

ESTUDO DA INTERAÇÃO DO ÓXIDO DE GRAFENO COM FLAVONOIDES

Isabella Stefanoni Teixeira de Almeida (IC) e Anamaria Dias Pereira Alexiou (orientadora)

Apoio: PIVIC Mackenzie e PIBIC CNPq

RESUMO

Flavonóides são compostos polifenólicos, com baixa solubilidade em água que podem ser encontrados em frutas, vegetais, plantas, bebidas entre outros alimentos, e possuem ação antioxidante, antitumoral e outros benefícios para a saúde, assim contendo propriedades farmacológicas úteis para o tratamento de doenças. Uma possibilidade para a absorção destes componentes em seres vivos é utilizando o grafeno como transporte de flavonoides, porém para a redução do GO é utilizado hidrazina que é um produto corrosivo, potencialmente explosivo e tóxico. Neste trabalho, estudamos a interação dos flavonoides, apigenina, naringenina e quercetina, com o óxido de grafeno afim de verificar se eles reduzem o GO para gerar grafeno, se esses polifenóis são capazes de substituir a hidrazina tornando o processo ambientalmente seguro e para verificar se adsorvem no GO e assim confirmar que o GO pode ser usado como liberador de fármacos. Os resultados obtidos sugerem que os flavonoides são capazes de reduzir o GO, em pequena escala. Mas, os estudos não foram conclusivos sobre a capacidade do GO de transportar flavonoides.

Palavras-chave: Apigenina, Naringinina, Flavonóides.

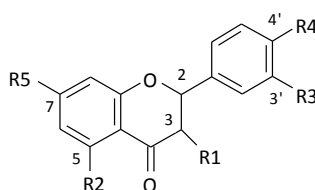
ABSTRACT

Flavonoids are polyphenolic substances with low water solubility that can be found in fruits, vegetables, plants, drinks and other foods, and have antioxidant, antitumor and other health benefits actions, thus having useful pharmacological properties for the treatment of diseases. One possibility for the absorption of these components in living beings is using graphene as transportation of flavonoids, but to reduce the GO hydrazine is used which is a corrosive, potentially explosive and toxic product. In this work, we studied the interaction of flavonoids, apigenin, naringenin and quercetin, with the graphene oxide in order to see if they reduce GO to generate graphene, if these polyphenols are able to replace hydrazine making environmentally safe process and to verify if they adsorb in GO and so confirm that GO can be used as delivery agents. The results obtained suggest that flavonoids are able to reduce the GO on a small scale. However, studies were inconclusive on the capacity GO of carrying of flavonoids.

Keywords: Apigenin, Naringenin, Flavonoid

INTRODUÇÃO

Flavonóides são compostos polifenólicos, de baixo peso molecular, que podem ser encontrados em frutas, vegetais, plantas, entre outros alimentos, e possuem ação antioxidante, anti-inflamatória, antialérgica e antitumoral (ANDERSEN, 2006). Possuem um sistema de três anéis hexagonais incluindo dois aromáticos ligados através de três carbonos que normalmente formam um anel heterocíclico oxigenado (figura 1). São de baixa solubilidade em água causando uma limitação na aplicação em seres vivos. Uma alternativa é o uso do grafeno para atuar como transporte de flavonóide em organismos vivos.



Substância	Insaturação	R1	R2	R3	R4	R5
Naringenina	Ausente	H	OH	H	OH	OH
Apigenina	2,3	H	OH	H	OH	OH
Quercetina	2,3	OH	OH	OH	OH	OH

Figura 1: Esquema da estrutura de alguns flavonóides, com o sistema de numeração da IUPAC.

Grafeno, uma das formas alotrópicas do carbono, é um material bidimensional onde os átomos apresentam um arranjo hexagonal. O grafeno de alta qualidade é transparente, mais forte que o aço e apresenta uma alta condutividade elétrica e térmica. (NOBEL PRIZE, 2012). Hoje em dia o método mais utilizado para a obtenção do grafeno é a redução do óxido de grafeno (GO), que por ser um processo simples e de baixo custo é considerado um possível meio de produção industrial. A redução química do GO com hidrazina possui desvantagens, por ser um produto corrosivo, potencialmente explosivo e tóxico.

Na procura de métodos menos agressivos, eficientes, biocompatíveis e ambientalmente corretos, alguns pesquisadores tem empregado o chá verde (AKHAVAN et al., 2012; WANG et al., 2011) e polifenóis (LIAO et al., 2011) para a redução do GO.

Recentemente, Rahmanian e colaboradores (2014) desenvolveram uma metodologia para incorporar quercetina em GO. O GO contendo quercetina apresentou estabilidade em soluções fisiológicas e toxicidade negligenciável in vitro. Portanto, é um sistema promissor para liberação controlada de fármacos.

Com isso, neste trabalho estudamos a interação do óxido de grafeno com os flavonoides apigenina e naringenina e quercetina com o intuito de verificar se eles

a) reduzem o GO para gerar grafeno, conforme proposto por Liao e colaboradores (2011), e se esses polifenóis são capazes de substituir a hidrazina tornando o processo ambientalmente seguro.

b) adsorvem no GO como descrito no trabalho de Rahmanian e colaboradores (2014), e assim confirmar que o GO pode ser usado como liberador de fármacos.

Nanopartículas de prata serão geradas *in situ* para tentar melhor visualizar o flavonoide sobre o óxido de grafeno. Moléculas adsorvidas sobre metais como ouro e prata tem o sinal obtido no espectro Raman significativamente intensificado (FARIA; TEMPERINI; SALA, 1999).

REFERENCIAL TEÓRICO

O óxido de grafite possui carbonos com hibridização sp^3 e grupos funcionais como hidroxila (-OH), epóxi (-O-) e carbonila (C=O) em sua estrutura. A esfoliação química ocasiona um espaçamento interlamelar do grafite que facilita a quebra das ligações de Van der Waals, com isso se torna mais fácil dispersar as camadas do óxido de grafite em água e outros solventes, gerando óxido de grafeno (MATTEVI *et al.*, 2009).

A síntese do óxido de grafite é feita pelo método de Hummers, o método mais utilizado hoje em dia. Nesse método o grafite é oxidado em meio ácido e na presença de agentes oxidantes como permanganato de potássio e ácido sulfúrico (DREYER *et al.* 2010) seguido da redução química do óxido de grafeno (GO). A redução do GO pode ser feita utilizando hidrazina, dimetilhidrazina, hidroquinona, entre outros agentes redutores. O mais utilizado para a redução é a hidrazina, porém há desvantagens no uso por ser um produto corrosivo, potencialmente explosivo e tóxico. Além disso, forma átomos de carbono com hibridização sp^3 e alguns ligados a átomos de nitrogênio, os quais reduzem a esperada alta mobilidade e condutividade dos elétrons deste nanomaterial. Grafeno obtido dessa forma tende a formar agregados de modo irreversível, devido às fortes forças de Van der Waals entre as camadas (AKHAVAN *et al.*, 2012).

Na procura de métodos menos agressivos e ambientalmente corretos para a redução do GO, Akhavan e colaboradores empregaram chá verde. Encontramos na literatura o uso de melatonina, vitamina C, açúcar e proteína de albumina de soro bovino para a redução do GO. Esses agentes redutores podem ser muito úteis em casos específicos, porém não são muito viáveis devido à alta temperatura que necessitam para poder reduzir ou a necessidade de co-redutor devida a baixa capacidade de reduzir, como a vitamina C que necessita de 180 °C. O

uso do chá verde vem atraindo muita atenção devido ao fato de que o chá verde contém uma grande concentração de polifenóis e uma grande quantidade de epigallocatequina e galato de epigallocatequina (EGCG), que é conhecido como o antioxidante mais potente proveniente do chá verde. Íons metálicos, como o ferro, podem ter influência sobre a atividade antioxidante do composto. (AKHAVAN et al.,2012, LIAO et al., 2011).

No trabalho de Akhavan e colaboradores(2012) eles adicionaram 10 g de chá verde em 100 mL de água à temperatura de 80-86°C e após 10 minutos, a suspensão foi filtrada duas vezes. Para reduzir o GO (0,1 mg/mL), feito pelo método de Hummers modificado, a solução de chá verde foi adicionada a um volume igual da solução de GO à temperatura ambiente. A solução foi agitada a 400 rpm enquanto foi aquecida a temperaturas de 40, 60 e 80 °C durante 10 minutos. E em uma experiência separada uma folha de Fe, 1mm, foi adicionada suspensão de GO com chá verde durante o processo de agitação e aquecimento.

Já no trabalho de Liao e colaboradores(2011), a metodologia sofre uma pequena alteração. Foi adicionado EGCG (25% em peso em relação ao GO) a uma suspensão de GO (1mg/mL), feito pelo método de Hummers modificado, e a mistura foi sonicada por 30 minutos e em seguida a suspensão foi aquecida a 80 °C por 8 horas e então filtrada.

Foi concluído que o nível de desoxigenação e de condutividade elétrica em folhas de GO com polifenóis do chá verde na presença de ferro a 40 °C, são comparáveis ao GO reduzido por hidrazina e melhor que o GO reduzido pelos polifenóis do chá verde na ausência de ferro a 80°C (AKHAVAN et al.,2012). E como um processo ambientalmente correto e de baixo custo o uso de EGCG tem se demonstrado eficiente para reduzir GO. O grafeno pode ser disperso em água, álcoois e solventes polares (LIAO et al., 2011).

METODOLOGIA

Reagentes, solventes e equipamentos utilizados

Neste estudo foi utilizado grafite (Aldrich, <45µm), ácido sulfúrico (Synth), permanganato de potássio (Nuclear), peróxido de hidrogênio (Dinâmica), óxido de grafeno sintetizado no laboratório (GO4M1) e comercial da (Sigma Aldrich, 2mg/mL), quercetina, apigenina e naringenina, todos os flavonoides da Sigma Aldrich e etanol (Synth, P.A) e vitamina C (Merck) e nitrato de prata (Lafan).

O teor de carbono e hidrogênio nas amostras do óxido de grafite foi determinado num analisador da Perkin Elmer CHN 2400 da Central Analítica do Instituto de Química da USP.

Os espectros eletrônicos na região de 190 a 1100nm foram obtidos num espectrofotômetro da Agilent modelo 8453, utilizado cubetas de quartzo de 1cm de caminho óptico.

Os espectros na região do infravermelho foram obtidos em um espectrômetro da Shimadzu modelo IRAffinity-1, no intervalo de 4000 a 400 cm^{-1} , a partir da amostra dispersa em pastilha de KBr.

Um banho ultrassônico da Cole-Parmer modelo 08891-01 foi utilizado para a dispersão do óxido de grafeno em água e a dissolução dos flavonoides em etanol.

Mesa agitadora orbital 645/T da Biotech foi usada para agitar as soluções contendo GO e os flavonoides por 7 dias a temperatura ambiente.

Banho termostático MPC-K6 Huber foi usado no experimento da tentativa de redução do óxido de grafeno com flavonóide, a temperatura constante de 80°C.

Obtenção do óxido de grafeno (GO4M1)

O óxido de grafite (GrO) foi obtido empregando o método de Hummers modificado (DIMIEV; ALEMANY; TOUR, 2013). Num béquer de 1L adicionou-se 3,0056g de grafite, 200 mL de ácido sulfúrico e a mistura de cor cinza permaneceu sob agitação por 1h. A temperatura observada foi em média de 28°C. Em seguida na mistura de ácido e grafite colocou-se lentamente 9,0477g de KMnO_4 , com auxílio de uma coluna de vidro (modificada) e manteve-se a agitação da mistura por 3h. A solução adquiriu uma coloração muito escura (preto) e a temperatura observada nesta etapa foi em média de 32°C. Em seguida, o béquer foi colocado em banho de gelo e adicionou-se lentamente, com auxílio de uma coluna de vidro (modificada), 600 mL de H_2O destilada. Após adição da água, manteve-se sob agitação o meio reacional por 15 minutos. A cor da mistura mudou para marrom escura e a temperatura observada foi em média de 92°C. Após esse tempo, adicionou-se 4,5 mL de H_2O_2 30%. O meio reacional mudou de cor, passando de marrom escuro para marrom esverdeado e observou-se a liberação de oxigênio. O sólido foi filtrado à vácuo utilizando um papel de filtro qualitativo e lavado com 200 mL de água, 200 mL de solução de HCl 10%, 200 mL de água e 200 mL de etanol e seco a vácuo. Obteve-se 4,46g de um sólido de cor marrom escuro. Análise elementar: %C = 44,2; %H=2,72.

Para a realização dos experimentos, óxido de grafite obtido foi disperso em água, sonificado em banho ultrassônico por 1 hora, gerando o óxido de grafeno (GO) convencional.

Obtenção do sistema grafeno-flavonoide

A incorporação dos flavonoides (naringenina e apigenina) no GO foi feita seguindo o procedimento descrito por Rahmanian e colaboradores (2014).

1ª Tentativa

Em três balões de 25mL foram colocados, separadamente, 0,02503g de quercetina, 0,02508g de apigenina, 0,02501g de naringenina e o volume dos balões foi completado com etanol. As soluções ficaram em banho ultrassônico por 30 minutos cada.

0,05017g de óxido de grafeno (GO4M1) foi adicionado a um balão de 100mL, o volume foi completado com H₂O deionizada e a mistura permaneceu num banho ultrassônico por 1hora. A seguir a suspensão foi dividida em quatro erlenmeyers: em três deles foi colocada a solução contendo um dos flavonoides e 1 erlenmeyer ficou somente com a suspensão de GO para controle.

As suspensões foram colocadas em mesa agitadora orbital por sete dias, totalizando 54 horas e 26 minutos (10 dias em contacto contando o fim de semana em que permaneceu em repouso). Após os 7 dias as suspensões foram filtradas a vácuo e os sólidos foram lavados com água e secos em dessecador a vácuo.

2ª Tentativa

Em dois balões de 25mL foram colocados, separadamente, 0,02515g de quercetina 0,02530g de apigenina e completou-se o volume dos balões com etanol. As soluções ficaram em banho ultrassônico por 30 minutos cada.

Para a diluição do óxido de grafeno comercial que tem uma concentração de 2mg/mL foram feitas duas soluções com 12,5mL de óxido de grafeno e 12,5mL de água destilada, que foram colocadas em dois erlenmeyers, os quais continham solução de cada um dos flavonoides. Como controle preparou-se uma solução contendo 12mL de óxido de grafeno, 12 mL de água e 24 mL de etanol.

As suspensões foram colocadas em mesa agitadora orbital por sete dias, totalizando 56 horas (doze dias em contacto contando o fim de semana em que permaneceu em repouso). Após os sete dias as suspensões foram filtradas a vácuo e os sólidos foram lavados com água e secos em dessecador a vácuo.

3ª Tentativa

Em quatro balões de 50mL foram colocados, separadamente, 0,05010g de quercetina, 0,05030g de apigenina, 0,05060g de naringenina e completou-se o volume dos balões com etanol. Para melhor dissolução dos flavonoides, as soluções foram deixadas em banho ultrassônico por 30 minutos cada.

Em um balão de 200mL foi adicionado 0,10075g de GO (GO4M1), completou-se o volume com H₂O deionizada e a mistura permaneceu num banho ultrassônico por 1 hora. A seguir a suspensão foi dividida em quatro erlenmeyers, contendo 25mL cada um, e então as soluções contendo flavonoides foram adicionadas.

As suspensões foram colocadas em mesa agitadora orbital por sete dias, totalizando 56 horas (12 dias em contacto contando o fim de semana em que permaneceu em repouso). Após os 7 dias as suspensões foram filtradas a vácuo e os sólidos foram lavados com água e secos em dessecador a vácuo.

4ª Tentativa

Em um balão de 100mL foi colocado 0,10050g de quercetina e completou-se o volume etanol. Para melhor dissolução a solução foram deixadas em banho ultrassônico por 30 minutos.

Em 1 balão de 50mL adicionou-se 0,05080g de GO e completou-se o volume com água deionizada. A solução ficou em banho ultrassônico por 1 hora. A seguir, a solução de GO foi dividida em dois erlenmeyers, e em um deles foi adicionado a solução de quercetina.

A solução ficou em mesa agitadora orbital por 7 dias, totalizando 56 horas (14 dias em contacto contando o fim de semana em que permaneceu em repouso). Após os 7 dias a suspensão foi filtrada a vácuo e o sólido lavado com água e seco em dessecador a vácuo.

Um resumo das condições experimentais empregadas em todas as tentativas é mostrado na tabela 1.

Tabela1: Resumo das concentrações do óxido de grafeno (GO), dos flavonoides quercetina, apigenina e naringenina utilizadas no experimento de incorporação do flavonoide em GO e a proporção em massa deles.

Tentativas	Tipo de GO	[GO] mg/mL	[quercetina] mol/L	[apigenina] mol/L	[naringenina] mol/L	GO:Q m/m
1 ^a	GO4M1	0,25	$1,65 \cdot 10^{-3}$	$1,86 \cdot 10^{-3}$	$1,84 \cdot 10^{-3}$	1:2
2 ^a	Sigma	0,50	$1,66 \cdot 10^{-3}$	$1,87 \cdot 10^{-3}$	-	1:1
3 ^a	GO4M1	0,17	$2,20 \cdot 10^{-3}$	$2,48 \cdot 10^{-3}$	$2,46 \cdot 10^{-3}$	1:2
4 ^a	GO4M1	0,20	$2,65 \cdot 10^{-3}$	-	-	1:4

Redução do óxido de grafeno com flavonoides

O processo de redução foi realizado segundo o procedimento de Liao e colaboradores (2011).

Em um balão de 100mL adicionou-se 0,10080g de quercetina e completou-se o volume com etanol. Para melhor dissolução a solução foi deixada em banho ultrassônico por 30 minutos.

A solução de GO feita anteriormente (4^a tentativa) foi dividida em dois erlenmeyers, onde em um deles foi adicionado a solução contendo o flavanóide. A solução ficou em banho termostático com temperatura constante de 80°C por 8 horas (5 dias em contato). O sobrenadante foi separado com pipeta, e o sólido foi lavado com água deionizada, filtrado à vácuo usando um filtro de náilon de 0,47μm e seco em dessecador com vácuo.

Preparação de nanopartículas de prata

O procedimento de preparação das nanopartículas de prata foi baseado numa demonstração disponível *online* (CONDOMITTI, 2014). Em um balão volumétrico de 200mL foi adicionado 20mg de AgNO₃ e o volume foi completado com água deionizada. E, num béquer de 500mL dissolveu-se uma pastilha de vitamina C em 200mL de água deionizada. Em seguida, 50mL da solução de nitrato de prata, contida num béquer de 150mL, foi aquecido até entrar em ebulição e então foram adicionadas 2 gotas da solução de vitamina C.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os espectros eletrônicos do óxido de grafeno (figura 2) apresenta uma banda ao redor de 230 nm e um ombro em 300nm, que são atribuídos às transições $\pi-\pi^*$ das ligações aromáticas C-C (KUILA et al., 2012) e $n-\pi^*$ das ligações C=O (LIAO et al., 2011).

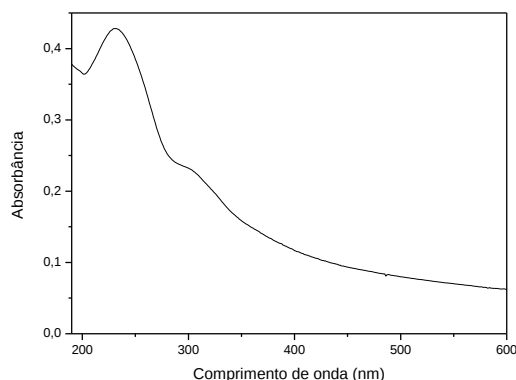


Figura 2. Espectro eletrônico de uma solução contendo óxido de grafeno (0,3mg/mL)

Obtenção do sistema grafeno-flavonoide

Apigenina

O espectro eletrônico da apigenina (figura 3a) em etanol apresenta duas bandas em 269nm e 339nm, que são atribuídas às transições π - π^* dos anéis A e B, respectivamente (SOUZA e GIOVANI, 2005). Em todas as tentativas a posição dessas bandas praticamente não se alteraram na presença de GO (figuras 3b e 4b), mas pontos isosbéticos foram observados indicando que há uma interação entre o GO e o flavonoide.

O gráfico da diferença dos espectros (figura 3c - 2ª tentativa) tem bandas em 246nm e 286nm, sendo que esta última pode ser devida a interação do grafeno com a apigenina. Liao e colaboradores(2011) também observaram que um deslocamento da banda do GO para 278nm na presença de polifenóis oriundos de chá verde, indicando que a conjugação eletrônica das folhas de grafeno é restabelecida após a redução.

Um comportamento similar foi observado, quando se utilizou o GO sintetizado no laboratório. Contudo, a posição dos pontos isosbéticos e das bandas em 247nm e 289nm no gráfico da diferença dos espectros (figura 4c – 3ª tentativa) apresentou um pequeno deslocamento em relação ao experimento onde se utilizou o GO comercial.

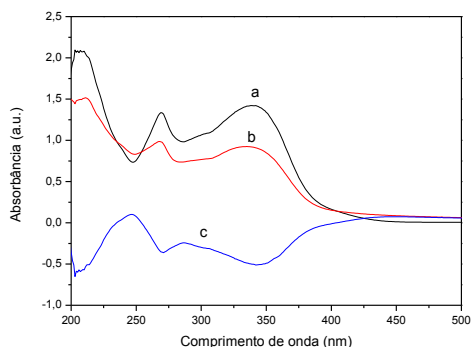


Figura 3: Espectros eletrônicos das soluções de (a) apigenina ($6,1 \cdot 10^{-5}$ mol/L), (b) apigenina ($6,0 \cdot 10^{-5}$ mol/L) com GO ($1,6 \cdot 10^{-2}$ mg/mL) e (c) o gráfico da diferença entre as curvas b e a.

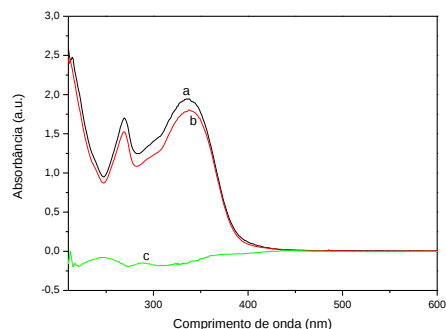


Figura 4: Espectros eletrônicos das soluções de (a) apigenina ($8,4 \cdot 10^{-5}$ mol/L), (b) apigenina ($8,0 \cdot 10^{-5}$ mol/L) com GO ($5,5 \cdot 10^{-3}$ mg/mL) e (c) o gráfico da diferença entre as curvas b e a.

Naringenina

O espectro eletrônico da naringenina (figura 5a - 1ª tentativa) apresenta bandas em 291nm e um ombro ao redor de 326nm, que foram atribuídas as transições π - π^* dos anéis A e B, respectivamente. Tal atribuição foi feita com base no trabalho de Pereira e colaboradores (2007), que estudaram complexos de cobre com naringenina, um derivado glicosilado da naringenina. Há também uma outra banda em 211nm.

Tal como ocorreu com a naringenina, a posição das bandas do flavonoide não se alterou na presença do GO (figura 5b - 1ª tentativa) e pontos isosbéticos foram observados em 257 e 306nm. O gráfico da diferença entre os espectros com e sem GO (figura 5c) apresenta bandas em 229nm, que provavelmente se deve ao GO (vide figura 2). Esses dados sugerem que nesse experimento a naringenina não reduziu o GO, mas somente interagiu fracamente com ele.

Na terceira tentativa, o gráfico da diferença entre os espectros da naringenina com e sem GO (figura 6c) apresentou bandas em 259nm e 306nm, sugerindo que nesse experimento houve redução do GO. Novos experimentos serão realizados para investigar o que realmente está ocorrendo nesse sistema.

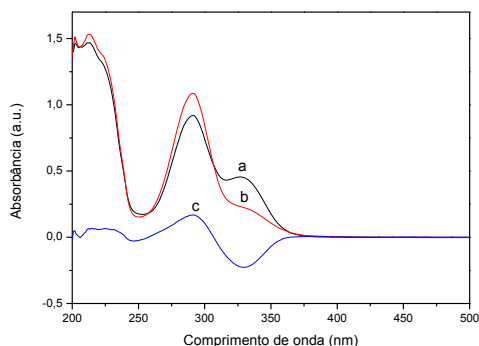


Figura 5: Espectros eletrônicos das soluções de naringenina ($5,9 \cdot 10^{-5}$ mol/L) (a), naringenina ($5,8 \cdot 10^{-5}$ mol/L) com GO ($8,1 \cdot 10^{-3}$ mg/mL) (b) e o gráfico (c) da diferença entre as curvas b e a.

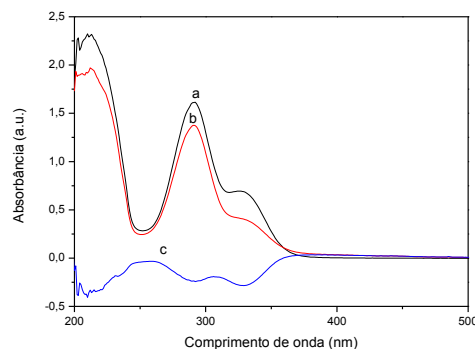


Figura 6: Espectros eletrônicos das soluções de naringenina ($7,2 \cdot 10^{-5}$ mol/L) (a), naringenina ($7,9 \cdot 10^{-5}$ mol/L) com GO ($5,5 \cdot 10^{-3}$ mg/mL) (b), o gráfico (c) da diferença entre as curvas b e a.

Quercetina

O espectro eletrônico da quercetina (figuras 7a-8a) apresenta duas bandas em 376nm e 257nm, que são atribuídas, respectivamente, as transições eletrônicas $\pi \rightarrow \pi^*$ envolvendo o anel B (sistema cinamoílico) e o anel A (sistema benzoílico) do flavonóide (ZHOU *et al.*, 2001).

Assim como nos casos anteriores (figuras 7b-10b), a posição dessas bandas não se altera significativamente na presença do GO, mas uma nova banda é formada em 295nm (1ª tentativa) e 302nm (3ª tentativa). Xu e colaboradores(2007) observaram que quando a quercetina é oxidada, uma nova banda surge em 301nm. Esse fato sugere que houve oxidação parcial da quercetina com redução de alguma parcela do GO.

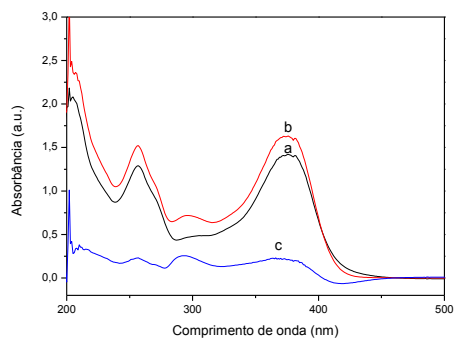


Figura 7: Espectros eletrônicos das soluções de quercetina ($5,4 \cdot 10^{-5}$ mol/L) (a), quercetina ($5,3 \cdot 10^{-5}$ mol/L) com GO ($8,1 \cdot 10^{-3}$ mg/mL) (b) e o gráfico (c) da diferença entre as curvas b e a.

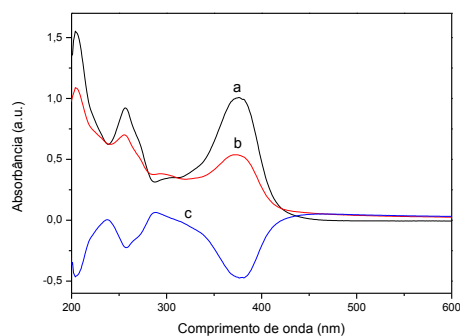


Figura 8: Espectros eletrônicos das soluções de quercetina ($3,2 \cdot 10^{-5}$ mol/L) (a), quercetina ($2,7 \cdot 10^{-5}$ mol/L) com GO ($1,6 \cdot 10^{-2}$ mg/mL) (b), o gráfico (c) da diferença entre as curvas b e a.

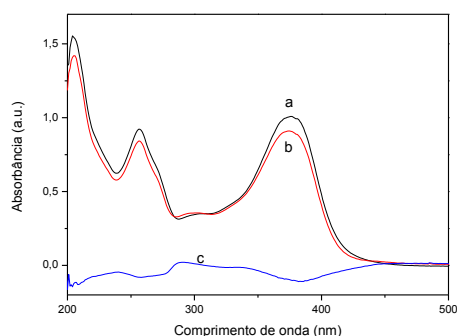


Figura 9: Espectros eletrônicos das soluções de quercetina ($3,2 \cdot 10^{-5}$ mol/L) (a), quercetina ($3,6 \cdot 10^{-5}$ mol/L) com GO ($5,5 \cdot 10^{-3}$ mg/mL) (b), o gráfico (c) da diferença entre as curvas b e a.

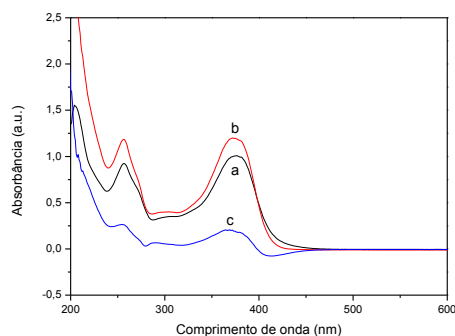


Figura 10: Espectros eletrônicos da soluções de quercetina ($3,3 \cdot 10^{-5}$ mol/L) (a), quercetina ($3,5 \cdot 10^{-5}$ mol/L) com GO ($2,6 \cdot 10^{-3}$ mg/mL) (b), o gráfico (c) da diferença entre as curvas b e a.

As curvas da diferença apresentam bandas no intervalo de 235 a 256nm (tabela 2), que devem ser relativas ao GO interagindo com a quercetina, um segunda banda ao redor de 291nm relativa a quercetina e uma terceira que pode ser devida ao grafeno reduzido.

Tabela 2. Pontos isobésticos presentes nos espectros da quercetina com e sem GO e bandas observadas na curva da diferença entre esses espectros.

Tentativas	Pontos isobésticos(nm)	Bandas observadas (nm)		
1a	403	254	294	366
2a	235,239, 280, 311 e 421	235	290	374
3a	284, 308, 438	240	290	
4a	398	256	290	365

A intensidade das bandas não se alterou muito na presença do GO, na maioria das tentativas, exceto quando se utiliza GO comercial. Há diferença entre o GO comercial e o produzido no laboratório e as causas serão investigadas.

Redução do óxido de grafeno com flavonoides

Quando a reação do óxido de grafeno com a quercetina é feita a quente, há uma maior oxidação do flavonoide, fato este ilustrada pela maior intensidade da banda em 294nm (figura 11b). Assim, como nos casos anteriores a posição das bandas da quercetina (257nm e 375nm) não se alteram significativamente na presença do GO. O gráfico da diferença dos espectros (figura 11c) mostra uma bandas mal definida ao redor de 230 e 340 nm que podem ser devidas, respectivamente, ao GO não reduzido e reduzido interagindo com a quercetina.

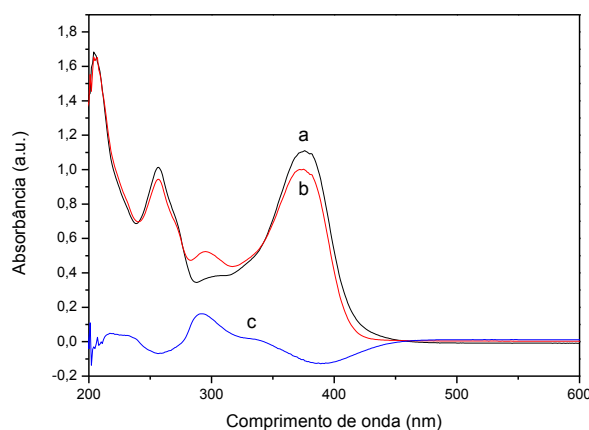


Imagem 11 Espectros eletrônicos das soluções de quercetina ($4,3 \cdot 10^{-5}$ mol/L) (a), quercetina ($4,3 \cdot 10^{-5}$ mol/L) com GO ($2,6 \cdot 10^{-3}$ mg/mL) (b), o gráfico (c) da diferença entre as curvas b e a.

Espectro infravermelho

A oxidação da grafite gera vários grupos oxigenados, -COOH, -OH, éter, epóxi e outros, tanto nas bordas como na superfície das camadas. O grau de oxidação da grafite depende do material de partida e do processo de oxidação, o que dificulta a determinação da estrutura do GO (KAR et al, 2013).

O espectro vibracional do sólido obtido na 4ª tentativa da interação do GO com a quercetina (figura 12c) apresenta um perfil muito semelhante ao do GO (figura 12b) com bandas em 1635, 1457, 1385, 1260, 1097, 1029, 875 e 802 cm^{-1} . Algumas bandas da quercetina (figura 12a) aparecem na mesma região das do GO (vide pontilhados na figura 12). Contudo, não é possível afirmar com certeza que a quercetina adsorveu no GO. Se ela está presente, deve ser em pequena quantidade.

Na figura 13c encontra-se o espectro vibracional do sólido obtido na tentativa de redução do GO com quercetina aquecida. Comparado com o espectro do GO (figura 12b) as

maiores diferenças aparecem na região abaixo de 1000cm^{-1} , onde há muita controvérsia na literatura sobre qual a atribuição dessas bandas.

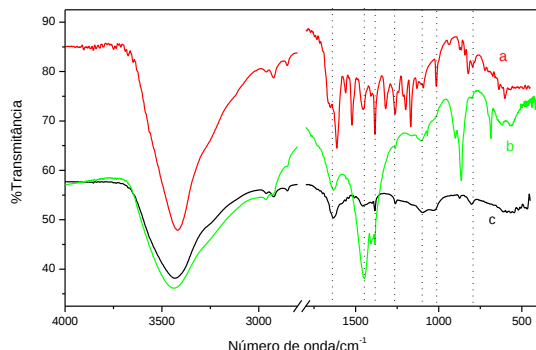


Figura 12: Espectros infravermelhos da quercetina (a), GO (b) e GO com quercetina (c)

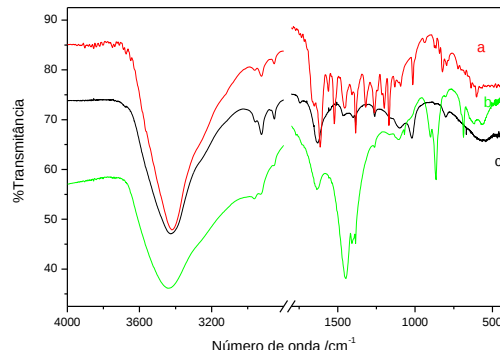


Figura 13: Espectros infravermelhos da quercetina (a), GO (b) e GO com quercetina (c).

Nanopartículas de prata

O espectro eletrônico da vitamina C dissolvido em água deionizada apresenta uma banda em 486nm e o da solução de AgNO_3 reduzido com vitamina C (figura 14) apresenta uma banda em 408nm, indicativo de formação de nanopartículas de prata (MELLO, JR et al, 2012). Não foi possível concluir até o momento os estudos da interação do sistema GO-flavonoide com as nanopartículas de prata. Mas, o trabalho está em desenvolvimento.

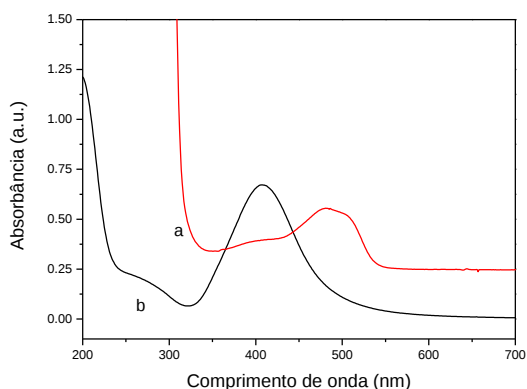


Figura 14 : Espectros eletrônicos de uma solução de vitamina C (a) e da nanopartícula de prata (b) obtida a partir da redução de AgNO_3 com vitamina C.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Nessa trabalho efetuou-se um estudo da interação entre o GO e os flavonoides apigenina, naringenina e quercetina, com o intuito de verificar se esses flavonoides são capazes de reduzir o GO e se ao mesmo tempo, o GO ou sua forma reduzida são capazes de transportar flavonoides.

Os estudos de espectroscopia eletrônica indicaram que há uma interação entre o GO e os flavonoides e sugerem que houve oxidação do flavonoide e por consequência deve ter ocorrido redução do GO em pequena escala. Novos estudos mudando a proporção entre os reagentes serão efetuados para tentar reduzir o GO em maior proporção.

Através da análise dos espectros vibracionais dos sólidos obtidos nas reações do GO com a quercetina, não foi possível comprovar até o momento que o flavonoide adsorveu no GO, como sugerido pela literatura (Rahmanian et al, 2014). Novos estudos serão efetuados usando uma maior quantidade de flavonoide.

REFERÊNCIAS

- AKHAVAN, O.; KALAEI, M.; ALAVI, Z. S.; GHIASI, S. M. A.; ESFANDIAR, A. Increasing the antioxidant activity of green tea polyphenols in the presence of iron for the reduction of graphene oxide. **Carbon**, v.50, p. 3015-3025, 2012.
- ANDERSEN, Ø. M.; MARKHAM, K. R. (ed.) *Flavonoids: chemistry, biochemistry, and applications*, CRC Press, Taylor & Francis Group, Boca Raton, FL, 2006.
- CONDOMITTI, U. Nanopartículas de prata usando vitamina C. Disponível em <https://www.youtube.com/watch?v=HGn1scPfxJc>. Acesso em: 07 agosto 2016
- DIMIEV, A. M.; ALEMANY, L. B.; TOUR, J. M. Graphene Oxide. Origin of Acidity, Its Instability in Water, and a New Dynamic Structural Model. **ACS Nano**, v. 7, n. 1, p. 576 - 588, 2013.
- DREYER, D. R.; PARK, S.; BIELAWSKI, W. C.; RUOFF, S. R. The chemistry of graphene oxide, **Chemical Society Reviews**, v. 39, p. 228-240, 2010.
- FARIA, D. L. A.; TEMPERINI, M. L. A.; SALA, O. Vinte anos de efeito SERS. **Química Nova**, v. 22, n. 4, p. 541-552, 1999.
- KUILA, T.; BOSE, S.; MISHRA, A. K.; KHANRA, P.; KIM, N. H.; LEE, J. H. Chemical functionalization of graphene and its applications. **Progress in Materials Science**, v. 57, p. 1061–1105, 2012.
- LIAO, R.; TANG, Z.; LEI, Y.; GUO, B. Polyphenol-Reduced Graphene Oxide: Mechanism and Derivatization. **The Journal of Physical Chemistry C**, v. 115, p. 20740–20746, 2011.
- MATTEVI, C.; EDA, G.; AGNOLI, S.; MILLER, S.; MKHOYAN, K. A.; CELIK, O.; MASTROGIOVANNI, D.; GRANOZZI, G.; GARFUNKEL, E.; CHHOWALLA, M. Evolution of

Electrical, Chemical, and Structural Properties of Transparent and Conducting Chemically Derived Graphene Thin Films. **Advanced Functional Materials**, v.19, p. 2577-2583, 2009.

NOBELPRIZE (ORG) *The Nobel Prize in Physics 2010*, disponível em: http://www.nobelprize.org/nobel_prizes/physics/laureates/2010/advanced-physicsprize2010.pdf acessado em 12/05/2015.

PEREIRA, R. M. S.; ANDRADES, N. E. D.; PAULINO, N.; SAWAYA, A. C. H. F.; EBERLIN, M. N.; MARCUCCI, M. C.; FAVERO, G. M.; NOVAK, E. M.; BYDLOWSKI, S. P. Synthesis and Characterization of a Metal Complex Containing Naringin and Cu, and its Antioxidant, Antimicrobial, Antiinflammatory and Tumor Cell Cytotoxicity. **Molecules**, v. 12, p. 1352-1366, 2007.

RAHMANIAN, N.; HAMISHEHKARC, H.; DOLATABADID, J. E. N.; ARSALANI, N. Nano graphene oxide: A novel carrier for oral delivery of flavonoids. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 123, p. 331–338, 2014.

SOUZA, R. F. V.; GIOVANI, W. F. Synthesis, spectral and electrochemical properties of Al(III) and Zn(II) complexes with flavonoids. **Spectrochimica Acta Part A**, v. 61, p. 1985–1990, 2005.

XU, G.-R.; IN, M. Y.; YUAN, Y.; LEE, J.-J.; KIM, S. In situ Spectroelectrochemical Study of Quercetin Oxidation and Complexation with Metal Ions in Acidic Solutions. *Bull. Korean Chem. Soc.* v. 28, p. 889-892, 2007.

ZHOU, J., WANG, L.-f., WANG, J.-y. E TANG, N. Synthesis, characterization, antioxidative and antitumor activities of solid quercetin rare earth(III) complexes. *Journal of Inorganic Biochemistry*, v. 83, p. 41-48, 2001.

WANG, Y.; SHI, Z.; YIN, J. Facile Synthesis of Soluble Graphene via a Green Reduction of Graphene Oxide in Tea Solution and Its Biocomposites. **ACS Applied Materials & Interfaces**, v. 3, p. 1127-1133, 2011.

CONTATOS: isabellastefanoni@hotmail.com e anamaria.alexio@mackenzie.br