

BIOSÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DE NANOPARTÍCULAS DE COBRE PARA A APLICAÇÃO EM ENGENHARIA DE TECIDOS

Lailla Daianna Soltau Missio Pinheiro¹; Alencar Kolinski Machado²; William Leonardo Da Silva³

RESUMO

As lesões por pressões ocorrem em pacientes acamados, causando riscos adicionais ao paciente, como graves infecções. A nanotecnologia, aliada com a engenharia tecidual, surgem como alternativa para a busca de soluções inovadoras, por meio da aplicação de nanopartículas metálicas para auxílio dessa problemática. Nesse contexto, este trabalho tem o objetivo sintetizar e caracterizar nanopartículas de cobre (CuNPs) pelo método de biossíntese a partir ácido ascórbico, para possível aplicação em curativos cicatrizantes. CuNPs foram caracterizadas pelas técnicas de difração de raios X (DRX), microscopia eletrônica de alta resolução (MEV-FEG) e adsorção/dessorção de N₂ (método BET/BJH). O difratograma mostrou picos característicos das CuNPs com uma estrutura cúbica de face centrada representando cobre metálico. A micrografia das CuNPs mostrou aglomerados heterogêneos devido à biossíntese, com área superficial de 8 m² g⁻¹ e volume de poros de 0,04 cm³ g⁻¹. O perfil de segurança será realizado para verificar a avaliação na engenharia de tecidos.

Palavras-chave: Cobre; Nanopartículas metálicas; Nanotecnologia; Síntese verde.

Eixo Temático: Tecnologia, inovação e desenvolvimento sustentável (TIDS).

1. INTRODUÇÃO

É notório que as lesões por pressão (LPs) consistem em um sério problema de saúde pública, em virtude das mudanças estruturais (rompimentos) que ocorrem na pele, afetando principalmente pacientes acamados e/ou tetraplégicos (SANTOS *et al.*, 2021). Assim, LPs são caracterizadas pelas interrupções do tecido cutâneo-músculo e/ou alterações anatômicas/fisiológicas da pele, podendo ser de longa evolução e de resposta terapêutica variável (BRASIL, 2008). Desse modo, o curativo

¹ Doutoranda do Programa de Pós-Graduação em Nanociências – Universidade Franciscana (UFN) – laillapinheiro@ufn.edu.br;

² Coorientador – Professor do Programa de Pós-Graduação em Nanociências – Universidade Franciscana (UFN) – alencar.machado@ufn.edu.br;

³ Orientador – Professor do Programa de Pós-Graduação em Nanociências – Universidade Franciscana (UFN) – w.silva@ufn.edu.br.

é a principal indicação para o cuidado apropriado para as lesões abertas, a fim de promover maior conforto e segurança para o paciente (LIMA; COLTRO; FARINA, 2017). Entretanto, existe a necessidade de busca de tecnologias alternativas que visam uma recuperação mais acelerada, a fim de reduzir dores e o risco de infecção local, como a aplicação da nanotecnologia em curativos associada com a engenharia tecidual.

A nanotecnologia é definida como uma “tecnologia em nanoescala”, por meio da manipulação de materiais em níveis atômicos e moleculares (TEKADE *et al.*, 2017; RAMSDEN, 2016). Em virtude do tamanho nanométrico, esses materiais adquirem propriedades específicas, como uma maior área superficial e porosidade (TEKADE; CHOUGULE, 2013). As nanopartículas metálicas (MNPs) têm se destacado devido às suas propriedades funcionais, como biológicas, antimicrobianas, catalíticas, ópticas, magnéticas e elétricas (SAHOO; PARVEEN; PANDA, 2007), proporcionando uma série de aplicações em diversas áreas, como medicina, desenvolvimento de medicamentos, análises clínicas e sensores (ZHANG; WANG, 2014; SHANG; DONG; NIENHAUS, 2011; BECERRIL; WOOLLEY, 2009).

Dentre as MNPs, as nanopartículas de cobre (CuNPs) destacam-se por apresentar propriedades específicas, que quando associadas como outros sistemas nanoestruturados, pode promover benefícios ao sistema imunológico, efeitos anti-inflamatórios, anticancerígenos, analgésicos e antimicrobianos (SHOTOP; AL-SUWITI, 2021), adquirindo considerável espaço dentro da engenharia tecidual. Assim, os processos de biossíntese ou síntese verde vêm sendo utilizados a partir de agente redutores (microrganismos ou biomoléculas) de precursores metálicos, promovendo a formação da nanopartícula metálica sustentáveis e reduzindo os impactos ecológicos (SOHAIL *et al.*, 2019; CORSI *et al.*, 2018; BAGHAYERI *et al.*, 2018).

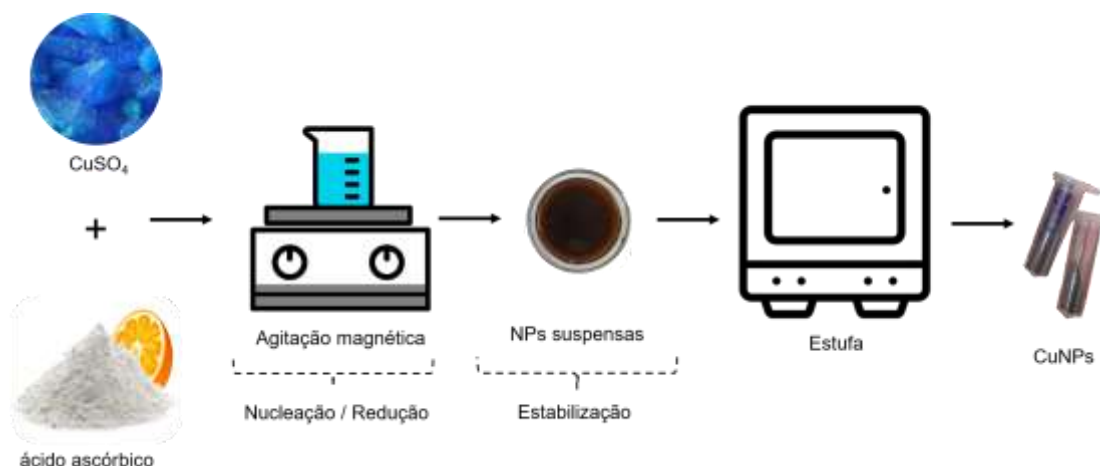
Neste contexto, este trabalho tem como objetivo sintetizar nanopartículas de cobre, usando o ácido ascórbico como redutor metálico, para possível aplicação na engenharia tecidual.

2. METODOLOGIA

2.1 SÍNTESE DAS NANOPARTÍCULAS DE COBRE

As CuNPs foram sintetizadas conforme adaptação da literatura (JAHAN; ERCI; ISILDAK, 2021). Assim, ácido ascórbico ($C_6H_8O_6$) (Synth) foi adicionado em água destilada, sob agitação magnética por 10 minutos ($50\text{ }^{\circ}\text{C}$ / 400 rpm), em seguida o precursor metálico, $CuSO_4$ (Synth), foi adicionada na solução ($90\text{ }^{\circ}\text{C}$ / 500 rpm). Após, houve a formação de uma sobrenadante de coloração marrom, oriundo do processo de redução do cobre, deixando precipitar por 12 horas sob temperatura ambiente ($25 \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$). Por fim, o precipitado foi seco em estufa (100°C / 12 hrs). A Figura 1 apresenta uma representação esquemático do processo de biossíntese das CuNPs.

Figura 1 - Representação esquemática do processo de biossíntese das CuNPs.



Fonte: Construção da autora.

2.2 TÉCNICAS DE CARACTERIZAÇÃO

A difração de raios X (DRX) foi realizada para identificar as fases cristalinas presentes na amostra, utilizado um difratômetro da marca Bruker, modelo D2 Advance, com tubo de cobre (radiação $K_{Cu-\alpha} = 0,15418\text{ nm}$), na faixa de 2θ de 5° a 70° (incremento de $0,05^{\circ}$ por segundo) e tensão de aceleração e corrente aplicada de 30 kV e 30 mA, respectivamente, tomando como base os dados JCPDS (Joint Committee on Powder Diffraction Standards).

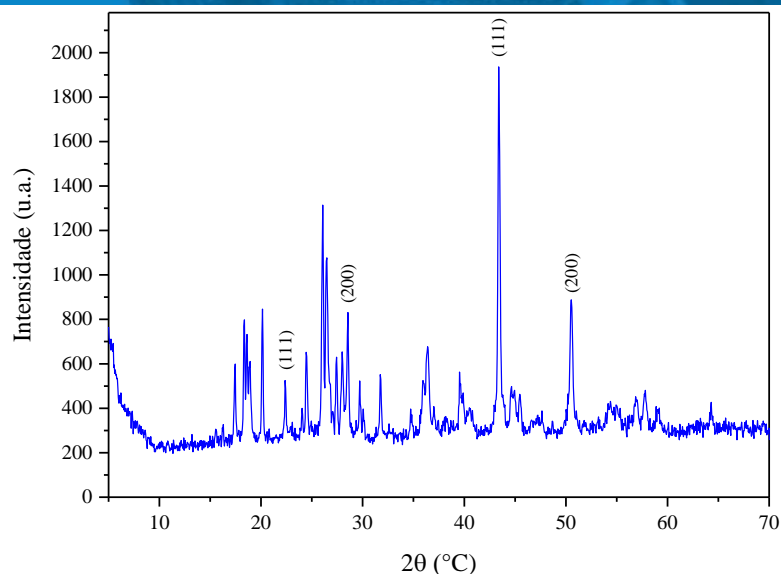
A fim de avaliar as características morfológicas das CuNPs foi realizada a utilizada a microscopia eletrônica de alta resolução (MEV-FEG) utilizando um microscópio eletrônico de varredura MIRA3 (TESCAN, Czech Republic), com aceleração de 10 kV e distância de trabalho 500 nm com magnificação de 100kx.

Para a determinação das propriedades texturais das CuNPs, como a área específica e porosidade (diâmetro e volume de poros), foi utilizada a adsorção/dessorção de N₂ em um equipamento ASAP 2020 da Micromeritics®. A área específica (S_{BET}) foi determinada pela Equação de Brunauer-Emmett-Teller (Método BET), na faixa de $P/P_0 = 0,05$ a $1,0$, enquanto a porosidade pela Equação de Barret-Joyner-Halenda (Método BJH) (THOMMES *et al.*, 2015).

3. RESULTADOS E DISCUSSÕES

A Figura 2 apresenta o difratograma das CuNPs, onde picos característicos foram identificados em $28,54^\circ$, $43,24^\circ$; $50,35^\circ$, com planos cristalinos (200), (111) e (200), respectivamente, de acordo com o JCPDS (database #04-014-0265 card number), com estrutura cúbica de face centrada (CFC) do Cu metálico e tamanho médio de cristalito de 43,6 nm, em relação ao plano (111). Destaca-se que os picos em $18,31^\circ$ e $45,46^\circ$ mostram picos característicos do CuSO₄ não reduzidos, e os picos em $17,40^\circ$, $24,29^\circ$ e $26,06^\circ$ representam os picos característicos do ácido ascórbico (NASROLLAHZADEH; SAJADI; KHALAJ, 2014), que permaneceram na amostra após a redução/estabilização das nanopartículas.

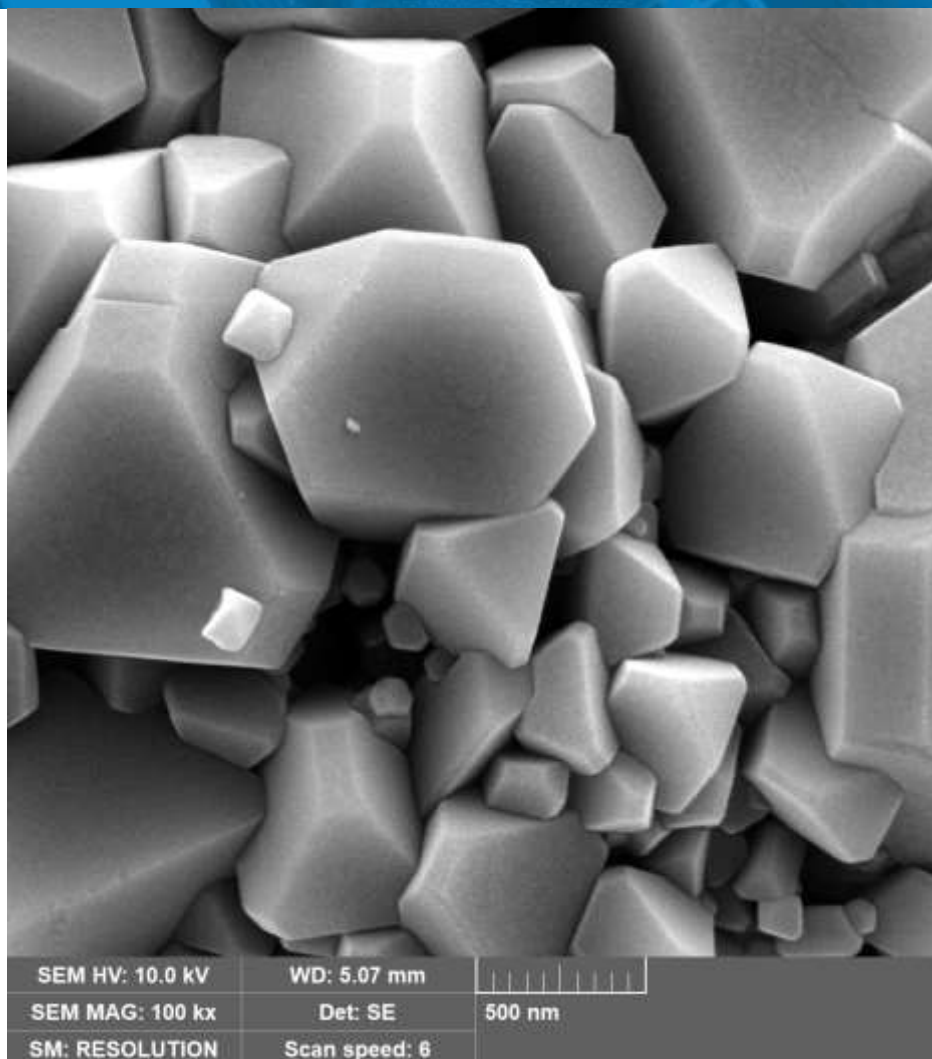
Figura 2 - Difratograma de raios X das CuNPs.



Fonte: Construção da autora.

A Figura 3 apresenta a micrografia das CuNPs com uma magnificação de 100kx, onde foi possível observar aglomerados em formatos piramidais, associado ao precursor metálico reduzido pelo ácido ascórbico, com tamanho médio de 139,2 nm ($\pm 40,2$ nm), indo ao encontro da literatura (KHANNA *et al.*, 2007).

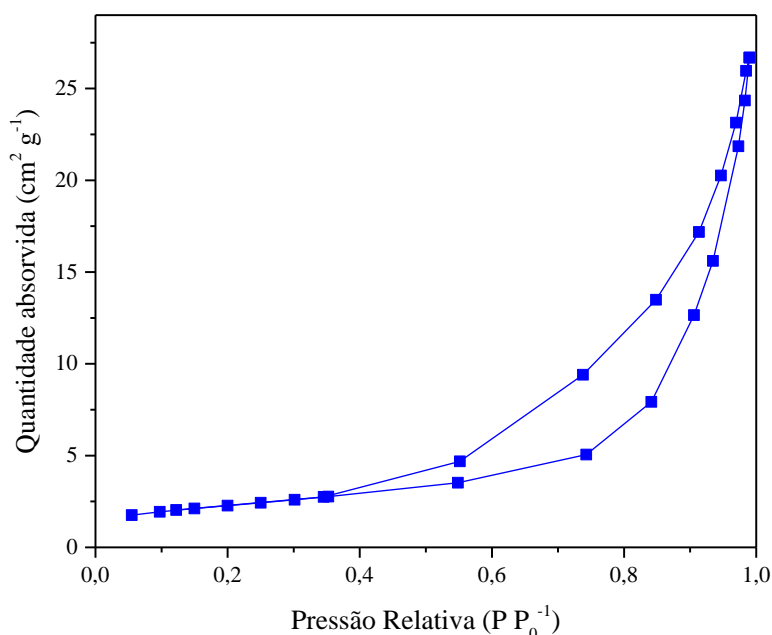
Figura 3 – Micrografia de alta resolução das CuNPs com ampliação de 100kx.



Fonte: Construção da autora.

As propriedades texturais, como área superficial (S_{BET}) e porosidade (D_p e V_p), das CuNPs foram determinadas pela técnica de porosimetria de N_2 . Assim, a Figura 4 apresenta as isotermas de absorção/dessorção, indicando a presença isotermas do tipo V, com curva de histerese do tipo H3 com poros cilíndricos e abertos com estrangulações e morfologia tipo garrafa para CuNPs, característicos de sólidos mesoporosos com preenchimento em multicamadas (IUPAC, 1972). As CuNPs preparadas a partir do ácido ascórbico apresentaram uma área superficial (S_{BET}) de $8\text{ m}^2\text{ g}^{-1}$, e volume de poros (V_p) de $0,040\text{ cm}^3\text{ g}^{-1}$, diâmetro de poros (D_p) de $20,53\text{ nm}$, indicando um comportamento mesoporoso ($2 < D_p < 50\text{ nm}$) (KUMAR *et al.*, 2019).

Figura 4 - Isoterma de absorção/dessorção das CuNPs.



Fonte: Construção da autora.

4. CONCLUSÃO

Com o presente trabalho, foi possível sintetizar e caracterizar CuNPs pelo método de biossíntese com pico característico de cobre metálico em 43,24°, morfologia heterogênea e com aglomerados, isoterma do tipo V e histerese H3. Assim, pretende-se realizar testes biológicos para determinar o perfil de segurança e a possível aplicação na engenharia de tecidos em células HFF1.

AGRADECIMENTOS

A PROSUC CAPES – Modalidade II pelo incentivo, a UFN e ao Programa de Pós-Graduação em Nanociências.

REFERÊNCIAS

- BAGHAYERI, M.; MAHDAVI, B.; ABADI, Z.H.M.; FARHADI, S. Green synthesis of silver nanoparticles using water extract of *Salvia leriifolia*: Antibacterial studies and applications as catalysts in the electrochemical detection of nitrite. **Applied Organometallic Chemistry**, v. 32, p. e4057 – e4062, 2018.
- BECERRIL, H.A.; WOOLLEY, A.T. DNA-templated nanofabrication. **Chemical Society Reviews**, v. 38, p. 329-337, 2009.

BRASIL. **Manual de condutas para tratamento de úlceras em hanseníase e diabetes**. Edição e a editora?? 2008.

CORSI, I.; WINTHER-NIELSEN, M.; SETHI, R.; PUNTA, C.; TORRE, C.D.; LIBRALATO, G.; LOFRANO, G.; SABATINI, L.; AIELLO, M.; FIORDI, L.; CINUZZI, F.; CANESCHI, A.; PELLEGRINI, D.; BUTTINO, I. Ecofriendly nanotechnologies and nanomaterials for environmental applications: Key issue and consensus recommendations for sustainable and ecosafe nanoremediation. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 154, p. 237-244, 2018.

IUPAC. Manual of symbols and Terminology. **Pure Applied Chemical**, v. 31, p. 578, 1972.

JAHAN, I.; ERCI, F.; ISILDAK, I. Facile microwave-mediated green synthesis of non-toxic copper nanoparticles using Citrus sinensis aqueous fruit extract and their antibacterial potentials. **Journal of Drug Delivery Science and Technology**, v. 61, p. 102172 - 102185, 2021.

KHANNA, P. K.; GAIKWAD, S.; ADHYAPAK, P. V.; SINGH, N., MARIMUTHU, R. Synthesis and characterization of copper nanoparticles. **Materials Letters**, v. 61, p. 4711-4714, 2007.

KUMAR, A.; ZHANG, Y.; TERRACCIANO, A.; ZHAO, X.; SU, T.L.; KALYSON, D.M.; KATEBIFAR, S.; KUMBAR, S.G.; YU, X. Load-bearing biodegradable polycaprolactone-poly (lactic-co-glycolic acid)-beta tri-calcium phosphate scaffolds for bone tissue regeneration. **Polymers for Advanced Technologies**, v. 30, p. 1189 - 1197, 2019.

LIMA, R.V.K.S.; COLTRO, P.S.; FARINA, J.A. Terapia por pressão negativa no tratamento de feridas complexas. **Revista do Colégio Brasileiro de Cirurgões**, v. 44, p. 81-93, 2017.

NASROLLAHZADEH, M.; SAJADI, S.M.; KHALAJ, M. Green synthesis of copper nanoparticles using aqueous extract of the leaves of *Euphorbia esula* L and their catalytic activity for ligand-free Ullmann-coupling reaction and reduction of 4-nitrophenol. **RSC Advances**, v. 4, p. 47313-47318, 2014.

RAMSDEN, J. **Nanotechnology: an introduction**. 1st ed. Nova York: William Andrew, 2016.



RANI, P.; TRIVEDI, L.; GAURAV, S.S.; SINGH, A.; SHUKLA, G. Green synthesis of silver nanoparticles by *Cassytha filiformis* L. extract and its characterization.

Materials Today: Proceedings, v. 49, p. 3510 – 3516, 2021.

SAHOO, S. K.; PARVEEN, S.; PANDA, J. J. The present and future of nanotechnology in human health care. **Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine**, v. 3, p. 20-31, 2007.

SANTOS, J.M.G.; DA SILVA, A.C.; DE AMORIM, C.F.; FILHO, E.S.P. O laser no tratamento de lesão por pressão. **Research, Society and Development**, v. 10, p. e2910917853 -e2910917853, 2021.

SHANG, L.; DONG, S.; NIENHAUS, G. Ulrich. Ultra-small fluorescent metal nanoclusters: synthesis and biological applications. **Nano today**, v. 6, p. 401-418, 2011.

SHOTOP, Y.M.; AL-SUWITI, I.N. The possible role of vitamins E and C in reducing the toxicity of copper nanoparticles in the kidney and liver of the rats (*Rattus norvegicus*). **Journal of King Saud University-Science**, v. 33, p. 101357 - 101363, 2021.

SOHAIL, M.I.; WARIS, A.A.; AYUB, M.A.; USMAN, M.; REHMAN, M.Z.; SABIR, M.; FAIZ, T. **Chapter 1 - Environmental application of nanomaterials: A promise to sustainable future**. In: Comprehensive Analytical Chemistry. 1st ed. Nova York: Elsevier, p. 1-54, 2019.

TEKADE, R.K.; CHOUGULE, M.B. Formulation development and evaluation of hybrid nanocarrier for cancer therapy: Taguchi orthogonal array-based design. **BioMed Research International**, v. 2013, p. 712678 – 712695, 2013.

TEKADE, R.K.; MAHESHWARI, R.; SONI, N. **Chapter 1—Nanotechnology for the development of nanomedicine**. In: Kesharwani P, Amin MCIM, Iyer A (eds) Nanotechnology-based approaches for targeting and delivery of drugs and genes. Academic, New York, p. 33–61, 2017.

THOMMES, M.; KANEKO, K.; NEIMARK, A.V.; OLIVIER, J.P.; REINOSO, F.R.; ROUQUEROL, J.; SING, K.S.W. Physisorption of gases, with special reference to the evaluation of surface area and pore size distribution (IUPAC Technical Report). **Pure and Applied Chemistry**, v. 87, p. 1051-1069, 2015.



ZHANG, L.; WANG, E. Metal nanoclusters: new fluorescent probes for sensors and bioimaging. **Nano Today**, v. 9, p. 132-157, 2014.