., (2021) 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 centrifugada em tubos cônicos 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). Para o preparo das soluções utilizadas na síntese das AgNPs, o extrato bruto foi liofilizado e o extrato seco utilizado para preparar a solução na concentração de 1,0 mg mL⁻¹.

2.2 SÍNTESE DAS AGNPS

A otimização das variáveis de síntese (concentração de extrato de *P. lambertii* e temperatura) das AgNPs foi realizada utilizando um design fatorial completo de dois níveis com dois pontos axiais. Este design envolveu testes preliminares para determinar os limites máximos e mínimos dos parâmetros que serão avaliados. Os valores, correspondentes aos pontos alto (+1), baixo (-1), central (0) e axiais (-2 e +2) para cada parâmetro e o design experimental são apresentados na Tabela 1 e Tabela 2, respectivamente. A avaliação dos resultados do design experimental foi realizada utilizando análise de variância no nível de 95% de confiança. Ressalta-se que os parâmetros pH (10), tempo de reação (60 minutos) e concentração de AgNO₃ (2,5 x 10⁻³ mol L⁻¹) foram fixados para todos os níveis.

Tabela 1 – Níveis dos parâmetros no design experimental (parâmetros fixados: pH = 10; tempo de reação = 60 min; $[AgNO_3] = 2,5 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$).

Nível	[extrato] (mg 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.

Tabela 2 - Combinações de experimentos multivariados para otimização das condições de síntese de AgNPs em cada experimento.

Experimento	Extrato	Temperatura	[Extrato] (mg mL^{-1})	Temperatura ($^{\circ}\text{C}$)
1	+1	+1	0,78	73,75
2	+1	-1	0,78	41,25
3	-1	+1	0,325	73,25
4	-1	-1	0,325	41,25
5	+2	0	1	57,5
6	-2	0	0,1	57,5
7	0	+2	0,55	90
8	0	-2	0,55	25
9	0	0	0,55	57,5
10	0	0	0,55	57,5
11	0	0	0,55	57,5
12	0	0	0,55	57,5

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 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 $\times 10^{-3}$ mol L^{-1}

¹, como precursor dos íons de prata. As soluções resultantes foram mantidas sob temperatura constante, por um período de reação de 60 min em um banho termostaticado.

A avaliação dos resultados do planejamento fatorial foi realizada por meio de análise de absorvância do espectro de UV-Vis das nanopartículas no intervalo de 300 - 800 nm, em uma cubeta de vidro óptico de caminho óptico de 0,5 cm, utilizando-se um espectrofotômetro de UV- Vis, da marca Thermo Scientific modelo Genesys 10UV Scanning.

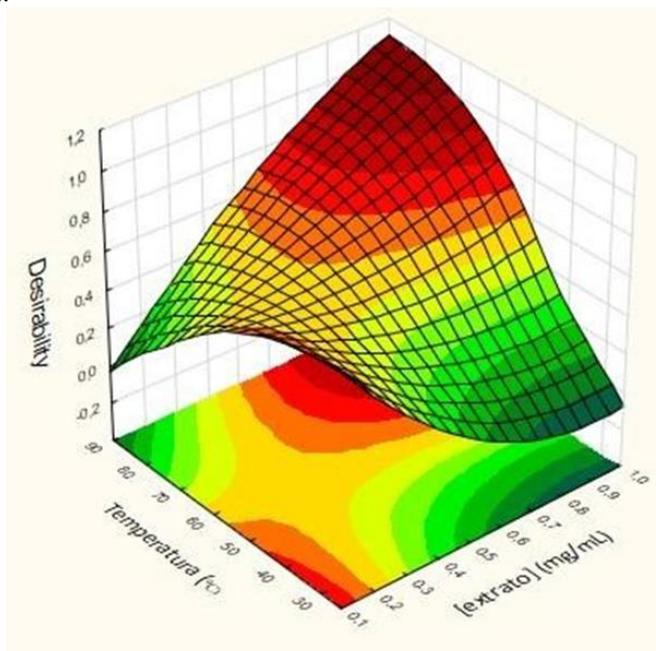
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

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 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.

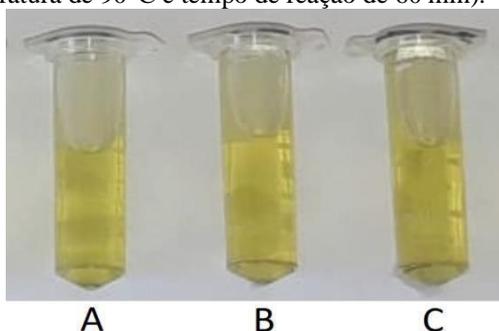
Figura 1. Superfície de resposta para as variáveis: concentração de extrato e temperatura (indicam a absorvância desejada).



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, $2,5 \times 10^{-3}$ mol L⁻¹ de AgNO₃, 1,0 mg L⁻¹ de extrato vegetal, temperatura de 90 °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).

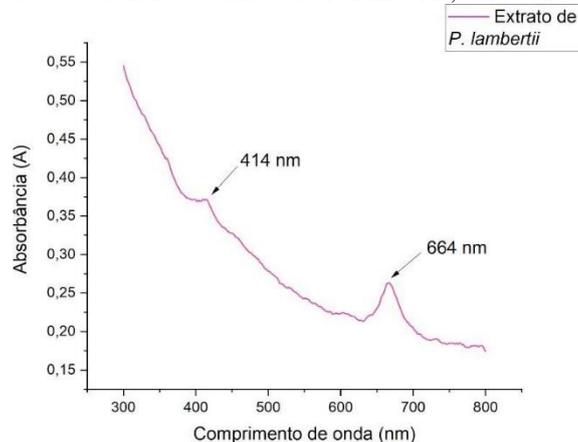
Figura 2. Sínteses A, B e C realizadas com parâmetros ótimos (pH 10, [AgNO₃] = $2,5 \times 10^{-3}$ mol L⁻¹, [extrato] = 1,0 mg L⁻¹, temperatura de 90°C e tempo de reação de 60 min).



Fonte: Elaborado pelos autores.

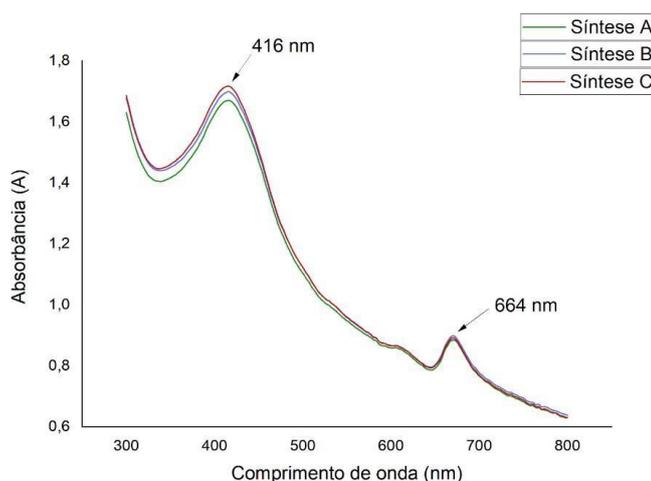
Além da alteração de coloração, foram feitas análises de espectroscopia UV- Vis tanto do extrato de *P. lambertii* (Figura 3) como das amostras após as sínteses (Figura 4).

Figura 3. Espectro de absorbância 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.



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*.

4 CONCLUSÕES

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 metanólico de *P. lambertii*. Tendo isto sido feito por meio de análises de absorvância 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, ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e Fundação Araucária pelo financiamento da pesquisa e a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), CAPES pelo suporte financeiro e ao Programa de Pós-graduação em Manejo e Conservação de Recursos Naturais (PPRN). E a todos que contribuíram de forma direta ou indireta para a realização do presente trabalho.

REFERÊNCIAS

- ABDILLAHI, H.S.; STAFFORD, G.I.; FINNIE, J.F.; VAN STADEN, J. Antimicrobial activity of South African *Podocarpus* species. **J. of Ethnopharmacology**, v. 119, p. 191-194, 2008. Disponível em: <https://europepmc.org/article/med/18639622>. Acesso em 25 março 2021.
- ABDILLAHI, H.S.; VERSCHAEVE, L.; FINNIE, J.F.; VAN STADEN, J. Mutagenicity, antimutagenicity and cytotoxicity evaluation of South African *Podocarpus* species. **J. of Ethnopharmacology**, v. 139, p. 728-738, 2012. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22155396/>. Acesso em 25 março 2021.
- CARVALHO, P.E.R. Pinheiro-Bravo – *Podocarpus lambertii*. *Circular técnica EMBRAPA*, 2004. Disponível em: <https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/handle/doc/313256>. Acesso 25 março 2021.
- 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**, v. 5, 2019. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6812196/>. Acesso 25 março 2021.
- 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**, v. 10, p. 1073-1081, 2020. Disponível em: <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/17518253.2020.1839572>. Acesso 25 março 2021.
- 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**, v. 3, p. 4203-4223, 2015. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26170659/>. Acesso 25 março 2021.
- HE, X.; HWANG, H.M. Nanotechnology in food science: Functionality, applicability, and safety assessment. **J. Food Drug Anal.**, v. 24, p. 671-681, 2016. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1021949816300758>. Acesso 25 março 2021.
- MALLMAN, A.P.; SANTOS, C.V.; SILVA, T.L.S.; BANDEIRA, D.B.; LAKOSKI, L.V.; ROSSET, J. Rendimento, caracterização fitoquímica e avaliação de atividade antimicrobiana e antioxidante de extratos de *Ilex brevicuspis Reissek*(Aquifoliaceae) frente a sorotipos de *Salmonellaspp* de origem avícola. **Brazilian Journal of Development**, v.7, n.3, p. 29143-29158, 2021. Disponível em: <https://www.brazilianjournals.com/index.php/BRJD/article/view/26809/21220>. Acesso em: 25 março 2021.

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**, v. 9, p. 48-55, 2015. Disponível em: https://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1519-69842018000100053. Acesso 25 março 2021.

RAI, M.; DURAN, N. Metal Nanoparticles in Microbiology. **Springer-Verlag Berlin Heidelberg**, v. 1, p. 303, 2011. Disponível em: <https://www.springer.com/gp/book/9783642183119>. Acesso 25 março 2021.

RAVICHANDRAN, R. Nanotechnology applications in food and food processing: Innovative green approaches, opportunities and uncertainties for Global Market. **Int. J. Green Nanotechnol. Phys. Chem.**, v. 1, p. 72-96, 2010. Disponível em: <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/19430871003684440>. Acesso 25 março 2021.

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). **Matéria (Rio J)**, v. 24, n. 3, 2019. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1590/s1517-707620190003.0708>. Acesso 25 março 2021.

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**, v. 9, p. 823-830, 2014. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/269670080_Occurrence_and_antimicrobial_resistance_of_Salmonella_serotypes_isolates_recovered_from_poultry_of_Western_Paran_Brazil. Acesso 25 março 2021.

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**, n. 583, 2019. Disponível em: <http://repositorio.ipen.br/bitstream/handle/123456789/30434/26447.pdf?sequence=1&isAllowed=y>. Acesso 25 março 2021.

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**, v. 105, 2019. Disponível em: <https://europepmc.org/article/med/31546457>. Acesso 25 março 2021.

ZHANG, X.F.; Liu, Z.G.; SHEN, W.; GURUNATHAN, S. Silver nanoparticles: Synthesis, characterization, properties, applications, and therapeutic approaches. **Int. J. Mol. Sci.**, v. 17, 2016. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27649147/>. Acesso 25 março 2021.