



BIOSSÍNTESE DE NANOPARTÍCULAS DE PRATA COM EXTRATOS DA *GUAZUMA ULMIFOLIA* LAM (MUTAMBA): ESTUDO E DESENVOLVIMENTO

Gleison V. S. Moreira¹; Deangelis Damasceno²; Monise C. R. C. Coltro²; Carlos M. S. Neto³; Thiago L. Rocha⁴; Franciyelli Mello-Andrade⁵; Waléria Rodovalho^{1*}

¹Instituto Federal de Goiás /Campus Goiânia /Goiânia, Goiás

²Instituto Federal de Goiás/Campus Senador Canedo/Senador Canedo, Goiás

³Instituto Federal de Goiás/Reitoria/Criar - Polo de Inovação, Goiânia, Goiás

⁴Universidade Federal de Goiás, Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública, Goiânia, Goiás

⁵Instituto Federal de Goiás/Campus Luziânia/Luziânia, Goiás

*waleria.rodvalho@ifg.edu.br

Palavras-Chave: Nanotecnologia; Biossíntese; Nanopartículas de prata; *Guazuma Ulmifolia* Lam

1 - Introdução

A nanotecnologia tem se mostrado como um campo interdisciplinar na concepção e na aplicação de materiais e dispositivos funcionais novos e únicos de escalas nanométricas (dimensões de 1 a 100 nm). Devido a essas características vários estudos envolvendo a concepção de nanopartículas (NPs) e suas aplicações nas áreas físicas, químicas e biológicas têm sido realizados. Na química, um dos campos que se destaca são os estudos para obtenção de nanopartículas de baixo custo, ecologicamente e ambientalmente corretas (Schäfer *et al.*, 2016; K.Vijayaraghavan *et al.*, 2017; Ravindra *et al.*, 2023).

Geralmente as NPs são sintetizadas por 3 rotas, sendo essas: a física, a química e a biológica. Às físicas, requerem padrões rigorosos com altas pressões e temperaturas podendo destacar, a ablação a laser, cristalização amorfa, eletrólise, etc. Esses métodos têm-se tornado pouco viáveis, devido à incapacidade de produção de partículas mais finas e a má morfologia de superfícies, provocando mudanças em suas características físicas. Além disso, envolve vários tratamentos e altos custos (Schäfer *et al.*, 2016; K.Vijayaraghavan *et al.*, 2017; Ravindra *et al.*, 2023).

Os métodos químicos envolvem produtos tóxicos e perigosos para a saúde humana, animal e ambiental, altos custos e tempo prolongado de reação. As NPs podem ser preparadas por decomposição térmica, meio alcoólico, microemulsão/ coloidal e desintegração térmica (K.Vijayaraghavan *et al.*, 2017; Ravindra *et al.*, 2023). As nanopartículas obtidas têm limitações quanto às aplicações no campo clínico, devido ao uso de produtos tóxicos e solventes não polares em sua superfície. Normalmente são usados como redutores e mediadores dessa síntese o borohidreto de sódio, citrato de sódio, ácido ascórbico, etc (K.Vijayaraghavan *et al.*, 2017; Silva *et al.*, 2017 Priya *et al.*, 2021; Ravindra *et al.*, 2023).

O processo de síntese biológica, biossíntese ou síntese verde de NPs utilizam bactérias, fungos, biomassa/ extrato de plantas, vírus, leveduras e algas para produzir as NPs (K.Vijayaraghavan *et al.*, 2017; Ravindra *et al.*, 2023). É considerado um método mais econômico, amigável e ecologicamente correto (O. Velgosová *et al.*, 2016). Dentre os

métodos citados, a síntese a partir de extratos de plantas tem se destacado dada a disponibilidade, a acessibilidade, a alta diversidade, além disso, são menos tóxicas em comparação com algumas espécies de fungos e algas. A ampla quantidade de biomoléculas presentes na composição dos extratos, polifenóis, flavonoides, alcaloides, ácidos, vitaminas, etc., lhes conferem propriedades antioxidantes, que as tornam capazes de atuar como agentes redutores, niveladores e estabilizadores de NPs metálicas e de óxido de metais (A. C. Feltrin *et al.*, 2012; K.Vijayaraghavan *et al.*, 2017; Ravindra *et al.*, 2023). Essas biomoléculas presentes nos extratos das plantas, parte ou mistura destas, podem conferir às NPs atividades antifúngicas, antimicrobiana, anticancerígena, antioxidante, antiviral e amplas propriedades fotoquímicas (K.Vijayaraghavan *et al.*, 2017; Ravindra *et al.*, 2023).

A *Guazuma Ulmifolia* Lam, pertencente à família *Malvaceae*, é uma espécie arbórea amplamente distribuída por todas as regiões tropicais do mundo, podendo ser encontrada no Cerrado, é conhecida como mutamba, amoreira, chico-magro, entre outros. (Carvalho, 2007; A. C. Feltrin *et al.*, 2012; Chiacchio, 2020). Possui ação anti-hipertensiva, anti-úlceras, anti-bactericida, anti-colinesterase, antifúngico, anti-cancerígena, anti-secretora, antidiabética e antioxidante. Suas folhas e cascas são ricas em compostos antioxidantes, uma importante característica para a síntese de NPs com prata (Karen J., 2005; Carvalho, 2007; Syaefudin *et al.*, 2014; Martins, 2017; Viswanathan *et al.*, 2017; Chiacchio, 2020; Mohamad *et al.*, 2020).

Considerando a potencialidade da mutamba e a biossíntese nanopartículas de prata, o objetivo do trabalho foi preparar, caracterizar e avaliar a presença de compostos fenólicos nos extratos aquosos e hidroalcoólicos das folhas e cascas da *Guazuma Ulmifolia* Lam (Mutamba) e posteriormente submetê-los a síntese de nanopartículas de prata.

2 - Material e Método

2.1 - Obtenção e Caracterização do material vegetal.

As folhas e as cascas de mutamba foram obtidas seguindo os critérios de coleta não destrutiva respeitando o manejo sustentável, conforme a metodologia de Filizola e Sampaio, 2015. Foi feita a coleta de material biológico SISBIO (nº24365-1) coordenadas: Mutambeira (*Guazuma Ulmifolia* Lam. – *Malvaceae*; coord: -16.599302261026835, -49.28153424029108).

Material vegetal foi limpo, seco em temperatura ambiente, cortado, triturado e armazenado em frascos de vidro hermético. Em seguida foram feitas a determinação de teor de cinzas, cinzas insolúveis em ácido, teor de umidade e granulometria de acordo com a Farmacopéia, 2019.

2.2 - Preparo dos Extratos e Determinação do Perfil Fitoquímico.

Os extratos aquosos das folhas e da casca foram preparados utilizando 10 g de material em 100 mL de água destilada. Os extratos da casca foram preparados por decocção (50-60°C/ 30 min), e as folhas por infusão (97°C/15 min). Os extratos foram centrifugados a 9000 rpm (Centrífuga Hettich – Universal 320R) em seguida, avolumado para 100 mL e armazenado sob refrigeração.

Os extratos hidroalcoólicos foram preparados utilizando um extrator de Soxhlet, com 15 g do material vegetal em uma mistura azeotrópica de água e etanol P.A. (1:1, 300 mL, com

tempo de 2 h). O extrato foi rota-evaporado a pressão reduzida, centrifugado, avolumando para 150 mL e armazenado sob refrigeração.

Os taninos e as saponinas foram identificados conforme a metodologia descrita por Matos, F., 1999 e a quantificação dos compostos fenólicos foi feita de acordo com método de Folin-Ciocalteu adaptado (Singleton *et al.*, 1999 por Cruz N. D. *et al.*, 2020).

2.3 - Biossíntese das Nanopartículas de Prata.

As nanopartículas de prata foram sintetizadas com adaptação do método descrito por Bavaresco *et al.*, 2020. Em 5mL do extrato bruto, com pH 8 (ajustado com soluções de NaOH 0,1 mol/L e/ou HCl 0,1 mol/L) foram adicionados para 5 mL de solução de AgNO₃. A mistura foi protegida da luz, foi colocada em uma Incubadora Shaker (marca Analítica mod. SI-300R) sob aquecimento de 50°C, agitação contínua de 200 rpm por 24 horas. Foram feitos testes com concentrações variadas de AgNO₃ (1,0; 1,5; 2,5 e 4,0 mmol/L).

A confirmação da formação de nanopartículas foi pela presença de banda plasmônica na região de 350-450 nm em UV-Vis (Bel Photonics mod. UV-M51).

Resultados e Discussão

A determinação do teor de cinzas, foi realizada em triplicata assim como, determinação de umidade. Sendo utilizado 2 g de material vegetal para cada estudo, as cinzas totais foram usadas para determinação do material inorgânico, seus valores foram calculados pela equação de Adolfo Lutz 1985, feito média e desvio-padrão dos resultados obtidos.

Cálculo;

$$100 \times N / P = \text{Cinzas por cento m/m}$$

N = n° de gramas de cinzas

P = n° de gramas da amostra

Os valores máximos estipulados pela Farmacopéia Brasileira (2005) para determinação de teor de cinzas totais é de 14% e cinzas insolúveis em ácido 3%, os valores encontrados para as cinzas da casca e folha foram 5,454±0,028 e 7,4173±0,086, já para cinzas insolúveis em ácido, 0,0033±0,0011 e 0,0046±0,0002, encontrando-se de acordo com as especificações. Para determinação de umidade estipulam-se valores entre 8-14%, tendo como resultado para as cascas e folhas 6,283±0,083 e 8,46±0,068, sendo somente as folhas a está de acordo com os valores estabelecidos, tal divergência para as cascas pode ter se ocasionado por possíveis fatores; eliminação de substâncias voláteis nesta temperatura de análise (gravimétrica, 100-105°C por 5h), degradação dos constituintes químicos conforme o tempo, perda de umidade devido às condições de armazenamento ou até mesmo devido ao tamanho do material triturado, contribuindo e acelerando sua perda de umidade.

Na análise granulométrica, foram utilizados 25 g de material para quatro peneiras (ABNT 30, 40, 60, 100), mantidas sob peneiramento vibratório por 15 min. Como a maior concentração de material retido ficou na peneira de diâmetro 150µm e no fundo do prato paras as folhas e cascas, tendo como valores para as folhas, 32,18% na peneira 4 e 67,4% no prato e



para as casca, 30,157% na peneira 4 e 69,691% no prato, determinando assim, o tamanho do material, sendo considerado como pó semifino.

Cálculo de percentual retido em cada tamis: % Retida pelo tamis = $(P1/P2).100$

Quanto ao teor de polifenóis totais, foi preparada uma solução de ácido gálico com metanol para obter uma concentração de 50 g/ L, posteriormente, diluídos para uma subsequente leitura e construção de curva padrão de ácido gálico para as seguintes diluições 0,025; 0,050; 0,1; 0,15; 0,2 e 0,25 g/ L (Cruz N. D. *et al.*, 2020). A equação $y = 0,006482x + 0,01783$ apresentou coeficiente de correlação linear (R^2) de 0,9999, tornando-a adequada para avaliação dos posteriores cálculos de concentração de fenóis totais presentes nos extratos da *G. Ulmifolia* Lam.

As amostras foram diluídas na mesma concentração (1 mL de extrato : 29 mL de água totalizando 30 mL), feitas as leituras em triplicata, calculado média e desvio-padrão obtendo os seguintes resultados para os 4 tipos de extrato: extrato aquoso da casca com valor média de 5,316 mg EAG/ g.L e desvio-padrão de 0,145, extrato hidroalcoólico da casca, $4,234 \pm 0,083$, extrato aquoso das folhas, $0,529 \pm 0,041$, extrato hidroalcoólico das folhas, $0,510 \pm 0,006$. Ressalta-se, que não foram encontrados dados quanto à quantificação de composto fenólicos relacionados a mutamba e seus respectivos extratos para possível comparação.

Em relação aos resultados de taninos e saponinas, os testes realizados (em triplicata) para os extratos aquosos e hidroalcoólicos das folhas apresentaram resultados para taninos hidrolisáveis ou gálicos, já os extratos da casca, apresentaram resultado para taninos condensados ou catéquicos. Quanto à presença de saponinas, somente os extratos hidroalcoólicos da casca não deram positivo para saponinas. Os extratos aquosos da folha e casca como também hidroalcoólico da folha apresentaram resposta positiva, preconizando com os dados encontrados na monografia da planta sobre a presença de taninos e saponinas para os respectivos tipos de extrato (Martins, 2017).

Os Gráficos a seguir, correspondem às leituras feitas no UV-Vis das sínteses realizadas para os respectivos extratos e variações de $AgNO_3$ em pH = 8, temperatura de 50°C, tempo de reação de 24 horas, agitação contínua de 200 rpm.

Gráfico 1: Espectros UV-Vis das sínteses de AgNPs, extratos aquosos da Folha da Mutamba. (E.A.F.) = Extratos Aquosos da Folha.

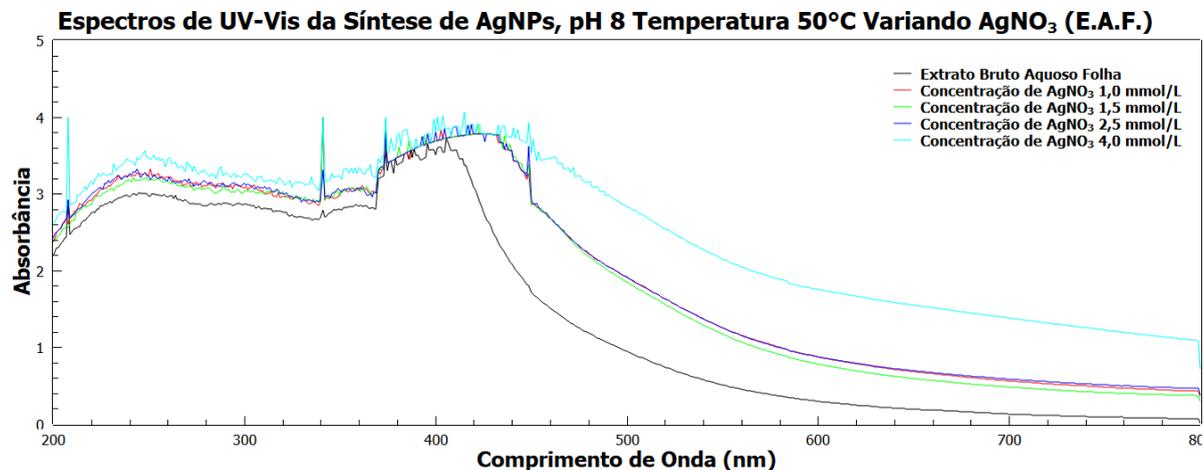


Gráfico 2: Espectro UV-Vis das sínteses de AgNPs, Extratos Hidroalcoólicos da Folha da Mutamba. (E.H.F.) = Extratos Hidroalcoólicos da Folha.

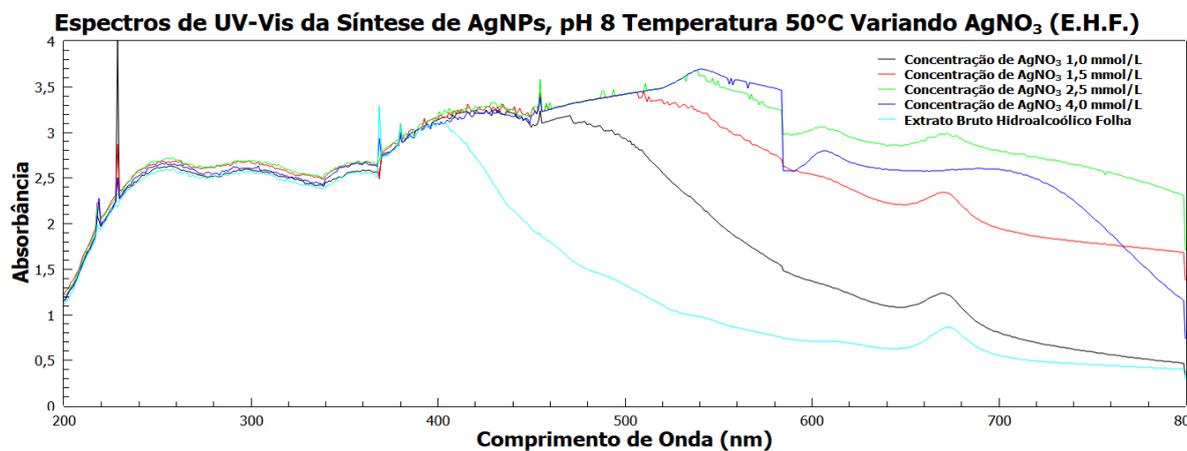


Gráfico 3: Espectro UV-Vis das sínteses de AgNPs, Extratos Aquosos da Casca da Mutamba. (E.A.C) = Extratos Aquosos da Casca.

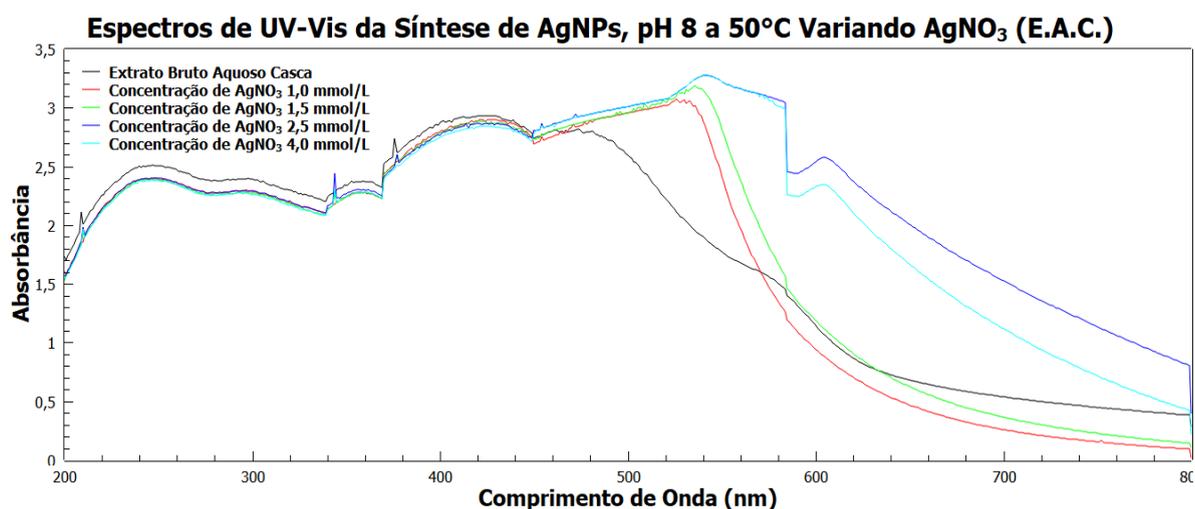
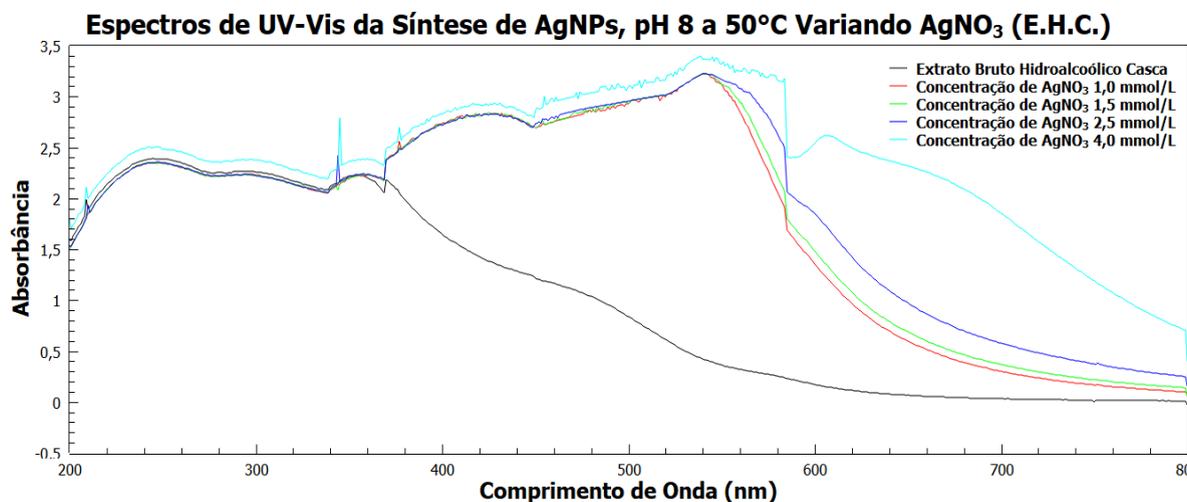


Gráfico 4: Espectro UV-Vis das sínteses de AgNPs, Extratos Hidroalcoólicos da Casca da Mutamba. (E.H.C) = Extratos Hidroalcoólicos da Casca.



Com base em suas análises, é possível comprovar a formação das AgNPs. O indicativo para formação de nano, se dá pela sua mudança de cor durante processo de reação, devido às absorções de radiação na faixa de luz visível de espectro magnético, como também análise de seu comprimento de onda ou alargamento de banda plasmônica característico de formação de AgNPs (O. Velgosová *et al.*, 2016). Esse estudo permite identificar formação de nanopartículas por meio das intenções das bandas plasmônicas de superfície de ressonância, onde haverá elétrons livres do metal oscilando coletivamente ao serem expostos a um comprimento de onda específico de campo eletromagnético (Viswanathan K. *et al.*, 2017). Essas bandas podem ser afetadas pelos seguintes fatores: tamanho, forma e tipo de nanopartículas, bem como pela temperatura e pelas constantes dielétricas do meio reacional (Viswanathan K. *et al.*, 2017; K. Vijayaraghavan *et al.*, 2017).

Da Silva *et al.*, 2015 *apud* Fagundes, 2021 descreve em seu trabalho que o espectro de absorção UV-Vis apresenta diferentes faixas de absorção de bandas plasmônicas para nanopartículas de diferentes morfologias: fio, cubo, esfera, prisma triangular, assim por diante. O que pode explicar seus alargamentos e comprimento de onda característicos em locais diferentes sem ser somente na região de 350-450 nm.

Conclusões

Esse estudo mostrou possível formação de nanopartículas a partir de extratos de folhas e casca da mutamba utilizando métodos sustentáveis de menor impacto ambiental. Os extratos produzidos, mostraram grande potencial para formação de nanopartículas de prata devido a rica presença de metabólitos especiais do espécime mutamba, sendo capazes de exercer seu papel na oxidação, redução e estabilização das nanopartículas metálicas (grupos com hidroxila OH e carbonila C=O). A formação das nanopartículas de prata foram promissoras e podem proporcionar novas linhas de estudos relacionados quando a caracterização e possível aplicações destas nas diversas áreas de interesse, uma vez que a mutamba apresenta propriedades biológicas interessantes.



Agradecimentos

Agradeço a Deus, a minha família, assim como as minhas Orientadoras que atuaram fonte de conhecimento, incentivo, motivação e força nessa caminhada, aos colaboradores, ao Instituto IFG e ao CNPq. Os autores agradecem o auxílio financeiro concedido pela FAPEG (nº 04/2023) e pelo IFG (nº 49/2023).

Referências

1. A. C. Feltrin, A. A. Boligon, V. Janovik and M. L. Athayde, 2012. Antioxidant Potential, Total Phenolic and Flavonoid Contents from the Stem Bark of *Guazuma Ulmifolia* Lam. Asian Journal of Biological Sciences, 5: 268-272. <https://scialert.net/abstract/?doi=ajbs.2012.268.272>.
2. Brasil. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Farmacopeia Brasileira. 6. ed. Brasília: Anvisa, 2019.
3. Brasil. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Farmacopeia Brasileira. 5. ed. Brasília: Anvisa, 2005.
4. Carvalho, P. E. R.. Espécies arbóreas brasileiras: Mutamba - *Guazuma ulmifolia*. Colombo: Embrapa Florestas, Informação Tecnológica, BRASÍLIA, DF, 2007, 13 p.
5. Chiacchio, Adolpho Dias. Testes biológicos com a *Guazuma Ulmifolia* lam. (Mutamba).2020.55f. Dissertação (Mestrado em Ciências da Saúde) – Universidade Federal do Tocantins, Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde, Palmas, 2020.
6. Cruz N. D., Gallio E. Gatto D. A.. Síntese verde de nanopartículas de óxido de zinco. Revista Matéria v.25 N.01, 2020.
7. Fagundes, D. C. G.. Estudo quimiométrico da preparação de nanopartículas de prata aplicações farmacêuticas / Dimitri Carlovich Gouveia Fagundes - Recife – PE – Brasil, 2021.
8. Karen, J. et al. Contribuição ao estudo farmacognóstico da mutamba (*Guazuma ulmifolia* - Sterculiaceae). Acta Farmaceutica Bonaerense, v. 24, n. 2, p. 225-233, 2005.
9. Martins, E. L. C.. Avaliação da atividade biológica do extrato bruto da folha da *guazuma ulmifolia* (Mutamba). 2017. 55f. Dissertação (Mestrado em Ciências da Saúde) – Universidade Federal do Tocantins, Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde, Palmas, 2017.
10. Mohamad, R., Nadya, M., Dewi, A. S., Maria, B.. Phytochemical Profile and Antioxidant Activity of *Guazuma Ulmifolia* Leaves Extracts Using Different Solvent Extraction. Indonesian Journal of Pharmacy vol 31 (3) 2020: 171–180.
11. Velgosová, O., Mražíková, A., Marcinčáková, R.. Influence of pH on green synthesis of Ag nanoparticles. Materials Letters, v. 180, p. 336-339, 2016.
12. Ravindra, H. W., Adole, V. A.. Biological synthesis of silver nanoparticles using plant extracts. Journal of Nanomaterials, v. 10, n. 4, p. 213-220, 2023.
13. Schäfer, T. M. Z., Favero, E., Meinerz, C. C., Bariccatti, R. A.. Síntese de nanopartículas magnéticas: uma revisão sistemática da literatura científica. Revista Mundi Engenharia, Tecnologia e Gestão. Curitiba, PR, v.1, n.2, 16, 2016.
14. Silva, L., Bonatto, P. C. C., Flávio Duque Estrada Soares Pereira, F. D. E. P., Albernaz, L. D., Polez, V. L. P.. Nanotecnologia verde para síntese de nanopartículas metálicas, Capítulo 26. <https://openaccess.blucher.com.br>.
15. Syaefudin, W. T., Wahyuni, I. M., Artika, S., Sulistiyani. Antioxidant Activity of Flavonoid from *Guazuma Ulmifolia* Lamk. Leaves and Apoptosis Induction in Yeast Cells. Journal of Biological Sciences, 14: 305-310, 2014. <https://scialert.net/abstract/?doi=jbs.2014.305.310>.
16. Vijayaraghavan, K., Ashokkumar, T.. Plant-mediated biosynthesis of metallic nanoparticles: A review of literature, factors affecting synthesis, characterization techniques and applications. Journal of Environmental Chemical Engineering, 5 (2017), 4866–4883.
17. Viswanathan, K., Ayyakannu, A., Kasi, G., Periyannan, K., Mariamuthu, G., Naiyf, S. A., Shine, K., Jamal, M. K., Giovanni, B.. *Guazuma Ulmifolia* bark-synthesized Ag, Au and Ag/Au alloy nanoparticles: Photocatalytic potential, DNA/protein interactions, anticancer activity and toxicity against 14 species of microbial pathogens. Journal of Photochemistry & Photobiology, B: Biology 167 (2017) 189–199.