

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA  
INSTITUTO DE BIOTECNOLOGIA  
CURSO DE GRADUAÇÃO EM BIOTECNOLOGIA**

**MARIA CLARA GABILAN MEDINA DA CONCEIÇÃO**

**SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DE NANOPARTÍCULAS METÁLICAS  
UTILIZANDO EXTRATOS DE *Hymenaea courbaril***

**PATOS DE MINAS - MG  
AGOSTO DE 2022**

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA**  
**INSTITUTO DE BIOTECNOLOGIA**  
**CURSO DE GRADUAÇÃO EM BIOTECNOLOGIA**

**MARIA CLARA GABILAN MEDINA DA CONCEIÇÃO**

**SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DE NANOPARTÍCULAS METÁLICAS**  
**UTILIZANDO EXTRATOS DE *Hymenaea courbaril***

Monografia apresentada ao Instituto de Biotecnologia da Universidade Federal de Uberlândia como requisito final para a obtenção do título de Bacharel em Biotecnologia.

**Prof<sup>a</sup>. Dra. Claudilene Ribeiro Chaves**

**PATOS DE MINAS - MG**  
**AGOSTO DE 2022**

## DEDICATÓRIA

Dedico esse trabalho aos meus pais, André e Márcia (*in memoriam*), aos meus irmãos Caio e Carlos Guilherme, às minhas avós, Gloria e Dilceia, a minha orientadora Claudilene e meus amigos que estiveram ao meu lado durante essa jornada.

**MARIA CLARA GABILAN MEDINA DA CONCEIÇÃO**

**SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DE NANOPARTÍCULAS METÁLICAS  
UTILIZANDO EXTRATOS DE *Hymenaea courbaril***

Monografia apresentada ao Instituto de Biotecnologia da Universidade Federal de Uberlândia como requisito final para a obtenção do título de Bacharel em Biotecnologia.

**Banca examinadora:**

Claudilene Ribeiro Chaves - Instituto de Biotecnologia (IBTEC)/UFU  
Presidente

Paula Cristina Batista de Faria Gontijo - Instituto de Biotecnologia (IBTEC)/UFU  
Membro

Carlos Martins Viana - Centro de Tecnologia em nanomateriais (CTNano)/ UFMG  
Membro

Os membros da Comissão Examinadora acima assinaram a Ata de Defesa que se encontra no Sistema Eletrônico de Informações (SEI) da Universidade Federal de Uberlândia. Local e data da defesa.

Patos de Minas, 11 de agosto de 2022

## AGRADECIMENTOS

Gostaria de agradecer primeiramente ao meu pai André Luiz da Conceição que apesar de nem sempre concordar com as minhas escolhas esteve ao meu lado durante todo esse tempo.

A Universidade Federal de Uberlândia, instituição a qual faço parte, e a todos os professores com quem tive o prazer de aprender durante meu período de graduação.

Às minhas avós Glória Maria Gabilan e Dilceia Maria da Conceição e minha madrinha Rosa Maria Medina que me ajudaram financeiramente durante o meu período de graduação, e devido essa ajuda estou aqui conseguindo terminar minha faculdade.

Gostaria também de agradecer aos meus irmãos Caio Gabilan Medina de Sá e Carlos Guilherme Gabilan Medina da Conceição que por mais complicada que sejam as relações, sempre estiveram do meu lado e torceram por mim, principalmente nesses 5 anos que estive longe.

Aos meus amigos, principalmente, Isabella Lima, Julia Pereira, Fabiana Texeira, Kemilly Ataidés, Igor Botelho e Bruna Custódio que estiveram ao meu lado durante a graduação e não me deixaram desistir em nenhum momento, e olha que eu pensei nisso várias vezes.

A minha orientadora, a professora Dra. Claudilene Ribeiro Chaves, que aceitou me orientar durante o período conturbado da pandemia do COVID-19 e ensinou tanto durante esses últimos anos e a Hellyssa Cataryna Saldanha que colaborou com o desenvolvimento de parte desse projeto.

Agradeço também a todas outras pessoas que não estão citadas diretamente aqui, mas foram/são de extrema importância na minha vida, seja acadêmica ou pessoal.

## RESUMO

A nanotecnologia é um campo multidisciplinar que engloba diversas áreas, como a biologia, física, química e engenharias para criação, manipulação e aplicação de materiais na escala nanométrica. A síntese de nanopartículas (NPs) metálicas pode ser realizada por métodos físicos, químicos ou biológicos, contudo, quando é realizada por métodos físicos ou químicos essas podem apresentar desvantagens, devido a necessidade de um agente químico redutor, agentes estabilizadores ou agentes químicos que podem limitar suas aplicações. Por isso, a obtenção de novas rotas sintéticas simples e menos tóxicas de NPs são necessárias. O trabalho destaca a biossíntese de NPs de ouro e prata, em meio aquoso, utilizando extratos de casca, folha e semente de Jatobá (*Hymenaea courbaril*). O interesse pela síntese de NPs utilizando produtos naturais vem crescendo nas últimas décadas, pois, produtos naturais também são uma importante fonte de novos compostos antimicrobianos. Ácido tetracloroaurico e nitrato de prata foram utilizados como precursores metálicos para a síntese de NPs de ouro e prata, respectivamente, juntamente com extratos da casca, semente e folha de Jatobá. As caracterizações das NPs foram realizadas por espectroscopia de absorção no UV-Visível e por microscopia eletrônica de transmissão (MET). A metodologia de biossíntese de NPs metálicas apresentou-se promissora devido à rapidez, simplicidade e eficácia do processo. Através das análises espectroscópicas observou-se uma absorção máxima na região entre 530 e 540 nm para as NPs de ouro. Imagens de MET evidenciaram a formação de NPs de ouro com dimensões entre 2 e 40 nm. A utilização dos extratos também foi promissora na obtenção de NPs de prata. Espectroscopias de absorção no UV-Visível dos extratos de jatobá apresentaram altas intensidades em 275 nm, região de absorção característica de alguns compostos vegetais. As amostras contendo os extratos da semente de Jatobá mostraram-se mais vantajosas na formação de NPs de prata devido a identificação de picos de absorção em 430 nm. Neste trabalho, observou-se que extratos de casca, folha e semente de Jatobá podem substituir diferentes agentes redutores tóxicos utilizados nas sínteses químicas de NPs. O uso de extratos vegetais na síntese de NPs metálicas ainda não é completamente esclarecido, mas mostra-se promissor para utilização em diversas metodologias de sínteses e em futuras aplicações biotecnológicas.

Palavras-chave: Nanobiotecnologia. Nanopartículas metálicas. Extratos Vegetais.

## ABSTRACT

Nanotechnology is a multidisciplinary field that encompasses several areas, such as biology, physics, chemistry and engineering for the creation, manipulation and application of materials at the nanometer scale. The synthesis of metallic nanoparticles (NPs) can be carried out by physical, chemical or biological methods, however, when it is carried out by physical or chemical methods, these can present disadvantages, due to the need for a chemical reducing agent, stabilizing agents or chemical agents that can limit your applications. Therefore, obtaining new simple and less toxic synthetic routes of NPs is necessary. The work highlights the biosynthesis of gold and silver NPs, in aqueous medium, using extracts of bark, leaf and seed of Jatobá (*Hymenaea courbaril*). Interest in the synthesis of NPs using natural products has been growing in recent decades, as natural products are also an important source of new antimicrobial compounds. The plant extracts were initially diluted in distilled, deionized water (H<sub>2</sub>O) and dimethylsulfoxide (DMSO). In a beaker containing water, under stirring and heating (80°C), the metallic precursors, tetrachloroauric acid (HAuCl<sub>4</sub>) were added for the synthesis of gold NPs and silver nitrate (AgNO<sub>3</sub>) for the synthesis of silver NPs. Then, extracts from the bark, seed and leaf of Jatobá were added separately in each beaker. After the addition of metallic precursors, a change in the color of the reaction medium was observed, indicating the formation of NPs. The characterizations of NPs were performed by UV-Visible absorption spectroscopy and by transmission electron microscopy (TEM). The methodology of biosynthesis of metallic NPs showed to be promising due to the speed and simplicity of the process. Through spectroscopic analysis, a maximum absorption was observed in the range between 530 and 540 nm for gold NPs. TEM images showed the formation of gold NPs with dimensions between 2 and 40 nm. The use of extracts was also promising in obtaining silver NPs. Through the UV-Visible absorption spectra, high absorption intensities were observed at 275 nm, characterizing the compounds present in the extracts. Samples containing Jatobá seed extracts were more advantageous in the formation of silver NPs due to the identification of absorption peaks at 430 nm. In this work, it was observed that extracts of bark, leaves and seeds of Jatobá can replace different toxic reducing agents used in the chemical synthesis of NPs. The use of plant extracts in the synthesis of metallic NPs is not yet fully understood, but they show promise for use in several synthesis methodologies and in future biotechnological applications.

Keywords: Nanobiotechnology. Metal Nanoparticles. Plant Extract.

## LISTA DE TABELAS

**Tabela 1:** Metodologias de síntese de NPs metálicas utilizando extratos vegetais.

**Tabela 2:** Comparação entre caracterizações ópticas e estruturais das NPs de ouro com seus respectivos extratos.



## LISTA DE FIGURAS

**Figura 1:** Escala nanométrica comparativa das dimensões das moléculas, macromoléculas biológicas como proteínas e estruturas virais até a escala micrométrica das células.

**Figura 2:** Ressonância de Plasmon de Superfície Localizado (LSPR) em nanopartículas metálicas.

**Figura 3:** Espectros de absorção de AuNPs evidenciando os picos de ressonância plasmônica de acordo com seus formatos e tamanhos.

**Figura 4:** Mercado global de nanopartículas de prata (AgNPs) por setores de aplicação.

**Figura 5:** Microscopia eletrônica de transmissão (MET) de nanopartículas de prata com seus respectivos espectros de absorção.

**Figura 6:** Abordagens *top down* e *bottom up* para síntese de nanopartículas metálicas.

**Figura 7:** Métodos químicos, físicos e biológicos para síntese de nanopartículas.

**Figura 8:** Árvore Jatobá (*Hymenaea courbaril*).

**Figura 9:** Distribuição da frequência do quantitativo de estudos especificando o metal precursor para a síntese de NPs com extratos vegetais.

**Figura 10:** Suspensões coloidais de NPs de ouro com extratos vegetais

**Figura 11:** NPs de ouro com extrato de casca de Jatobá (*H. courbaril*) US. (a) Suspensões coloidais, (b) Espectro absorção UV-Vis, (c) MET.

**Figura 12:** NPs de ouro com extrato de casca de Jatobá (*H. courbaril*) AM. (a) Suspensões coloidais, (b) Espectro absorção UV-Vis, (c) MET.

**Figura 13:** NPs de ouro com extrato de semente de Jatobá (*H. courbaril*) US. (a) Suspensões coloidais, (b) Espectro absorção UV-Vis, (c) MET.

**Figura 14:** NPs de ouro com extrato de semente de Jatobá (*H. courbaril*) AM. (a) Suspensões coloidais, (b) Espectro absorção UV-Vis, (c) MET.

**Figura 15:** NPs de ouro com extrato de folha de Jatobá (*H. courbaril*) US. (a) Suspensões coloidais, (b) Espectro absorção UV-Vis, (c) MET.

**Figura 16:** NPs de ouro com extrato de folha de Jatobá (*H. courbaril*) AM. (a) Suspensões coloidais, (b) Espectro absorção UV-Vis, (c) MET.

**Figura 17:** Suspensões coloidais de NPs de prata com extratos vegetais Jatobá (*H. courbaril*) (a) casca, (b) semente e (c) folha, US e AM.

**Figura 18:** NPs de prata com extrato de casca de Jatobá (*H. courbaril*) US e AM. (a) Suspensões coloidais e (b) Espectros de absorção UV-Vis.

**Figura 19:** NPs de prata com extrato de semente de Jatobá (*H. courbaril*) US e AM. (a) Suspensões coloidais e (b) Espectros de absorção UV-Vis.

**Figura 20:** NPs de prata com extrato de folha de Jatobá (*H. courbaril*) US e AM. (a) Suspensões coloidais e (b) Espectros de absorção UV-Vis.

**Figura 21:** Espectros de absorção no UV-Visível de NPs de prata com extratos vegetais de Jatobá (*H. courbaril*): semente, folha e casca (US e AM).

**Figura 22:** Esquema do mecanismo de biossíntese (síntese verde) *in vitro* de nanopartículas metálicas.

## LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

AM - Agitação Magnética

AuNPs - Nanopartículas de ouro

AgNPs - Nanopartículas de prata

DMSO - Dimetilsulfóxido

DLS - Espalhamento dinâmico de Luz

DRX - Difração de raio-X

ELS - Espectroscopia por perda de energia de elétrons

FTIR - Espectroscopia de infravermelho por transformada de Fourier

LSPR - Localized surface plasmon resonance

MALDI-TOF - Espectrometria de massa

MET - Microscopia Eletrônica de Transmissão

MFA - Microscopia de força atômica

NPs - Nanopartículas

NPsMs - Nanopartículas metálicas

SPR - Ressonância plasmônica de superfície

TG-DTA - Análise termogravimétrica

US - Ultrassom

UV-Vis - Espectroscopia UV-Visível

XPS - Espectroscopia de fotoelétrons de raios-X

## SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO .....	12
1.1 Nanotecnologia .....	12
1.2 Nanopartículas Metálicas .....	14
1.2.1 Nanopartículas de ouro .....	16
1.2.2 Nanopartículas de prata .....	17
1.3 Síntese de nanopartículas metálicas .....	19
1.4 Extratos vegetais .....	22
OBJETIVOS .....	24
Objetivos específicos .....	24
2 MATERIAL E MÉTODOS .....	24
2.1 Revisão bibliográfica .....	24
2.2 Síntese de nanopartículas metálicas .....	24
2.2.1 Extratos vegetais .....	25
2.2.2 Síntese de nanopartículas de ouro .....	25
2.2.3 Síntese de nanopartículas de prata .....	26
2.3 Caracterização das nanopartículas .....	26
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	27
3.1 Análise de Revisão Bibliográfica .....	27
3.2 Síntese e caracterização de nanopartículas utilizando extratos vegetais .....	30
3.2.1 Nanopartículas de ouro .....	30
3.2.2 Nanopartículas de prata .....	38
4 CONCLUSÃO .....	44
REFERÊNCIAS .....	
ANEXO .....	

# 1 INTRODUÇÃO

## 1.1 Nanotecnologia

A nanotecnologia é um campo de pesquisa interdisciplinar que está crescendo rapidamente e tem sido considerada uma das áreas mais importantes e emergentes da ciência moderna. Essa é responsável pelo estudo e desenvolvimento de materiais em escalas de comprimento de 1-100 nm. Por sua vez, a construção de estruturas nessas dimensões, darão origem aos nanomateriais.

Os fundamentos conceituais da nanotecnologia surgiram em 1959 pelo físico Richard Feynman, em sua palestra "*There's plenty of room at the bottom*" ("Há bastante espaço no fundo"). Porém, o termo nanotecnologia foi criado somente em 1974 por Norio Taniguchi para se referir à capacidade de criar materiais em escala nanométrica (SAHOO *et al.*, 2007).

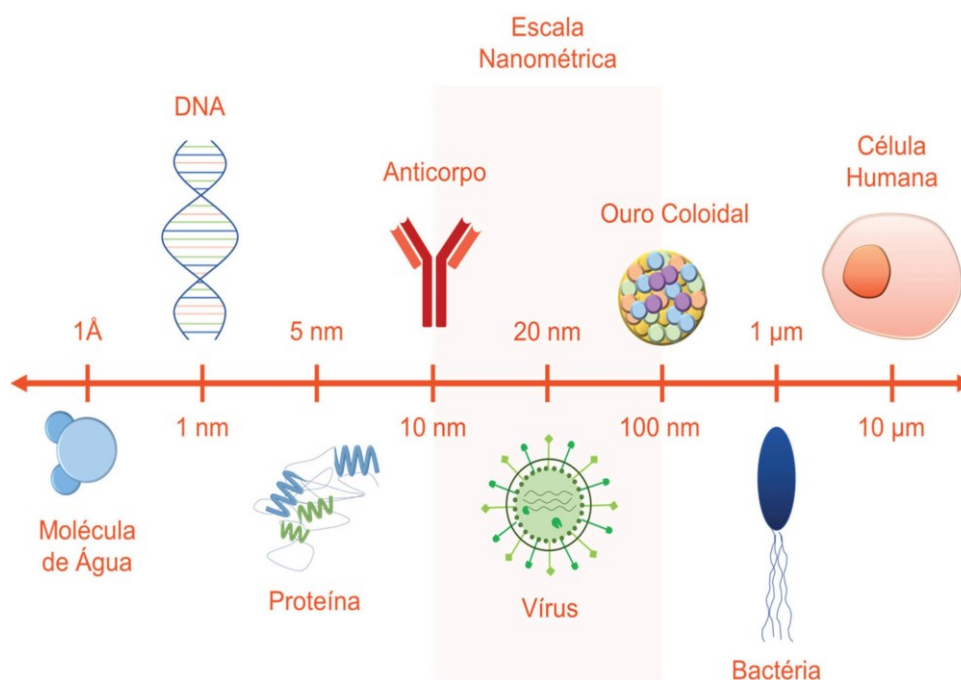
A palavra nano é derivada do grego e significa "anão" (SAHOO *et al.*, 2007). Em escala dimensional um nanômetro (nm) equivale a 1 bilionésimo de 1 metro, ou simplesmente  $1 \times 10^9$  m (KABIR, 2018).

Apesar do termo nanotecnologia ter sido criado a 46 anos, as estruturas em nanoescala já existem há muito tempo e são comuns na natureza. Um exemplo disso é que a vida depende de muitos componentes em nanoescala, incluindo DNA, proteínas, enzimas e anticorpos (ALBRECHT *et al.*, 2006).

A Figura 1 apresenta uma comparação de tamanho das estruturas biológicas encontradas na natureza (DNA, proteína, anticorpos, vírus, bactérias e células) e um exemplo de nanoestrutura como o ouro coloidal, material este sintetizado pelo homem.

Os nanomateriais apresentam propriedades únicas, que os diferem dos materiais em macroescala, e essas propriedades estão associadas à sua área superficial aumentada e aos efeitos quânticos, que afetam tanto a reatividade química, como as propriedades mecânicas, ópticas, elétricas, magnéticas, dentre outras (POOLE, 2003).

**Figura 1:** Escala nanométrica comparativa das dimensões das moléculas, macromoléculas biológicas como proteínas e estruturas virais até a escala micrométrica das células.



Fonte: APOLINÁRIO, 2020.

Atualmente existem vários tipos de nanomateriais, que são classificados de acordo com sua composição química (orgânico ou inorgânico), dimensão (0D, 1D, 2D ou 3D) e morfologia (JEEVANANDAM *et al.*, 2018). Apesar da existência dessa variedade de materiais nanoestruturados, as nanopartículas consideradas biocompatíveis, como as metálicas e poliméricas, apresentam um potencial atrativo devido às diversas aplicações tecnológicas, facilidade de síntese e características físicas e químicas (KUMAR *et al.*, 2018).

A associação de diferentes áreas do conhecimento possibilitou o surgimento de novos ramos envolvendo a nanotecnologia, como por exemplo, a nanobiotecnologia que consiste na junção da biotecnologia com a nanotecnologia. Dentre outros objetivos, a nanobiotecnologia busca por novas estratégias na produção e estabilização de nanopartículas com propriedades específicas, por meio de métodos físicos e químicos associados a métodos biológicos, utilizando organismos como plantas, fungos, bactérias e protozoários ou biomoléculas. (AHMAD *et al.*, 2019; ARUMUGAM *et al.*, 2017; BAGHAIENEZHAD *et al.*, 2020).

## 1.2 Nanopartículas Metálicas

Devido às suas características físico-químicas particulares, as NPs podem ser exploradas em diversas áreas como química, física, engenharias, agricultura (SABIR *et al.*, 2014), eletrônica e telecomunicações (AHMED *et al.*, 2017), na engenharia genética, além de biotecnologia e biomedicina onde tem recebido grande destaque devido suas aplicações farmacológicas em tratamento e diagnóstico de patologias (ZYLBERBERG *et al.*, 2017; CARDOSO *et al.*, 2018).

As propriedades físico-químicas das NPs dependem fortemente de características como formato, tamanho, composição e estrutura cristalina. Tais características são obtidas através da escolha dos materiais e da metodologia de síntese dos nanomateriais. O tipo de material e a metodologia de síntese escolhidos possibilitam diferentes aplicações (VARANDA *et al.*, 2019).

Dentre as nanoestruturas, as nanopartículas metálicas (NPsM) se destacam principalmente por sua facilidade de síntese e nas mais diversas aplicabilidades comerciais, como nos produtos farmacêuticos, cosméticos, vestuários e medicinais (JASIM *et al.*, 2019).

As NPsMs são nanoestruturas de natureza metálica com dimensões (comprimento, largura e espessura) dentro do intervalo de tamanho de 1-100 nm. Os metais comumente utilizados para a produção das NPsMs, são o ouro, prata, paládio e platina, porque são resistentes à corrosão e oxidação quando comparados a outros metais de transição, como ferro, níquel ou cobalto. Isso faz com que os metais nobres se tornem candidatos atraentes para aplicações biológicas e ambientais.

Uma das principais características das NPsMs é a propriedade chamada de Ressonância de Plasmon de Superfície Localizado (*Localized surface plasmon resonance - LSPR*) ou ressonância plasmônica de superfície (*Surface plasmon resonance - SPR*). Essa característica refere-se à oscilação coletiva dos elétrons livres presentes na superfície do metal, em resposta a um campo eletromagnético externo como a luz (LU *et al.*, 2009). A LSPR relaciona-se com o tipo de material, a forma e o tamanho das NPs, além de ser responsável por conferir colorações características às suspensões coloidais de NPsMs (LINK *et al.*, 2003).

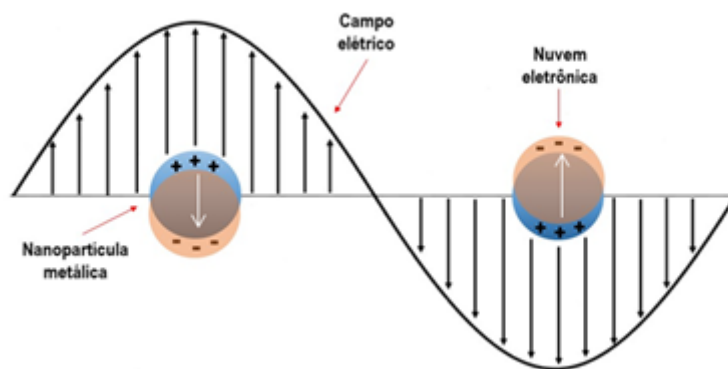
A ressonância plasmônica acontece quando os metais em escala nanométrica são comparáveis ou menores que o comprimento de onda da radiação excitante. (MEJÍA-SALAZAR *et al.*, 2018).

A banda de ressonância de plasmons é mais forte em metais nobres, especialmente em metais como o ouro, cobre e prata, porque sua ressonância está na região visível do espectro

eletromagnético (HUANG *et al.*, 2010). Esse fenômeno pode ser detectado através da espectroscopia no Ultravioleta-Visível (UV-Vis), onde o comprimento de onda e a intensidade da banda dependem principalmente do tamanho e formato da NP e da natureza química do metal. Sendo assim, podemos observar cores características desses metais em resposta à luz transmitida e refletida (LINK *et al.*, 2003; SANTOS *et al.*, 2016).

A ressonância plasmônica é gerada a partir de um campo elétrico incidente sobre uma partícula metálica, isso faz com que ocorra um deslocamento de elétrons em sentido contrário ao campo elétrico da onda incidente, como mostrado na Figura 2. Esse deslocamento de cargas impulsiona uma indução de um dipolo elétrico na partícula. Com isso, surge um campo elétrico restaurador da partícula, o qual é propiciado pelo dipolo induzido, que possui a função de restabelecer o equilíbrio gerado pela distorção que as cargas proporcionam (FERREIRA *et al.*, 2016). Dessa forma, a ressonância plasmônica faz com que ocorra um aumento do campo local na superfície do metal (PEREIRA *et al.*, 2010).

**Figura 2:** Ressonância de Plasmon de Superfície Localizado (LSPR) em nanopartículas metálicas.



Fonte: DOMINGOS, 2020



### 1.2.1 Nanopartículas de ouro

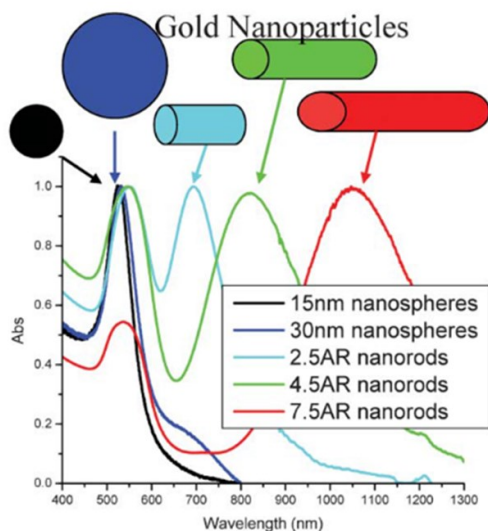
Dentre os novos nanomateriais utilizados e pesquisados, as nanopartículas de ouro (AuNPs) recebem grande destaque. Isso porque são biocompatíveis, apresentam efeito de retenção e permeabilidade aumentados, uma área de superfície extremamente elevada em relação ao volume, são excelentes nanocarreadores e, além disso, apresentam propriedades físico-químicas únicas. Dentre estas propriedades, podemos citar especialmente as ópticas e eletrônicas que são intrínsecas ao tamanho e a forma e, também, a versatilidade química para modificações superficiais. As AuNPs podem ter sua superfície facilmente modificadas com ligantes diversos, sendo os mais explorados aqueles contendo grupos funcionais, como tióis, fosfinas e aminas, os quais exibem alta afinidade pelo ouro presente na NP. Ainda, através desses grupos funcionais é possível a conjugação de outras moléculas como oligonucleotídeos, proteínas, anticorpos, fármacos, entre outras, que podem ser usadas para construir nanodispositivos com funcionalidade estratégica e específica para determinada aplicação (ELAHI *et al.*, 2017)

A construção desses nanoconjugados de ouro abriu portas para a exploração do nanomaterial em diversas áreas, incluindo desenvolvimento de sistemas inteligentes de *drug delivery*, construção de plataformas teranósticas, arranjo de nanopartículas para bioeletrônica e métodos de detecção mais sensíveis e eficientes, especialmente baseados em plasmônica. Nos últimos anos, os crescentes estudos com nanoconjugados de ouro mostram que quando funcionalizados adequadamente em sua superfície, estes podem facilmente entrar nas células vivas, e suas propriedades abrem caminho para novos estudos com enorme potencial em biologia e medicina (CARABINEIRO, 2017).

A principal razão pela qual as AuNPs atraem tanto interesse nas mais diversas áreas da ciência, especialmente no campo de sensores e fototerapias, são suas propriedades ópticas únicas advindas da LSPR e que não podem ser observadas no ouro em escala macroscópica.

As dispersões coloidais de AuNPs podem ser encontradas em uma vasta gama de cores vibrantes, incluindo vermelho, roxo e violeta, que estão relacionadas ao tamanho das partículas. Tais cores vem da forte absorção e dispersão de luz com comprimento de onda em 520 nm, que é o resultado da oscilação coletiva dos elétrons na superfície das AuNPs, quando excitados por uma luz incidente (Figura 3). Por ser um fenômeno de superfície, a LSPR está intrinsecamente ligada à morfologia e tamanho das AuNPs. O comprimento de onda no qual esse fenômeno ocorre é chamado pico de ressonância plasmônica de superfície e pode ser ajustado pela manipulação do tamanho e forma das partículas (EUSTIS, 2006).

**Figura 3:** Espectros de absorção de AuNPs evidenciando os picos de ressonância plasmônica de acordo com seus formatos e tamanhos.



Fonte: Adaptado de Eustis, 2006.

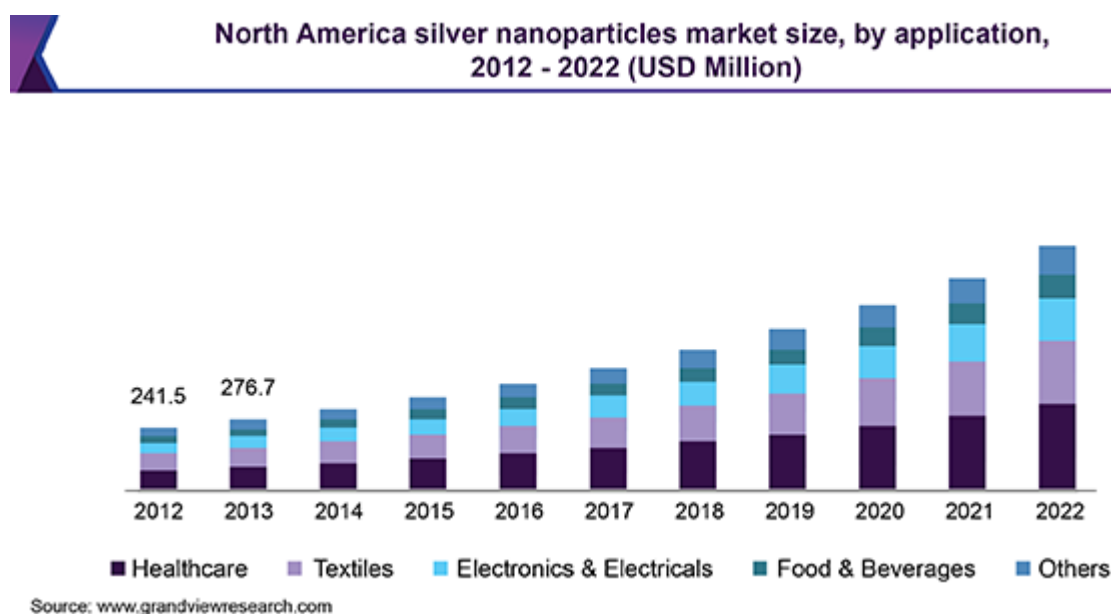
### 1.2.2 Nanopartículas de prata

As nanopartículas de prata (AgNPs) apresentam propriedades físicas, químicas e biológicas diferenciadas, principalmente em resposta a alterações de suas dimensões e formas. As AgNPs apresentam diversas vantagens quando comparadas aos outros metais nobres. Dentre essas vantagens destacam-se: alta condutividade elétrica e térmica, estabilidade em condições ambientais, baixo custo (quando comparados ao ouro e platina), atividade catalítica, atividade antimicrobiana etc. (CHOUHAN, 2018).

As AgNPs apresentam inúmeras aplicações, tais como, nos campos alimentício e bebidas (por exemplo, embalagem de alimentos e purificação de água), eletroeletrônicos (telas de televisores de diodos emissores de luz e de diodos orgânicos emissores de luz e iluminação em dispositivos como telefones celulares e computadores), têxtil (roupas esportivas), catalítico (reações de oxidação e redução) e saúde (atividade antimicrobiana e hipertermias). Atualmente, as AgNPs têm sido amplamente utilizadas no campo médico devido às suas propriedades únicas como biocompatibilidade, inércia, resistência a oxidação e amplo espectro antimicrobiano (PRABHU, 2012).

Corroborando com esse fato, a *Grand View Research* publicou um relatório analisando a tendência do mercado global de 2012 com perspectivas até 2022, sobre a utilização e aplicação de toneladas de AgNPs (Figura 4). Observa-se que ao longo dos anos o crescimento dessas aplicações é bem significativo, enfatizando a maior produção para área da saúde. Isso é justificável devido à crescente demanda por medicamentos antibacterianos e antifúngicos, bem como no diagnóstico e tratamento de doenças, tais como câncer, dengue, leishmaniose, malária, esquistossomose, doença de Chagas entre outras.

**Figura 4:** Mercado global de nanopartículas de prata (AgNPs) por setores de aplicação.



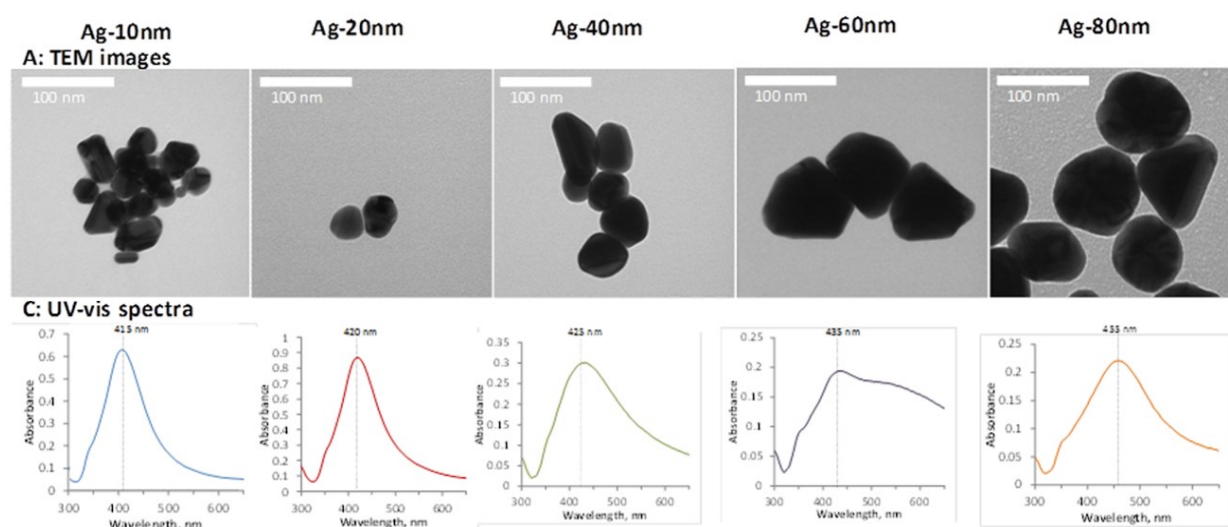
Fonte: Global Industry Report, 2022.

As propriedades e aplicações específicas das AgNPs também são fortemente influenciadas por seu tamanho e forma (Figura 5). Por exemplo, um estudo realizado por Agnihotri e colaboradores em 2014 mostra que partículas menores ou iguais a 10 nm apresentam maior atividade antimicrobiana do que partículas maiores. (AGNIHOTRI *et al.*, 2014). Este fato acontece porque as AgNPs menores apresentam maior área de superfície. Além disso, a forma também afeta essa característica. É sabido que esses dois fatores, tamanho e forma, podem ser controlados através da metodologia de síntese e dos agentes redutores e estabilizadores utilizados para obtenção desses nanomateriais (EL-NOUR, 2010). Estudos destacam que compostos biológicos provenientes de plantas, algas, fungos e bactérias são

promissores para a redução da prata e seus compostos também auxiliam nas atividades antimicrobianas (DANTAS, L. A. 2017).

Na Figura 5 podemos observar imagens de microscopia eletrônica de transmissão (MET) de AgNPs e seus respectivos espectros de absorção no UV-Visível. Observa-se que as características ópticas observadas nos espectros de absorção no UV-Vis alteram de acordo com o tamanho e/ou forma das NPs.

**Figura 5:** Microscopia eletrônica de transmissão (MET) de nanopartículas de prata (A) com seus respectivos espectros de absorção (B).

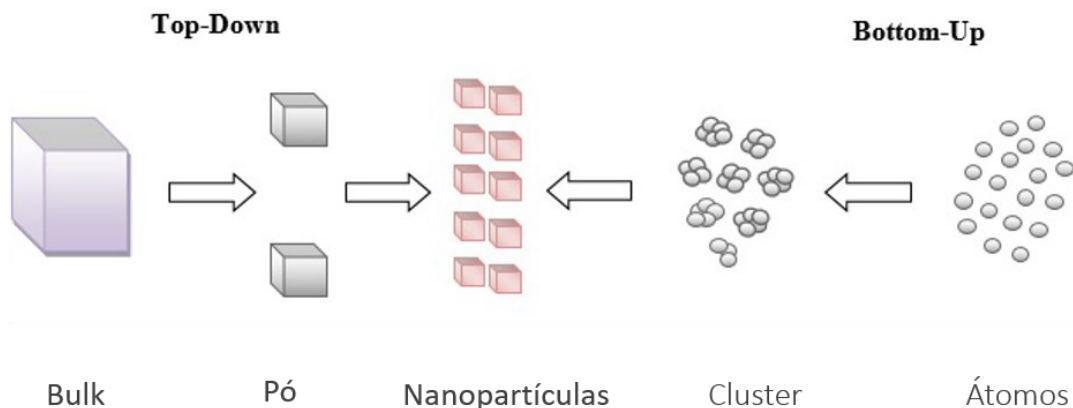


Fonte: Adaptado de IVASK, 2014.

### 1.3 Síntese de nanopartículas metálicas

A síntese de nanopartículas metálicas é dividida em duas abordagens: *top down* (de cima para baixo) e *bottom up* (de baixo para cima). A abordagem *top down*, relaciona-se a metodologias que reduzem o tamanho do material de macroescala para nanoescala e a *bottom up*, relaciona-se aos métodos que une átomos e moléculas para criação de aglomerados que geram as nanoestruturas.

**Figura 6:** Abordagens *top down* e *bottom up* para síntese de nanopartículas metálicas.



Fonte: Adaptado de PAEREEK, 2017.

Diversos métodos para a síntese de NPsMs com alto rendimento e reprodutibilidade foram desenvolvidos ao longo dos últimos 50 anos, incluindo métodos de produção para formas não esféricas e esféricas. Para este último, há uma gama muito maior de rotas de síntese dentre os quais se destacam: o método Turkevich, que se baseia na redução do precursor metálico (ouro, prata) por citrato de sódio; o método Frens que relaciona a variação de tamanho das partículas com a concentração do redutor; o método Brust, para a produção de NPs muito pequenas ( $\sim 2\text{nm}$ ), que utiliza a transferência de uma fase aquosa dos íons metálicos, provenientes do metal precursor, para uma fase orgânica (KOOL, 2020).

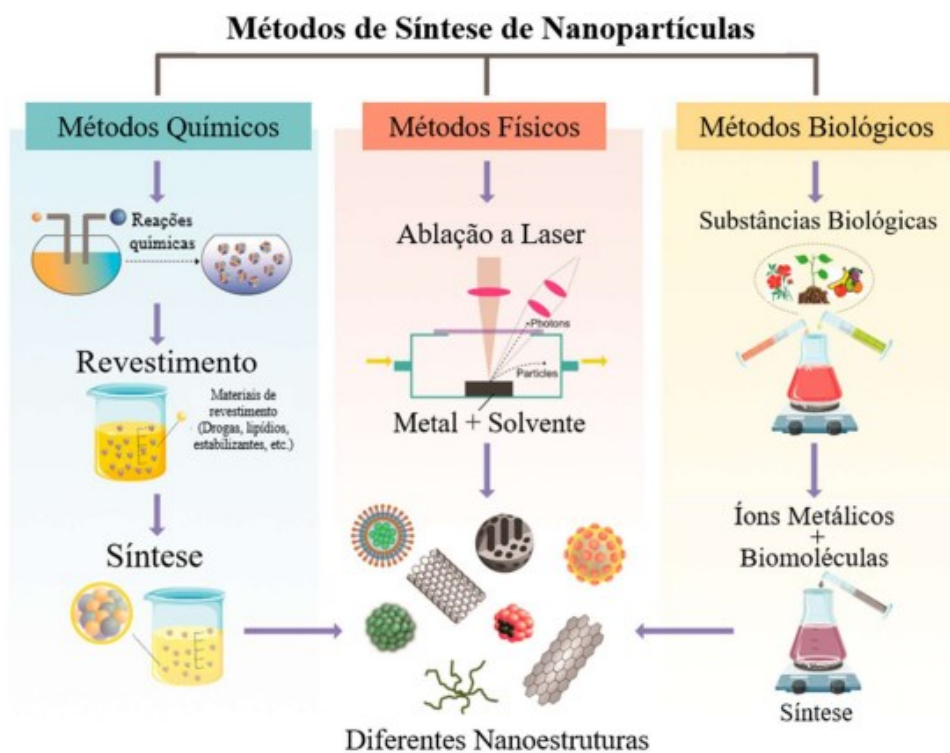
Dentre as abordagens de síntese de nanopartículas metálicas são utilizados métodos físicos, químicos e biológicos (DHILLON *et al.*, 2012).

Apesar da rápida síntese pelos métodos convencionais (químico e físico), estes podem apresentar uma série de desvantagens, sejam elas pela necessidade da utilização de um agente redutor orgânico e/ou inorgânico, assim como pelo uso de agentes protetores, estabilizadores e tensoativos. Além da utilização de elementos químicos, que às vezes são contaminantes e geram poluição ambiental, outra desvantagem é que a síntese química pode limitar as suas aplicações clínicas devido às ligações dos seus subprodutos as nanopartículas (LIANG *et al.*, 2017; (KABIR *et al.*, 2018). Portanto, a busca por uma alternativa viável a estes métodos, que envolvem o uso de produtos químicos e equipamentos caros e às vezes perigosos, se tornou cada vez maior, existindo assim a necessidade de procedimentos mais seguros, econômicos e ambientalmente amigáveis para a síntese de nanopartículas (BAGHERZADE *et al.*, 2017).

A partir da premissa da nanobiotecnologia, o uso de sistemas biológicos para síntese de nanopartículas se tornou cada vez mais viável. Sendo assim a síntese biológica de nanopartículas é a melhor alternativa diante as problemáticas apresentadas as sínteses químicas e físicas, visto que as moléculas orgânicas provenientes desses sistemas biológicos não apresentam perigos à saúde humana e ao meio ambiente (ALBRECHT *et al.*, 2006; (IRAVANI, 2011).

Sendo assim, além das outras vantagens existentes como sua metodologia simples e ambientalmente amigável, a síntese verde de nanomateriais é atraente devido a sua capacidade de reduzir a toxicidade resultante de métodos convencionais (GOUR *et al.*, 2019). Os produtos naturais também são uma importante fonte de novos compostos antimicrobianos (CRUZ *et al.*, 2019).

**Figura 7:** Métodos químicos, físicos e biológicos para síntese de nanopartículas.



Fonte: Adaptado de JEYARAJ, 2019.

A síntese utilizando plantas apresenta uma série de características desejáveis: são econômicas, seguras e de fácil reprodutibilidade. Um outro fator é que os próprios constituintes das plantas atuam como agentes de proteção e estabilização das NPs, não necessitando assim, de outros agentes estabilizadores (HERIZCHI *et al.*, 2014; MAKAROV *et al.*, 2014). O uso de

plantas também é importante devido à ampla variabilidade de biocompostos com diversas aplicações de interesse na indústria farmacêutica (CRUZ *et al.*, 2019).

#### 1.4 Extratos vegetais

Os extratos vegetais são conhecidos por apresentarem em sua composição uma variedade de biomoléculas, como fenóis, flavonóides, terpenóides e alcalóides que tem por característica a capacidade de doar elétrons, permitindo a formação e estabilização das NPs (SRIKAR *et al.*, 2016).

O mecanismo exato da síntese de NPs por extratos de plantas ainda não foi completamente elucidado, mas sugere-se que proteínas, aminoácidos, ácidos orgânicos e/ou metabólitos secundários como flavonóides, polifenóis, polissacarídeos, dentre outros, sejam os responsáveis por reduzir os sais metálicos e estabilizar as NPs em meio coloidal (JACOB *et al.*, 2012). A redução de íons metálicos por conjuntos de moléculas encontradas nos extratos é quimicamente viável, resultando em um enorme volume de pesquisas bem-sucedidas utilizando estes compostos (BAGHAIENEZHAD *et al.*, 2020). Estudos destacam que a utilização de extratos vegetais no processo para obtenção de NPs metálicas agregam às nanoestruturas, atividades antimicrobianas potencializando diversas aplicações (PRABHU *et al.*, 2010; JASIM *et al.*, 2019).

A *H. courbaril*, popularmente conhecida como jatobá, é uma espécie de árvore da família das Fabaceae, geralmente encontrada no cerrado brasileiro. O jatobá é uma planta tradicionalmente usada na medicina popular, onde quase todas as partes da planta, como raízes, folhas, frutos, casca e caule são utilizados para tratar diversas doenças como anemia, problemas renais, dor de garganta, bronquite e asma (GUPTA *et al.*, 2014).

**Figura 8:** Árvore Jatobá (*Hymenaea courbaril*)



Fonte: Mauro Guanandi. Secretaria de Infraestrutura e Meio Ambiente de São Paulo.

Disponível em: <https://www.infraestruturameioambiente.sp.gov.br/2016/02/jatoba-patrimonio-brasileiro/>

As partes da planta podem ser utilizadas de diversas formas, o fruto, por exemplo, pode ser comido naturalmente ou, de sua polpa, é possível fazer uma farinha e gemada, usada para aliviar problemas pulmonares. A casca é usada em algumas regiões para fazer chá contra gripe, bronquite, excreções pulmonares, diarreia, vermes, entre outras aplicações como no tratamento de câncer de próstata. Além disso, a casca e o fruto são utilizados para combater a tosse, mastigando essas como se fosse uma bala. A folha possui substâncias químicas conhecidas como terpenóides, que atuam matando fungos e repelindo as saúvas, além disso, essa substância tem efeitos tóxicos e repelentes nas lagartas (SHANLEY *et al.*, 2005).

Sendo assim, o jatobá tem sido estudado pelo seu potencial farmacológico devido à possibilidade de sua aplicação como antioxidante, antimicrobiano, antiviral, antifúngico, além de ações hepatoprotetoras, gastroprotetoras e expectorantes (ROCHA *et al.*, 2018). Dentre as substâncias antioxidantes presentes na planta, existem os compostos fenólicos da classe dos polifenóis, em especial, os flavonóides, além disso, alguns estudos indicam a presença de ácidos carboxílicos fenólicos, bem como a de várias estruturas flavonoides no extrato metanólico do jatobá (VEGGI *et al.*, 2014). Portanto, a variedade de biomoléculas presentes nas plantas está associada ao potencial farmacológico encontrado em seus extratos, que também representam uma ferramenta promissora para biossíntese de NPs metálicas, contribuindo para os avanços na nanobiotecnologia.

A utilização dos princípios da biossíntese em conjunto com a nanotecnologia abrem oportunidades para elucidar os mecanismos sintéticos para criação de novos materiais, sem o uso de fortes agentes redutores, contribuindo para a redução de subprodutos tóxicos. O uso de extratos vegetais associados às NPs também abrem espaço para diferentes aplicações biotecnológicas.



Devido às propriedades das NPs metálicas e as características dos extratos de Jatobá (*H. courbaril*) destacamos neste trabalho, novas metodologias para a síntese de AuNPs e AgNPs. O método de síntese de NPs proposto apresenta uma série de características desejáveis: são metodologias econômicas, ecologicamente amigáveis, seguras e biocompatíveis. A redução da citotoxicidade metálica propicia aplicações biotecnológicas e biomédicas, minimizando os possíveis impactos provenientes do uso de reagentes tóxicos na obtenção de materiais nanoestruturados.

## **OBJETIVOS**

Sintetizar nanopartículas metálicas utilizando extratos vegetais obtidos de ocorrência natural do cerrado brasileiro.

### **OBJETIVOS ESPECÍFICOS:**

- i. Biossintetizar nanopartículas de ouro e prata utilizando, respectivamente, ácido tetracloroáurico ( $\text{HAuCl}_4$ ) e nitrato de prata ( $\text{AgNO}_3$ ), como agentes precursores metálicos e extratos de semente, folha e casca de Jatobá (*H. courbaril*).
- ii. Caracterizar opticamente as nanopartículas metálicas por espectroscopia de absorção eletrônica no UV-visível e estruturalmente por Microscopia Eletrônica de Transmissão (MET).
- iii. Observar e comparar se as metodologias de extração dos extratos (US e AM) influenciam na formação das NPs.
- iv. Observar a estabilidade coloidal das nanopartículas de ouro e prata obtidas com extratos de semente, folha e casca de Jatobá (*H. courbaril*).

## **2 MATERIAL E MÉTODOS**

### **2.1 Revisão bibliográfica**

Inicialmente foi realizada uma revisão da literatura através de consulta a bancos de dados bibliográficos como o PubMed e SciELO, com o intuito de conhecer as principais

metodologias para biossíntese de nanopartículas utilizando extratos vegetais. A estratégia de busca baseou-se na inserção de termos livres, como "Nanopartículas", "Química verde", "Biossíntese de nanopartículas", e "Nanotecnologia". Sendo assim, os estudos de artigos originais e de revisão foram identificados, selecionados e avaliados quanto ao (i) composição da nanopartícula, (ii) extrato vegetal utilizado, (iii) metodologia de síntese e (iiii) caracterização das NPs. Após a seleção dos artigos, seguindo os itens descritos acima, as informações mais relevantes foram extraídas de cada estudo para posterior comparação com a metodologia proposta neste trabalho.

## 2.2 Síntese de nanopartículas metálicas

### 2.2.1 Extratos vegetais

Neste trabalho foram utilizados extratos vegetais de semente, folha e casca de Jatobá (*H. courbaril*) obtidos por Andressa Moreira do Nascimento (NASCIMENTO, 2020).

Para a produção dos extratos brutos, as folhas, sementes e a casca de Jatobá, foram previamente secos por 24 horas no liofilizador. Em seguida, o material seco foi pulverizado em moinho de facas. Cerca de 5 gramas de cada pó resultante foi submetido à extração por banho ultrassônico (US), em uma temperatura fixa de 40°C, utilizando 100 mL de etanol 96% como solvente. A extração foi realizada em três ciclos de 15 minutos, com intervalo de 2 minutos entre cada ciclo. Da mesma forma, para a extração por maceração dinâmica, outra porção de 5 g de cada um dos pós obtidos foi submetida à extração, em temperatura ambiente, utilizando 100 mL de etanol 96% como solvente. A extração aconteceu no agitador magnético (AM), utilizando uma barra magnética inserida na solução. O frasco permaneceu envolto em papel alumínio por um período de 24 horas. Após cada um dos processos, todas as soluções obtidas foram filtradas a vácuo, separadamente, e levadas ao rotaevaporador a temperatura de 55°C para retirada do solvente. Por fim, todos os extratos foram levados ao liofilizador para obtenção dos extratos brutos utilizados nos processos seguintes (NASCIMENTO, 2020).

O preparo da solução dos extratos vegetais de semente, folha e casca de Jatobá US e AM para a síntese de NPs de ouro ocorreu a partir da pesagem de 5 mg de cada um dos extratos que estavam inicialmente liofilizados, e posterior diluição em 10 ml de água destilada e deionizada, mantendo a concentração de 500 µg/ml. Para a síntese de NPs de prata, pesou-se 5mg de cada um dos extratos, que foram posteriormente diluídos em 500 µL de DMSO 20% e adicionados a 25 mL de água destilada e deionizada, mantendo-se a concentração de 500 µg/ml.

### 2.2.2 Síntese de nanopartículas de ouro

Para a síntese das NPs de ouro, foi preparada uma alíquota de cada extrato vegetal em concentração de 500 µg/mL de água. A reação ocorreu em 10 mL de água destilada e deionizada sob aquecimento (80°C) e agitação constantes. Após estabilização da temperatura, foi adicionado 10 µL de ácido tetracloroáurico (HAuCl<sub>4</sub> 0,01M), o precursor metálico. Após homogeneização foi adicionado 100 µL do extrato ressuspendido em DMSO 5%, resultando em uma concentração final de 50µg/mL. Após aproximadamente 5 minutos da adição do extrato vegetal foi possível observar a alteração gradativa da coloração do meio reacional. O aquecimento foi interrompido após 10 minutos da adição dos extratos. As amostras foram deixadas em repouso até alcançarem temperatura ambiente. Para verificar o caráter estabilizante dos extratos vegetais na formação das partículas durante a reação, não foram utilizados agentes tensoativos (surfactantes) adicionais.

### 2.2.3 Síntese de nanopartículas de prata

Para a síntese das NPs de prata, foi preparada uma alíquota de cada extrato vegetal em concentração de 500 µg/mL. A reação ocorreu em 25 mL de água destilada e deionizada sob aquecimento (80°C) e agitação constante. Após estabilização da temperatura, foi adicionado 300 µL de nitrato de prata (AgNO<sub>3</sub> a 0,01M), o precursor metálico. Após homogeneização foi adicionado 150 µL dos extratos de Jatobá. Aproximadamente 5 minutos da adição do extrato vegetal já foi possível observar a alteração gradativa da coloração. O aquecimento foi interrompido após 15 minutos após a adição dos extratos e as dispersões coloidais deixadas em repouso até alcançarem temperatura ambiente. Para verificar o caráter estabilizante dos extratos vegetais na formação das partículas durante a reação, não foram utilizados agentes tensoativos (surfactantes) adicionais.

## 2.3 Caracterização das nanopartículas

A caracterização óptica das suspensões coloidais foram realizadas por Espectroscopia de absorção no UV-Visível: na faixa de 200 a 700 nm, no espectrofotômetro Rayleigh - Vis-723G, do Laboratório de Nanomateriais do Instituto de Física da UFMG e no espectrofotômetro T70+Uv-Vis do Laboratório de Genética e Biotecnologia (GBIO), da Universidade Federal de Uberlândia (UFU).

As análises estruturais das NPs de ouro (tamanho, forma e distribuição) foram realizadas através de imagens obtidas por MET no equipamento Tecnai G2-20 FEI SuperTwin 200kV, do Centro de Microscopia da UFMG.

### **3 RESULTADOS E DISCUSSÃO**

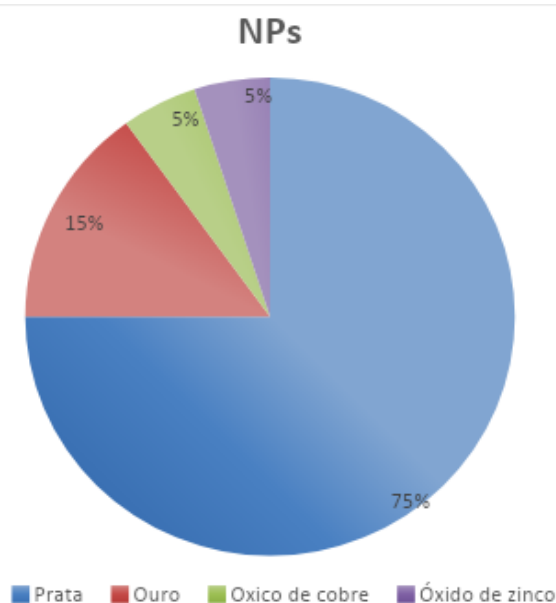
#### **3.1 Análise de Revisão Bibliográfica**

O desenvolvimento de metodologias de síntese de nanopartículas (NPs) utilizando extratos naturais é muito relevante, principalmente no que se refere a questões ambientais (GANESAN *et al.*, 2015). Diante disso, diversos estudos vêm utilizando a atividade redutora de compostos vegetais para a síntese de nanoestruturas metálicas (CAUERFF *et al.*, 2013; BAGHIZADEH *et al.*, 2015).

Sendo assim, foi realizado um estudo bibliográfico que buscou analisar as diferentes metodologias aplicadas para a biossíntese de nanopartículas, a fim de obter um maior entendimento dos possíveis procedimentos, técnicas e aplicações, além de compará-las com a metodologia de síntese proposta no projeto inicial. Os detalhes dos principais estudos encontram-se na Tabela 1, em anexo.

Através do levantamento bibliográfico foi possível verificar a versatilidade dos estudos que envolvem biossíntese de nanopartículas como composição, tamanho, rotas sintéticas e técnicas de caracterizações. Dentre a composição química de NPs encontradas no estudo destacam-se: as NPs de prata, ouro, óxido de cobre e óxido de zinco, havendo maior citação das NPs de prata (Figura 9). Isso ocorre, devido ao fato de o elemento apresentar propriedades físico-químicas extremamente vantajosas para determinadas aplicações contra microrganismos. (MARCIANO, 2008; TRIPATHY *et al.*, 2010).

**Figura 9:** Frequência dos principais precursores metálicos encontrados para a síntese de NPs com extratos vegetais.



Segundo Guimarães e colaboradores (2014), às NPs produzidas com extrato da folha de gergelim apresentam uma diminuição da estabilidade coloidal com o tempo, característica observada em medidas de potencial zeta. O estudo também apresenta dados relacionados ao período do 35º dia (fase de floração da planta) e o 70º dia. Observou-se que o uso de extratos da planta na fase de floração apresentou uma maior diminuição do módulo de potencial zeta, evidenciando a formação de NPs de prata mais instáveis (GUIMARÃES *et al*, 2014). Através desse estudo, podemos observar que o tipo de extrato, a concentração, o período de colheita, entre outras propriedades, influencia diretamente na formação das nanopartículas, podendo provocar até a não formação destas.

Outro exemplo observado foi no estudo onde utilizou-se extratos de folhas *Piper arboreum*, de cascas de banana e de casca de maracujá. Os dois primeiros extratos não reduziram a prata e conseqüentemente não levaram a formação de NPs, enquanto o extrato de casca de maracujá propiciou a formação de NPs. Alguns dos possíveis motivos abordados no estudo para a não redução da prata à partir do uso dos extratos foram que o extrato de *P. arboreum*, deve possuir compostos redutores (biomoléculas) em quantidades insuficientes para promover a redução metálica; já o extrato de casca de banana pode estar associado a variação da concentração de biomoléculas na casca da banana como consequência de efeitos sazonais e/ou regionais (LARA *et al.*, 2017).

Dentre os estudos avaliados, o efeito antimicrobiano das nanopartículas foi o mais estudado, resultando em um total de 12 artigos dos 18 selecionados. A maior parte dos estudos encontraram resultados significativos quanto a essa atividade antimicrobiana tanto em bactérias gram-negativas quanto gram-positivas, com efeito equivalente ou superior a outros antimicrobianos (GUIMARÃES *et al.*, 2014; FREITAS, 2019; CRUZ, 2019; RAOTA, 2018; OLIVEIRA, 2018; ZIA *et al.*, 2016; BARAN *et al.*, 2020; SINGH *et al.*, 2018; ANSARI *et al.*, 2018; PAOSEN *et al.*, 2019; JADHAV *et al.*, 2016; AYGUN *et al.*, 2019). Ou seja, através de estudos mais específicos, essas nanopartículas podem se tornar alternativas extremamente eficazes para o tratamento de diversas infecções causadas por bactérias e até mesmo fungos.

A biossíntese de nanopartículas tem como princípio a reação de oxirredução, onde compostos do extrato, normalmente as biomoléculas, reagem com o precursor metálico levando a redução desse e, por consequência, a formação das NPs. Entre as etapas da síntese, destacam-se uso de agitação e aquecimento (20 a 75°C), variáveis que influenciam a cinética das reações para formação das NPs.

Dentre a caracterização das NPs destacam-se: caracterizações ópticas e estruturais. As caracterizações ópticas são geralmente realizadas por espectroscopias (principalmente de absorção óptica na região do UV-Vis e infravermelho) e espectroscopia Raman. As caracterizações estruturais são geralmente realizadas por imagens de microscopia eletrônica de varredura (MEV), microscopia eletrônica transmissão (MET) e por difração de Raios-X (DRX). Através dessas caracterizações é possível observar a morfologia, a composição, o diâmetro, a dispersão de tamanho, e a estabilidade coloidal (LARA *et al.*, 2017; ROCHA, 2010; FREITAS, 2019; CRUZ, 2019; FERREIRA, 2016; DANTAS, 2017; RAOTA, 2018; LOPES, 2018; OLIVEIRA, 2018; ZIA, *et al.*, 2016; BARAN, *et al.*, 2020; AHMAD *et al.*, 2015; SINGH *et al.*, 2018; ANSARI *et al.*, 2018; JADHAV *et al.*, 2016; AYGUN *et al.*, 2019).

Quanto às aplicações, observações muito importantes estão relacionadas à citotoxicidade das NPs, principalmente para a utilização na área de saúde como possíveis fármacos (DANTAS, 2017; JADHAV *et al.*, 2016; OLIVEIRA, 2018; SINGH *et al.*, 2018). Como exemplo, destacam-se estudos do efeito tóxico dessas NPs em células cancerosas (AHMAD *et al.*, 2015; AYGUN *et al.*, 2019; BARAN *et al.*, 2020; SINGH *et al.*, 2018). Compostos nanoestruturados podem se tornar uma grande alternativa para tratamentos já existentes, principalmente quando associados a fármacos ou a agentes de contraste para melhoramento de imagens.

Além disso, as nanopartículas não apresentam vantagens apenas na indústria médica e farmacêutica. Essas também podem ser amplamente utilizadas em diversas áreas como, por

exemplo, na remoção de metais tóxicos do meio ambiente. Nessa aplicação as NPs metálicas agem como adsorventes eficazes na remoção da poluição da água (BARAN *et al.*, 2020).

Sendo assim, dentre as nanopartículas metálicas destacam-se o uso de metais como prata e ouro. Observou-se maior citação do uso de nanopartículas de prata, devido às suas propriedades antimicrobianas e outras propriedades físico-químicas que fazem com que esse material apresenta grande aplicabilidade biotecnológica. Já os métodos aplicados para essas sínteses são simples, baseados na oxirredução, em meio aquoso. As principais etapas das sínteses se caracterizam pela solubilização dos agentes precursores (extratos e precursores metálicos), agitação e aquecimento das soluções para a formação das NPs. Pesquisadores sempre destacam a importância do controle do tamanho das NPs e acompanhamento da estabilidade coloidal das suspensões.

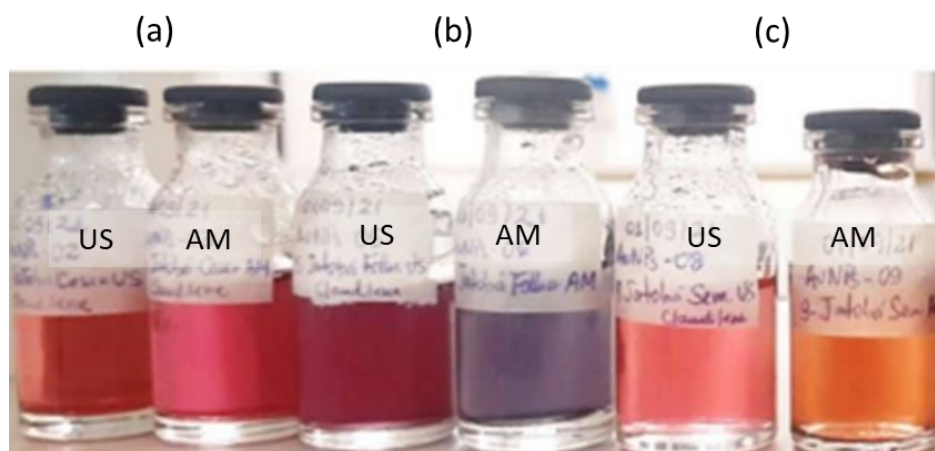
### 3.2 Síntese e caracterização de nanopartículas utilizando extratos vegetais

#### 3.2.1 Nanopartículas de ouro

Apesar das sínteses de nanopartículas metálicas serem em sua maioria sintetizadas a partir do nitrato de prata ( $\text{AgNO}_3$ ) (item 4.1), a síntese de NPs obtidas nesse trabalho, inicialmente, baseou-se no uso do ácido tetracloroáurico ( $\text{HAuCl}_4$ ) como precursor metálico na reação, devido a disponibilidade de reagentes, desenvolvimento prévio de protocolos pelo grupo estabilidade química das reações detectadas em ensaios preliminares.

O estudo em questão apresentou a formação de NPs de ouro utilizando extratos vegetais de semente, casca e folha de Jatobá (*H. courbaril*), tanto pelo método US quanto pelo método AM. (Figura 10). Todos os extratos foram adequados para a síntese de AuNPs, no entanto foi possível observar características particulares em cada suspensão coloidal.

**Figura 10:** Suspensões coloidais de NPs de ouro com extratos vegetais (a) casca, (b) folha e (c) semente; método de extração US e AM.



A Figura 10 mostra a fotografia das suspensões de NPs de ouro obtidas com os extratos de semente e casca e folha de Jatobá. Após a adição dos extratos vegetais à solução de ácido tetracloroáurico, foi observada alteração na coloração do meio reacional. A mudança da coloração para tons de vermelho foi a detecção preliminar para indicar a formação das NPs. As imagens das suspensões evidenciam colorações variadas caracterizadas pelo efeito de ressonância de plasmons superficiais, que consiste na oscilação dos elétrons livres nas nanopartículas metálicas criando uma densidade de carga em sua superfície. Esse fenômeno provoca uma acentuada absorção de luz na região visível do espectro. As suspensões contendo nanopartículas metálicas apresentam colorações bem características.

Observações visuais associadas às espectroscopias de absorção no UV-Vis auxiliam na caracterização da estabilidade coloidal das suspensões. Tais suspensões mostraram-se estáveis (sem agregação) por aproximadamente 2 meses.

Os extratos vegetais utilizados nos experimentos mostraram-se promissores para a formação das nanopartículas de ouro, como pode ser observado nas Figuras de 11 a 16.

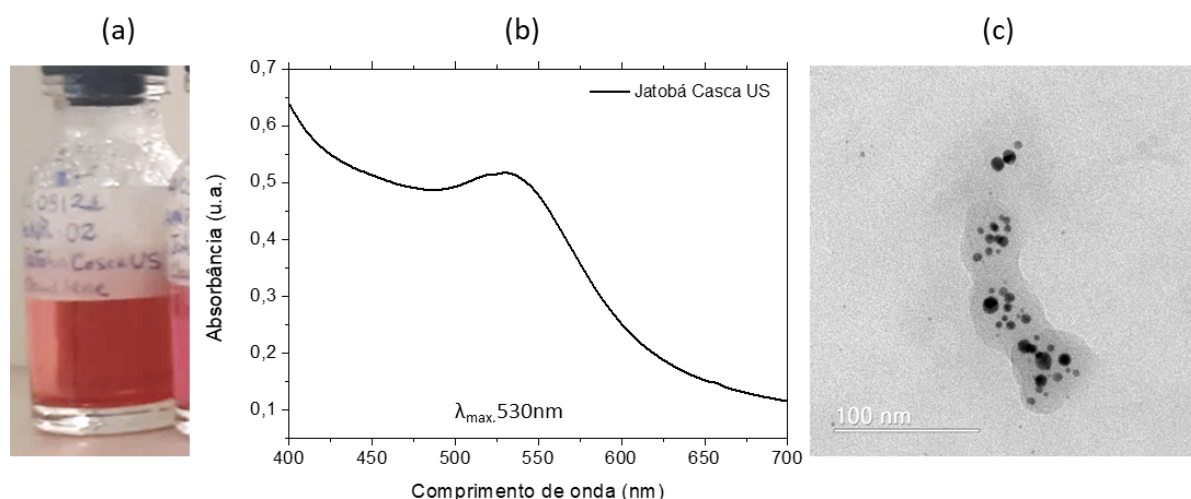
A Figura 11 mostra as caracterizações das suspensões com extrato de casca de Jatobá (*H. courbaril*) US. Através do espectro (Figura 11b), observa-se uma intensidade máxima (0,51) da absorção no comprimento de onda de 533nm. Estudos mostram que suspensões contendo NPs de ouro com absorções nesse comprimento de onda apresentam diâmetros de aproximadamente 30-40 nm (LINK, 1999; PARVEEN, 2017).

As imagens obtidas por de MET (Figura 11c) mostram a formação de NPs de ouro (pontos mais eletrodensos), dispersas em uma matriz orgânica. Acredita-se que devido ao



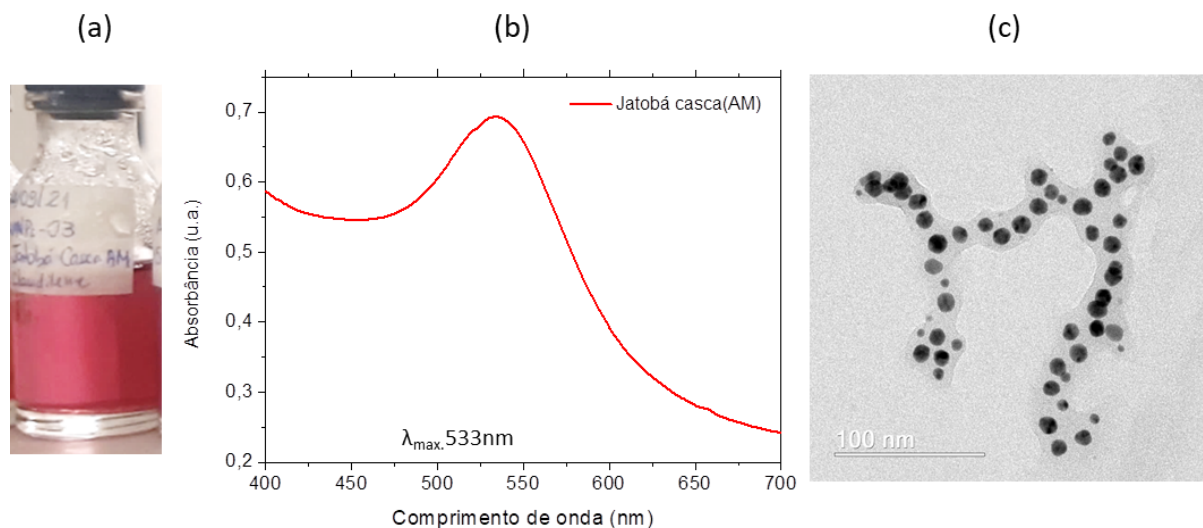
processo de secagem, o extrato vegetal (matriz orgânica) esteja envolvendo as NPs. Essa afinidade é um indicativo que o extrato vegetal possa estar estabilizando as NPs em suspensão. O uso do extrato de casca de Jatobá US mostra-se eficiente no processo de formação de NPs, com tamanhos variando entre 5 a 10 nm. Observa-se a presença de NPs polidispersas, mas através das técnicas utilizadas é possível comprovar a formação de partículas de ouro de escala nanométricas. Assim, verificamos que o extrato da casca de Jatobá (*H. courbaril*) possui compostos promissores para a obtenção de nanoestruturas.

**Figura 11:** NPs de ouro com extrato de casca de Jatobá (*H. courbaril*) US. (a) Suspensões coloidais, (b) Espectro absorção UV-Vis, (c) MET.



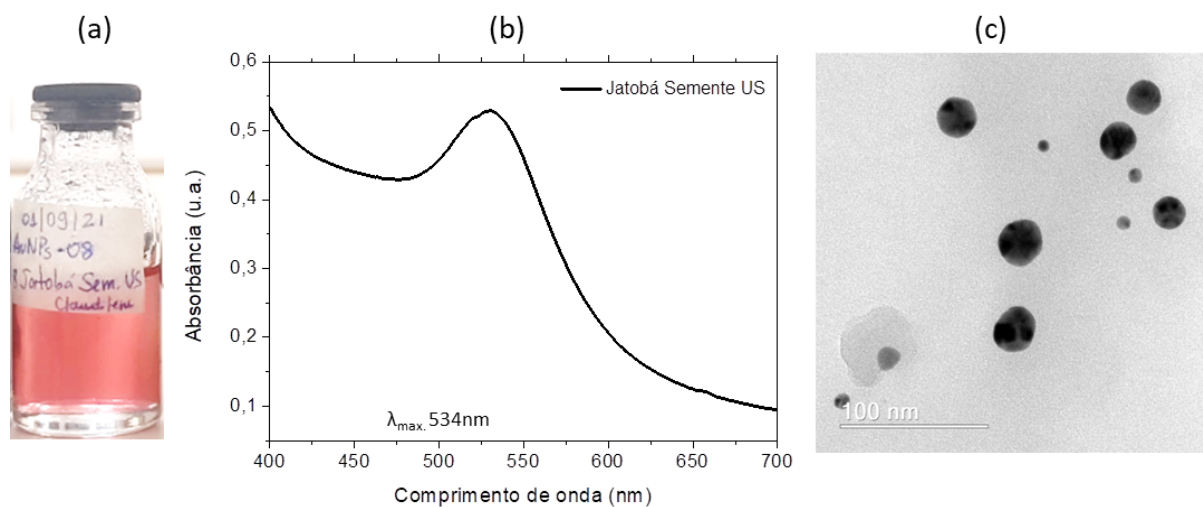
A Figura 12 mostra as caracterizações das suspensões com extrato casca de Jatobá (*H. courbaril*) AM, através do espectro de absorção (Figura 12b), observa-se uma intensidade máxima (0,69) da absorção no comprimento de onda próximo a 535 nm. As imagens obtidas por de MET (Figura 12c) mostram a formação de NPs de ouro (pontos mais eletrodensos), envolvidas por uma matriz orgânica. Acredita-se que devido ao processo de secagem, o extrato vegetal esteja envolvendo as NPs. Nessas imagens observamos que o extrato vegetal envolve as NPs de forma mais individualizada. Essa afinidade também indica que o extrato utilizado se apresenta eficiente para a estabilização das NPs em suspensão. Nessa amostra verificamos a formação de NPs, com tamanhos mais homogêneos de aproximadamente 10 nm, caracterizando-as como amostras monodispersas. A monodispersão é um fator importante para futuras aplicações biotecnológicas.

**Figura 12:** NPs de ouro com extrato de casca de Jatobá (*H. courbaril*) AM. (a) Suspensões coloidais, (b) Espectro absorção UV-Vis, (c) MET.



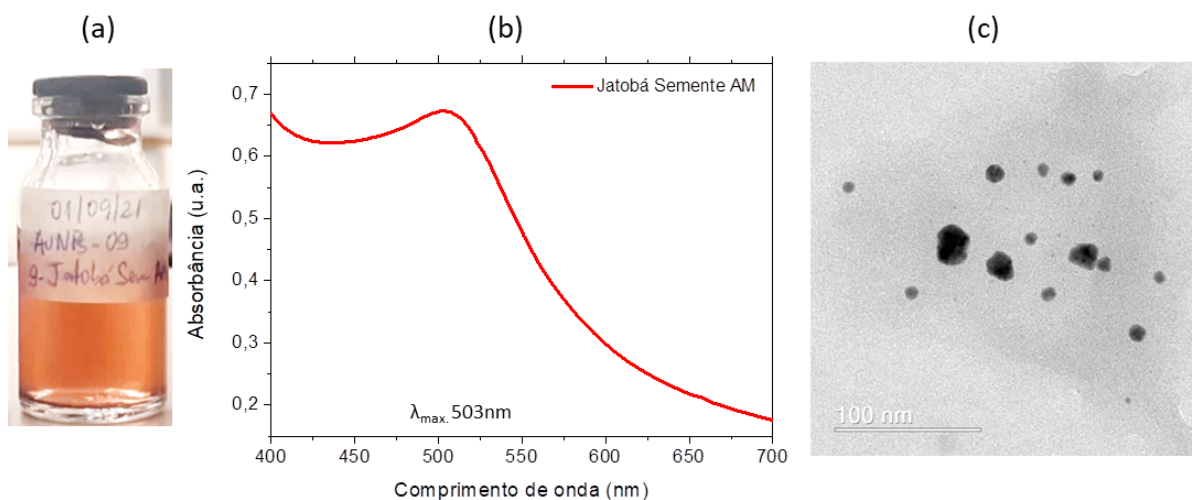
A Figura 13 mostra as caracterizações das suspensões com extrato de semente de Jatobá (*H. courbaril*) US. Observa-se pela MET (Figura 13c) que as partículas se encontram mais polidispersas (5-40 nm), quando comparadas às amostras obtidas com o extrato de casca de Jatobá (Figuras 11 e 12). Essa polidispersão se caracteriza pela presença de uma população de partículas muito pequenas junto à outra população de partículas maiores. Quando as partículas dispersas apresentam tamanhos diferentes, o sistema coloidal é denominado polidisperso. Além da polidispersão, observamos várias imagens com menor quantidade de partículas por campo. Essa polidispersão também pode ser observada no espectro de absorção UV-Vis. (Figura 13b), quando analisamos a largura da banda de absorção. Tais resultados indicam que a metodologia de síntese precisa ser adaptada e explorada para melhor compreensão da cinética de formação das NPs com o extrato da semente de Jatobá.

**Figura 13:** NPs de ouro com extrato de semente de Jatobá (*H. courbaril*) US. (a) Suspensões coloidais, (b) Espectro absorção UV-Vis, (c) MET.



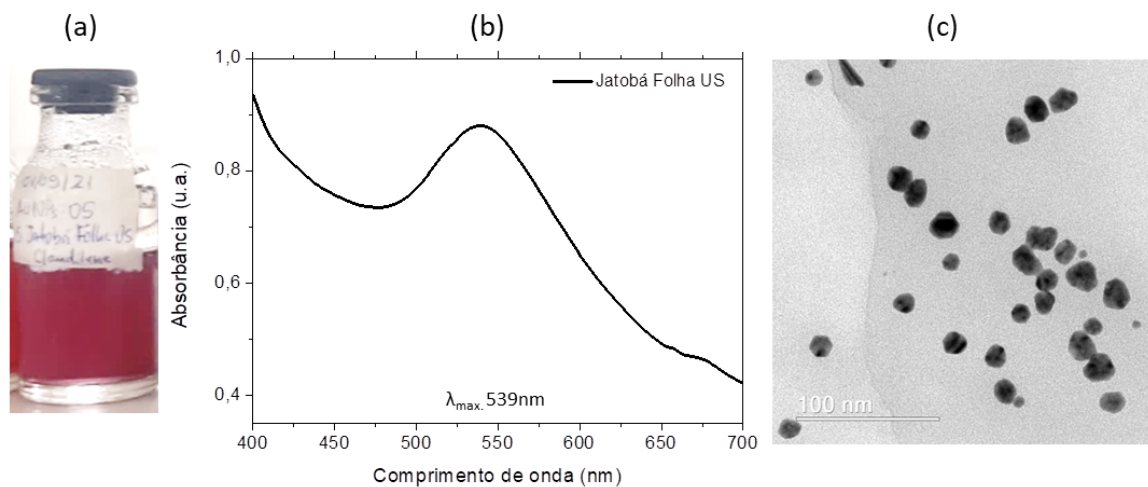
Na Figura 14 apresentamos as caracterizações das suspensões com extrato de semente de Jatobá (*H. courbaril*) AM. Observa-se que as partículas se encontram envolvidas por uma grande massa polimérica (matriz orgânica) (Figura 14c), representada pela presença do extrato. As imagens se caracterizam pela presença de alguns agregados de NPs com 2-10 nm de diâmetro. Tais agregados de extrato/NPs podem influenciar na estabilidade dessa suspensão coloidal levando-as a instabilidade. No espectro de absorção UV-Visível (Figura 14b), também observamos indicativos de uma baixa estabilidade coloidal. Observamos um pico em 506 nm com absorção máxima de 0,67. Esses resultados preliminares indicam que a metodologia de síntese com esse extrato precisa ser adaptada.

**Figura 14:** NPs de ouro com extrato de semente de Jatobá (*H. courbaril*) AM. (a) Suspensões coloidais, (b) Espectro absorção UV-Vis, (c) MET.



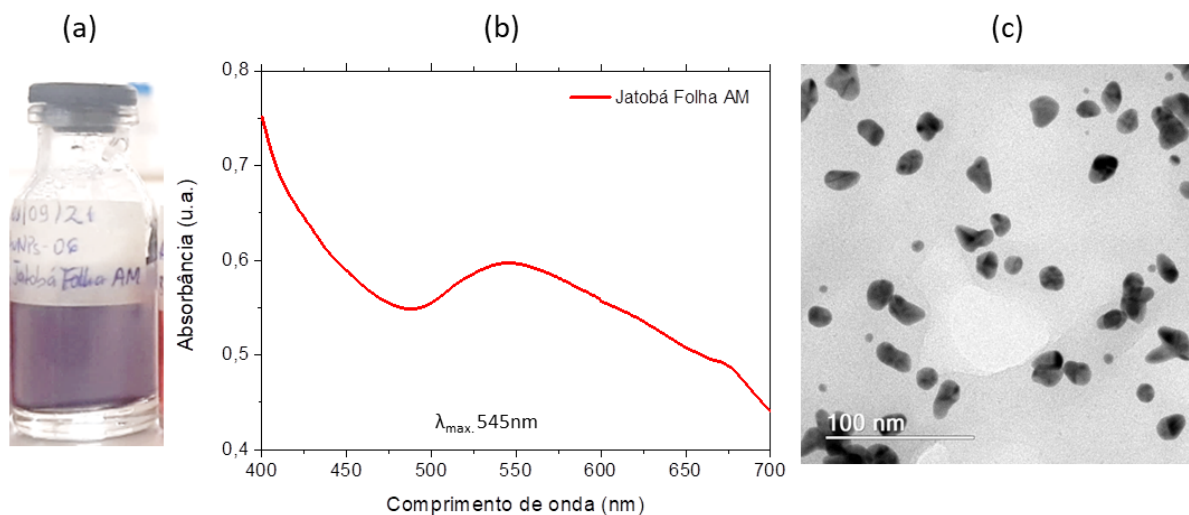
Na Figura 15 apresentamos as caracterizações das suspensões com extrato de folha de Jatobá (*H. courbaril*) US. Observa-se que as partículas se encontram envolvidas por uma grande massa polimérica (matriz orgânica) (Figura 15c), possivelmente representada pela presença do extrato. As imagens se caracterizam pela presença de partículas monodispersas. No espectro de absorção UV-Visível (Figura 15b), observamos um pico em 539 nm com absorção máxima em 0,88. A partir dessas características podemos confirmar que a metodologia utilizando extrato de folha é promissora para a biossíntese de nanopartículas de ouro.

**Figura 15:** NPs de ouro com extrato de folha de Jatobá (*H. courbaril*) US. (a) Suspensões coloidais, (b) Espectro absorção UV-Vis, (c) MET.



Na Figura 16 apresentamos as caracterizações das suspensões com extrato de folha de Jatobá (*H. courbaril*) AM. Observa-se que as partículas se encontram de maneira mais agregada e envolvidas por uma grande massa polimérica (matriz orgânica) (Figura 16c), representada pela presença do extrato. As imagens se caracterizam pela presença de alguns agregados de NPs com aproximadamente 19 nm de diâmetro. Tais agregados de extrato/NPs podem influenciar na estabilidade dessa suspensão coloidal devido à formação de possíveis agregados. No espectro de absorção UV-Visível (Figura 16b), observamos um pico em 545 nm com absorção máxima em 0,59.

**Figura 16:** NPs de ouro com extrato de folha de Jatobá (*H. courbaril*) AM. (a) Suspensões coloidais, (b) Espectro absorção UV-Vis, (c) MET.



Os resultados das sínteses de NPs de ouro utilizando extratos de Jatobá indicam que, tanto o extrato da casca quanto o da semente e folha apresentam compostos importantes para o processo de oxirredução metálica. Após a adição dos extratos observou-se a formação das NPs, devido a mudança inicial da coloração do meio reacional.

Com relação ao método de obtenção do extrato, verificamos que a agitação magnética (AM) apresentou imagens com NPs mais monodispersas. Acredita-se que a metodologia AM possa preservar melhor os compostos presentes nos extratos. A metodologia de US apresenta uma maior vibração das moléculas dos compostos podendo levá-los à degradação.

A partir dos dados apresentados nas Figuras acima foi possível observar o comprimento de onda máximo das absorções de cada amostra (Tabela 2). Através dessas sínteses observamos suspensões com absorções entre 500 e 545 nm. Estudos destacam que absorções em comprimentos de onda maiores evidenciam a presença de NPs maiores, quando comparadas às absorções máximas em comprimentos de onda menores (SHIPWAY, 2000; PARVEEN, 2017). Através das análises espectroscópicas verificamos que as suspensões com extratos de semente de Jatobá AM apresentam-se menores (absorção máxima em 503 nm). Esse resultado está de acordo com as análises das imagens de MET, destacando partículas de 2 – 10 nm. Diferente dessa observação, verificou-se que suspensões obtidas com extratos de semente de Jatobá US apresentaram uma grande dispersão de tamanho (caracterizando a polidispersão). As amostras contendo extratos de casca de Jatobá US e AM destacam-se pela homogeneidade da dispersão de tamanho, reprodutibilidade da síntese e características de absorção (~530 nm). Os extratos da folha de Jatobá US e AM apresentam partículas com diâmetro de 15 e 20 nm, respectivamente.

**Tabela 2:** Comparação entre caracterizações ópticas e estruturais das NPs de ouro com seus respectivos extratos:

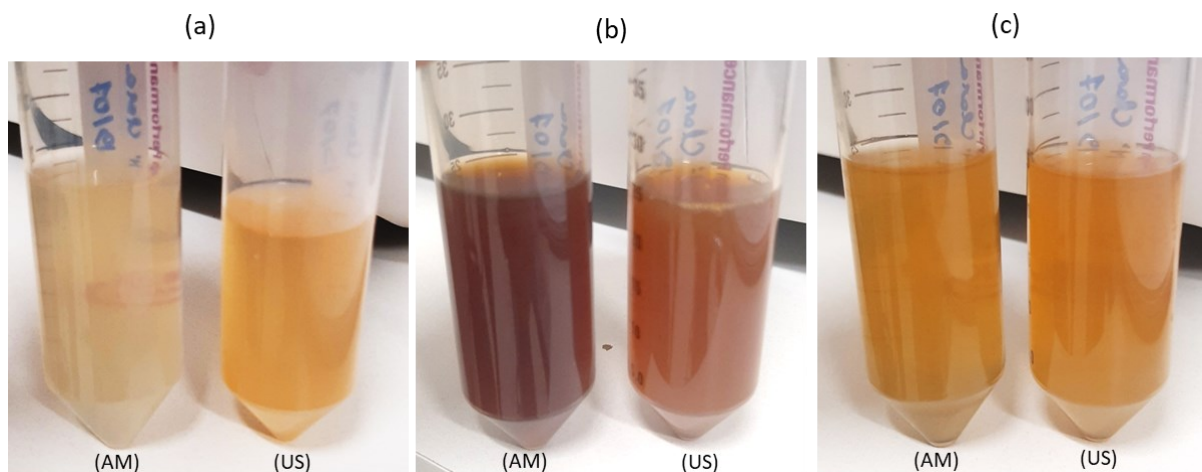
Extratos vegetais	Pico de absorção	Absorbância máxima (ua)	Tamanho MET (nm)
Jatobá Casca US	530	0,51	2-10
Jatobá Casca AM	533	0,69	10
Jatobá Semente US	534	0,52	5-40
Jatobá Semente AM	503	0,67	2-10
Jatobá Folha US	539	0,88	14,3

Jatobá Folha AM	545	0,59	19,6
-----------------	-----	------	------

### 3.2.2 Nanopartículas de prata

Os extratos de Jatobá (casca, semente e folha) utilizados nos experimentos mostraram-se inicialmente promissores para a formação das nanopartículas de prata. Após adição dos extratos, observou-se a mudança da coloração de incolor para castanho (Figura 17). Algumas amostras apresentam cores mais intensas. Acreditamos que a intensidade das colorações esteja relacionada com a concentração de AgNPs formadas. Observou-se que as amostras contendo os extratos de casca e folha de Jatobá apresentaram uma turbidez após a síntese. As dispersões contendo extrato de semente apresentaram cores mais intensas.

**Figura 17:** Suspensões coloidais de NPs de prata com extratos vegetais de Jatobá (*H. courbaril*) (a) casca, (b) semente e (c) folha, US e AM.

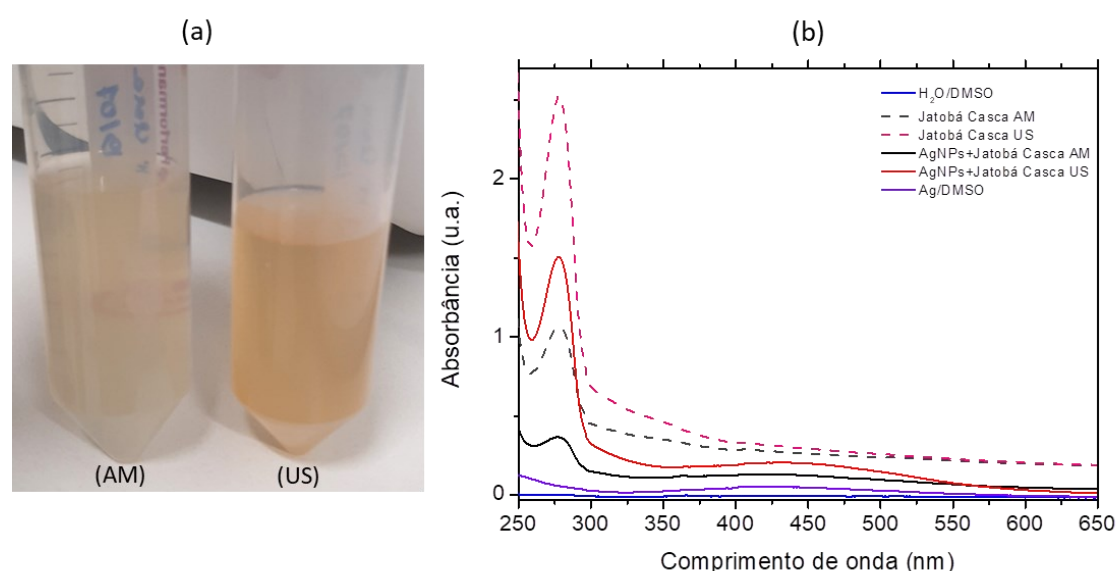


Espectros de absorção no UV-Vis. foram realizados em amostras contendo H<sub>2</sub>O/DMSO; Ag(NO<sub>3</sub>)/DMSO; extratos isolados e extratos com Ag(NO<sub>3</sub>)/DMSO (Figuras 18, 19 e 20). Observa-se que em todas as suspensões há picos intensos de absorção entre os comprimentos de onda de 250 a 300 nm. Acredita-se que essa absorção esteja relacionada aos compostos presentes nos extratos vegetais. Estudos relatam que compostos como flavonóides, polifenóis, alcalóides, presentes no extrato apresentam intensa absorção na região UV do espectro eletromagnético (HARBORNE, 1984; SILVA, 2012).

A Figura 18 mostra as caracterizações das suspensões com extrato de casca de Jatobá (*H. courbaril*) US e AM (linhas pontilhadas). Através do espectro, é possível observar altas

intensidades de absorção em 275 nm nas amostras com extratos obtidos pelo método US quando comparados ao método de extração AM. Quando comparamos todas as sínteses, utilizando os extratos da casca, observa-se que não há uma formação considerável de AgNPs (linhas preta e vermelha). Estudos reportam que as AgNPs apresentam alta absorção na região entre 400 e 500 nm (PINHEIROS, 2015). Através dessa metodologia de síntese verificamos que os extratos podem ter potencial para a redução do precursor metálico, mas novos ensaios para melhoramento da síntese são necessários. Estudos destacam que vários parâmetros podem interferir na síntese de NPs (pH, temperatura e concentração dos precursores) (VIOLANTE, 2009). As amostras de água e DMSO (linha azul) e AgNO<sub>3</sub> e DMSO (linha violeta) não apresentam absorção.

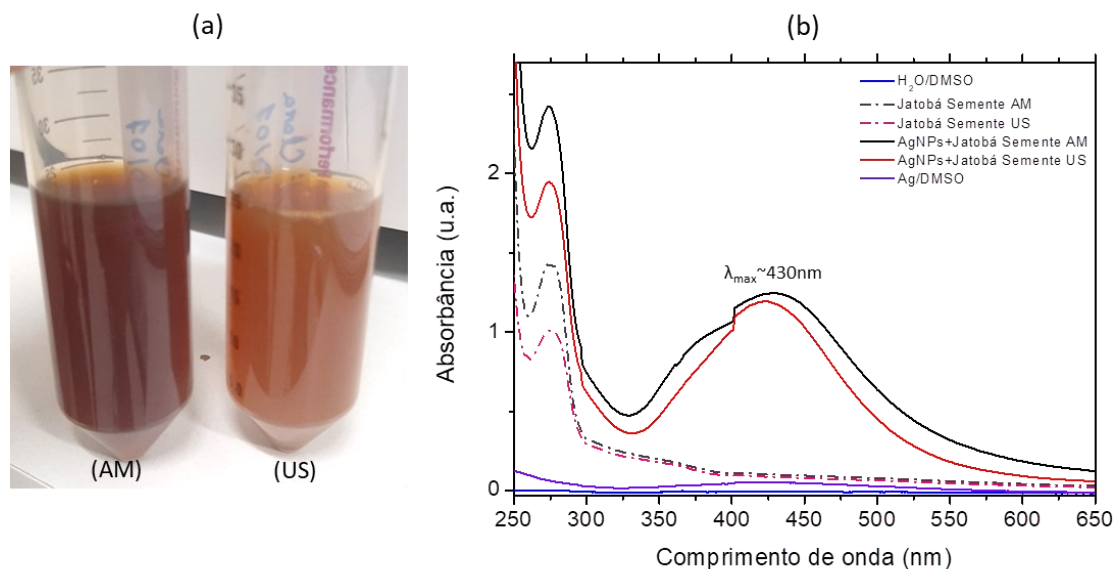
**Figura 18:** NPs de prata com extrato de casca de Jatobá (*H. courbaril*) US e AM. (a) Suspensões coloidais e (b) Espectros de absorção UV-Vis.



A Figura 19 mostra as caracterizações das suspensões coloidais com extrato de semente de Jatobá (*H. courbaril*) US e AM (Figura 19a). Através dos espectros também é possível observar altas intensidades de absorção em 275 nm nas amostras contendo os extratos (Figura 19b). Observa-se que com esses extratos foi possível verificar a formação de AgNPs devido a presença de absorções na faixa de 350 a 550 nm. As amostras de AgNPs apresentam uma absorção máxima no comprimento de onda de 430 nm (linhas preta e vermelha). Verificou-se que ambos os extratos, obtidos pelos métodos US e AM, foram eficientes para a redução do precursor metálico (AgNO<sub>3</sub>). As amostras de água e DMSO (linha azul) e AgNO<sub>3</sub> e DMSO (linha violeta) não apresentam absorção.

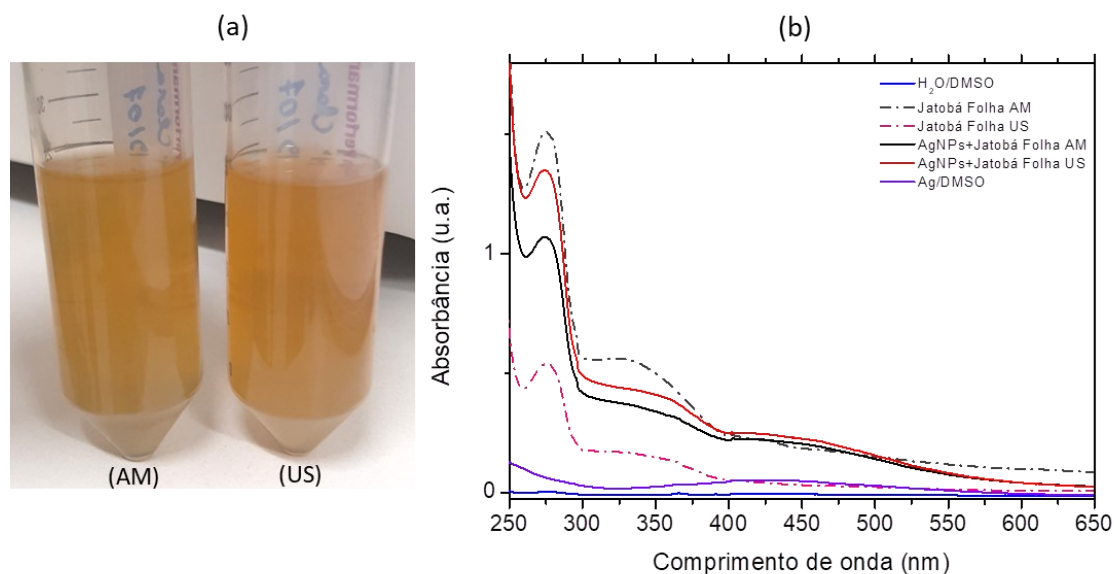


**Figura 19:** NPs de prata com extrato de semente de Jatobá (*H. courbaril*) US e AM. (a) Suspensões coloidais e (b) Espectros de absorção UV-Vis.



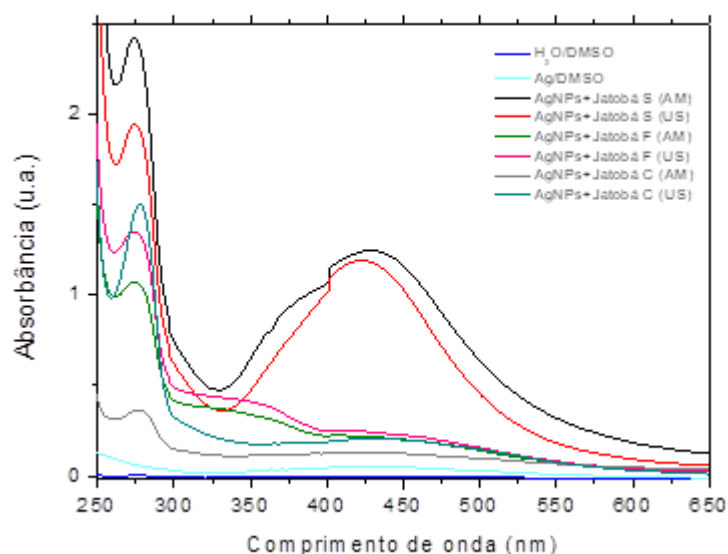
A Figura 20 mostra as caracterizações das suspensões coloidais com extrato da folha de Jatobá (*H. courbaril*), US e AM. Na Figura 20 observa-se a coloração castanha das amostras obtidas. A Figura 20b mostra o espectro de absorção das dispersões obtidas. Nessas caracterizações verifica-se uma ampla absorção das amostras contendo o extrato da folha, entre 250 e 600 nm. Analisando os espectros dos extratos observa-se que essa larga absorção se relaciona aos seus componentes. As folhas se caracterizam pela presença da clorofila. Acredita-se que a presença dessa molécula explique o amplo espectro de absorção (LIDE, et al., 2009). Os resultados obtidos mostram que formações de AgNPs com esse extrato são promissoras. Acredita-se que a absorção observada na faixa de 400 a 550 nm esteja relacionada à formação de NPs. A presença de clorofila nos extratos pode influenciar a cinética de formação das NPs. Novos experimentos utilizando a folha dos extratos de Jatobá precisam ser realizados a fim de se obter mais informações.

**Figura 20:** NPs de prata com extrato de folha de Jatobá (*H. courbaril*) US e AM. (a) Suspensões coloidais e (b) Espectros de absorção UV-Vis.



A Figura 21 mostra os espectros de todas as tentativas de sínteses de AgNPs. Através desse gráfico observa-se a diferença dos espectros utilizando os extratos de semente de Jatobá (linhas preta e vermelha). Tais espectros mostram o sucesso na obtenção de AgNPs utilizando tal extrato. Acredita-se que a formação das NPs esteja relacionada também à boa dispersão dos extratos. Verificamos que os extratos de semente solubilizam melhor em H<sub>2</sub>O/DMSO quando comparados aos extratos de casca e folha. Nestes resultados foi possível observar que a metodologia de extração dos extratos (US e AM) não influencia na formação das NPs.

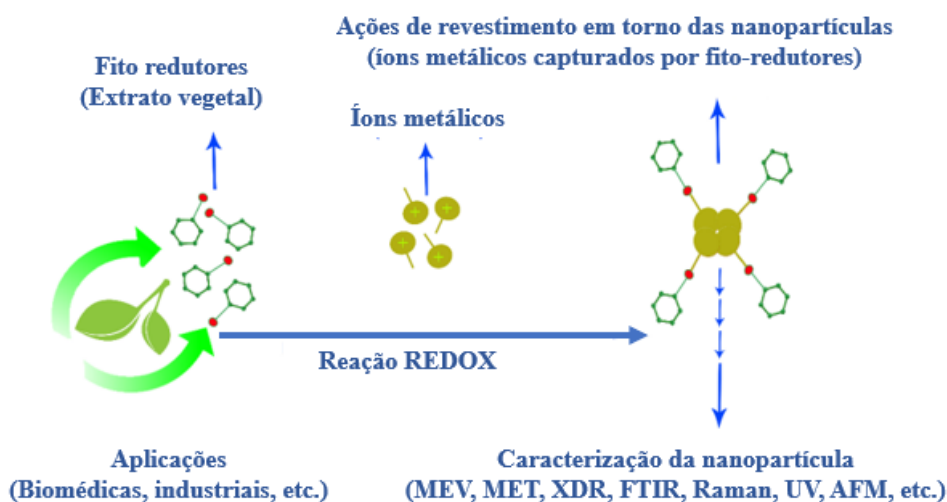
**Figura 21:** Espectros de absorção no UV-Visível de NPs de prata com extratos vegetais de Jatobá (*H. courbaril*): semente, folha e casca (US e AM).



Analisando os resultados desse trabalho verificou-se que a síntese de NPs por plantas se dá pelo processo de bioacumulação, uma vez que este confere às plantas a capacidade de desintoxicar íons metálicos. Quando as plantas absorvem íons metálicos em uma taxa mais rápida do que conseguem realizar sua remoção, por catabolismo, o excesso de íons metálicos se acumula nos tecidos vegetais, levando a produção excessiva de espécies reativas de oxigênio (ROS) podendo danificar macromoléculas celulares. Para neutralizar a toxicidade do metal, as plantas são equipadas com mecanismos de quelação a partir de proteínas, formando complexos com metais e, eventualmente, removendo os íons metálicos. A indução do metabolismo secundário da planta em resposta ao estresse metálico, leva a uma biossíntese aumentada de compostos fenólicos pelas plantas que servem como antioxidantes para eliminar ROS. Contudo, esses compostos fenólicos são tóxicos para a célula devido à sua alta reatividade química e propriedades desnaturantes de proteínas, assim, as plantas transferem esses para compartimentos com menor atividade biossintética, como o espaço extracelular e o vacúolo, assim o acúmulo de íons metálicos e compostos fenólicos antioxidantes no mesmo compartimento celular pode facilitar a formação de NPs (MARSLIN *et al.*, 2018).

Analisando o processo utilizado pelas plantas, acreditamos que os compostos presentes nos extratos vegetais (fitoredutores) são eficientes para reduzir os íons metálicos e também estabilizar as NPs em suspensão (Figura 22).

**Figura 22:** Esquema do mecanismo de biossíntese (síntese verde) *in vitro* de nanopartículas metálicas.



Fonte: Adaptado de MARSLIN *et al.*, 2018.

Acreditamos, a partir das análises dos resultados, que o processo de formação das NPs obtidas no presente trabalho sigam o modelo proposto por MARSLIN e colaboradores (2018), conforme esquema apresentado na Figura 22. Observamos que a formação das NPs está relacionada a interação de espécies reativas de oxigênio (ROS). Juntamente aos íons metálicos, grupamentos amina de proteínas, grupos hidroxila e carboxila de polifenóis e aminoácidos, grupos hidroxila de polissacarídeos e grupos carboxila de ácidos orgânicos podem estar contribuindo para a formação de NPs. (MARSLIN *et al.*, 2018).

Compostos antioxidantes são muito estudados devido a sua importância medicinal, uma vez que muitas patologias são associadas ao estresse oxidativo. Espécies vegetais são uma das principais fontes destas moléculas (KRISHNAIAH *et al.*, 2011).

Na maioria dos tecidos vegetais, os compostos antioxidantes são predominantemente fenóis agrupados em ácidos fenólicos, terpenos, flavonóides e óleos voláteis (BREWER, 2011). No contexto da nanotecnologia, a atividade antioxidante destes compostos pode ser compreendida como uma capacidade de redução especialmente quando são utilizados metais na síntese de nanomateriais (ETTADILI *et al.*, 2022). É importante destacar que o papel de todos esses constituintes ainda não foram completamente descritos na literatura.

## 4 CONCLUSÃO

O método de síntese de nanopartículas de metálicas propostos neste trabalho apresenta uma série de características desejáveis: são metodologias econômicas, ecologicamente amigáveis, seguras e biocompatíveis. A redução da citotoxicidade metálica, propicia aplicações biotecnológicas e biomédicas, minimizando os possíveis impactos provenientes do uso de reagentes tóxicos na obtenção de materiais nanoestruturados. Utilizar os princípios da biossíntese em conjunto com a nanotecnologia oportuniza a capacidade de elucidar os mecanismos sintéticos para criação de novos materiais, sem o uso de fortes agentes redutores, e contribuem para a redução de subprodutos tóxicos provenientes da reação. Outro fator importante é que os próprios constituintes dos extratos vegetais poderão atuar como agentes de proteção e estabilização das NPs. Portanto, aliada à química verde a nanotecnologia apresenta grande importância no desenvolvimento de tecnologias sustentáveis para a produção de nanopartículas metálicas, a partir do uso de extratos vegetais ricos em compostos e substâncias bioativas.

Neste trabalho verificamos que todos os extratos (casca, folha e semente) testados foram promissores para a formação de NPs de ouro, contudo a síntese com extratos de Jatobá semente precisa ser adaptada para diminuir a polidispersão das partículas.

O mecanismo exato da síntese de NPs por extratos de plantas ainda não foi completamente elucidado, mas sugere-se que proteínas, aminoácidos, ácidos orgânicos e/ou metabólitos secundários como flavonóides, polifenóis, polissacarídeos, dentre outros, sejam os responsáveis pela redução dos sais metálicos e estabilização das NPs. A redução de íons metálicos por conjuntos de moléculas encontradas nos extratos é quimicamente viável, resultando em um enorme volume de pesquisas bem-sucedidas utilizando estes compostos. Estudos relacionados à composição de tais extratos e atividade antioxidante dos mesmos são de extrema importância para elucidar o processo de redução dos sais metálicos. Tais estudos encontram-se em andamento. Ensaio fitoquímico dos extratos de Jatobá complementarão esses resultados.

Estudos também destacam que a utilização de extratos vegetais no processo para obtenção de NPs metálicas agregam às nanoestruturas, atividades antimicrobianas potencializando diversas aplicações.

A variedade de biomoléculas presentes nas plantas está associada ao potencial farmacológico encontrado nos extratos dessas, sendo uma estratégia promissora para

biossíntese de NPs metálicas com o uso de extratos vegetais. A utilização de extratos na síntese de nanoestruturas contribuirão para os avanços na nanobiotecnologia.

O estudo da biossíntese de nanopartículas é de vasta importância. Além das vantagens do uso de extratos naturais, as NPs apresentam propriedades únicas (tamanho, propriedades ópticas, alta área superficial) que podem ser aplicadas em diversas áreas como na saúde, em indústrias e até mesmo na biorremediação do meio ambiente. Além disso, a biossíntese apresenta um maior benefício para o meio ambiente já que essa é uma tecnologia ecologicamente correta e sustentável.

## REFERÊNCIAS

“Jatobá, patrimônio brasileiro”. *Secretaria de Infraestrutura e Meio Ambiente do Estado de São Paulo*, <https://www.infraestruturameioambiente.sp.gov.br/2016/02/jatoba-patrimonio-brasileiro/>. Acessado 19 de julho de 2022.

AGNIHOTRI, S.; MUKHERJI, S.; MUKHERJI, S. Size-controlled silver nanoparticles synthesized over the range 5-100 nm using the same protocol and their antibacterial efficacy. **Royal Society of Chemistry**, v. 4, p. 3974 -3983, 2014.

AHMAD, B. *et al.*. “Green Synthesis, Characterisation and Biological Evaluation of AgNPs Using Agave Americana, Mentha Spicata and Mangifera Indica Aqueous Leaves Extract”. **IET Nanobiotechnology**, vol. 10, no 5, outubro de 2016, p. 281–87.

ALBRECHT, M. A. *et al.*. Green chemistry and the health implications of nanoparticles. **Green Chemistry**, v. 8, n. 5, p. 417–432, 2006.

ANSARI, M. A. *et al.*. “One-Pot Facile Green Synthesis of Silver Nanoparticles Using Seed Extract of Phoenix Dactylifera and Their Bactericidal Potential against MRSA”. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, vol. 2018, junho de 2018, p. 1–9.

APOLINÁRIO, A. C. *et al.*, “ABRINDO A CAIXA DE PANDORA DOS NANOMEDICAMENTOS: HÁ REALMENTE MUITO MAIS ‘ESPAÇO LÁ EMBAIXO’”. **Química Nova**, vol. 43, maio de 2020, p. 212–25.

ARUMUGAM, N. *et al.*. Biogenesis of silver nanoparticles using selected plant leaf extract; characterization and comparative analysis of their antimicrobial activity. **Nanomed. Res J.** 4(4): 208-217, 2017.

AYGUN, A., *et al.*. “Biological Synthesis of Silver Nanoparticles Using Rheum Ribes and Evaluation of Their Anticarcinogenic and Antimicrobial Potential: A Novel Approach in Phytonanotechnology”. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, vol. 179, fevereiro de 2020, p. 113012.

BAGHAIENEZHAD, M. *et al.*. Silver nanoparticles Synthesis by coffee residues extract and their antibacterial activity. **Nanomed Res J.** 5(1): 29-34, Winter 2020.

BAGHERZADE, G. *et al.*. Green synthesis of silver nanoparticles using aqueous extract of saffron (*Crocus sativus* L.) wastages and its antibacterial activity against six bacteria. **Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine.** 7(3):227-33, 2017.

BAGHIZADEH, A. *et al.*. Green synthesis of silver nanoparticles using seed extract of *Calendula officinalis* in liquid phase. *Journal of Molecular Liquids*, v. 207, p. 159 – 163, 2015.

BARAN, M. F.; *et al.*. “Determination of Antimicrobial and Toxic Metal Removal Activities of Plant-Based Synthesized (*Capsicum Annuum* L. Leaves), Ecofriendly, Gold Nanomaterials”. **Global Challenges**, vol. 4, no 5, maio de 2020, p. 1900104.

BREWER, M. S. Natural Antioxidants: Sources, Compounds, Mechanisms of Action, and Potential Applications. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, vol. 10, no. 4, p. 221–247, 2011.

CARABINEIRO, S. A. C. Applications of gold nanoparticles in nanomedicine: Recent advances in vaccines. **Molecules**, v. 22, n. 5, 2017.

CAUERFF, A. *et al.*. Bionanoparticles, a green nanochemistry approach. **Electronic Journal of Biotechnology**, v.16, p. 1-10, 2013.

CHOUHAN, N. Silver nanoparticles: synthesis, characterization and applications. In: MAAZ, K. *Silver nanoparticles: Fabrication, Characterization and Applications*. 1 ed. Londres: Intechopen, 2018, p. 21-55.

COSTA, M. A. *et al.*, Safety evaluation of proanthocyanidin polymer-rich fraction obtained from stem bark of *Stryphnodendron adstringens*(BARBATIMÃO) for use as a pharmacological agent. **Regulatory Toxicology and Pharmacology**, mar./jul. 2010.

CRUZ, J. E. R. da., **Análise fitoquímica e avaliação da atividade antimicrobiana de plantas medicinais de ocorrência no Cerrado**. 2019. 61 f. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) - Universidade Federal de Uberlândia, Patos de Minas, 2019.

CRUZ, N. D. Biossíntese e caracterização de nanopartículas de óxido de cobre (CuO) e óxido de zinco (ZnO) mediada por extratos foliares de *Eucalyptus sp.* fevereiro de 2019.

DANTAS, L. A. Síntese verde de nanopartículas contendo prata e uma fração da Alga *Spatoglossum schröderi* composta por ácido algínico e fucana A: caracterização físico-química e avaliação da atividade antiproliferativa frente às células de melanoma (B16F10). abril de 2017.



DHILLON, G. S. *et al.*, Green approach for nanoparticle biosynthesis by fungi: current trends and applications. **Informa healthcare**. V. 32, p. 49–73, 2012.

ELAHI, N. *et al.*, Recent biomedical applications of gold nanoparticles: A review. *Talanta*, v. 184, n. November 2017, p. 537–556, 2018.

EL-NOUR, K. M. M. *et al.*, Synthesis and applications of silver nanoparticles. **Arabian Journal of Chemistry**, v. 3, p. 135-140, 2010.

ETTADILI, F. E. *et al.*, Recent advances in the nanoparticles synthesis using plant extract: Applications and future recommendations. **Journal of Molecular Structure**, vol. 1248, p. 131538, 2022.

EUSTIS, S. *et al.*, Why gold nanoparticles are more precious than pretty gold: Noble metal surface plasmon resonance and its enhancement of the radiative and nonradiative properties of nanocrystals of different shapes. **Chemical Society Reviews**, v. 35, n. 3, p. 209–217, 2006.

FERREIRA, D. M; **BIOSSÍNTESE OTIMIZADA DE NANOPARTÍCULAS DE OURO COM EXTRATO DE Virola oleifera**. Universidade Federal do Espírito Santo, 2016.

FERREIRA, S. B. *et al.*, Avaliação da Atividade Antimicrobiana in vitro do extrato hidroalccólico de *Stryphnodendrom adstringens* (Mart.) Coville sobre isolados ambulatoriais de *Staphylococcus aureus*. **RBAC**, v.42, n.1, p.27-31, jun./sep, 2009.

FONSECA, P. da. *et al.*, Avaliação das características físico-químicas e fitoquímicas de diferentes tinturas de barbatimão (*Stryphnodendron barbatiman*). **Rev. Bras. Cienc. Farm.São Paulo**,v. 44,n. 2,Jun,2008.

FREITAS, I. **Síntese Verde para obtenção de Nanopartículas de Prata a partir de Extratos Naturais** – Rio de Janeiro: UFRJ/ Escola Politécnica, 2019.

GANESAN, R. M. *et al.*, Synthesis of gold nanoparticles using herbal *Acoruscalamus* rhizome extract and coating on cotton fabric for antibacterial and U blockin applications. **Arabian Journal of Chemistry**, 2015.

GUIMARÃES, B. D. S. *et al.*, “Síntese de nanoprta via química verde e caracterização por potencial zeta”. **Journal of Biology & Pharmacy and Agricultural Management**, vol. 10, no dia 1, setembro de 2014.

GUPTA, D., **Biochemical analysis of 'kerosene tree' *Hymenaea courbaril* L. under heat stress.** Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25482765>>. Acesso em: 15 set. 2019.

HARBORNE, J.B. A guide to modern techniques of plant analysis. **Phytochemical methods.** Londres. Chapman and Hall. 288p. 1984.

HERIZCHI, R., *et al.*. Current Methods for Synthesis of Gold Nanoparticles. **Artificial Cells, Nanomedicine, and Biotechnology**, vol. 44, no 2, p. 596–602, 2016.

HUANG, Xiaohua; EL-SAYED, Mostafa A. Gold nanoparticles: Optical properties and implementations in cancer diagnosis and photothermal therapy. **Journal of Advanced Research**, vol. 1, no. 1, p. 13–28, 2010.

IRAVANI, S. Green synthesis of metal nanoparticles using plants. **Green Chemistry**. V. 13, 2011.

IVASK, A., *et al.* “Size-Dependent Toxicity of Silver Nanoparticles to Bacteria, Yeast, Algae, Crustaceans and Mammalian Cells In Vitro”. *PLoS ONE*, organizado por Antonietta Quigg, vol. 9, nº 7, julho de 2014, p. e102108.

JACOB J., *et al.*. A simple approach for facile synthesis of Ag, anisotropic Au and bimetallic (Ag/Au) nanoparticles using cruciferous vegetable extracts. **Materials Science and Engineering C**. 2012.

JADHAV, K. *et al.*. “Green and Ecofriendly Synthesis of Silver Nanoparticles: Characterization, Biocompatibility Studies and Gel Formulation for Treatment of Infections in Burns”. **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology**, vol. 155, fevereiro de 2016, p. 109–15.

JASIM, N. O. *et al.*. Synthesis of Silver Nano Particles and its Antifungal Activity. **Journal of Pharmaceutical Sciences and Research**. Vol. 11, 2019.

JEEVANANDAM, J. *et al.* Review on nanoparticles and nanostructured materials: history, sources, toxicity and regulations. **Beilstein Journal of Nanotechnology**, v. 9, p.1050- 1074, 2018.

KABIR, E. *et al.*. Environmental impacts of nanomaterials. **Journal of Environmental Management**, v. 225, p. 261–271, 2018.

KOOL, L. *et al.*, Gold and silver dichroic nanocomposite in the quest for 3D printing the *Lycurgus cup*. **Beilstein Journal of Nanotechnology**, v. 11, p. 16–23, 2020.

KRISHNAIAH, Duduku; SARBATLY, Rosalam; NITHYANANDAM, Rajesh. A review of the antioxidant potential of medicinal plant species. *Food and Bioproducts Processing*, vol. 89, no. 3, p. 217–233, 2011.

KUMAR, H. *et al.* Metallic Nanoparticle: A Review. **Biomedical Journal of Scientific & Technical Research**, v. 4, n. 1, p. 1–11, 2018.

LARA, E. B. *et al.*. “Síntese verde e caracterização de nanopartículas de prata utilizando extratos de plantas”. Instituto Federal Catarinense – Campus Araquari, 2017.

LIANG, M. *et al.*. Optimization for extracellular biosynthesis of silver nanoparticles by *Penicillium aculeatum* Su1 and their antimicrobial activity and cytotoxic effect compared with silver ions. **Materials Science & Engineering C**, v. 77, p. 963–971, 2017.

LIDE D. R. CRC Handbook of Chemistry and Physics (90th ed.). Boca Raton, Florida: CRC Press. ISBN 978-1-4200-9084-0, 2009.

LINK, S. *et al.*, Optical Properties and Ultrafast Dynamics of Metallic Nanocrystals. **Annual Review of Physical Chemistry**, vol. 54, no. 1, p. 331–366, 2003.

LINK, S. *et al.*, Size and temperature dependence of the plasmon absorption of colloidal gold nanoparticles. **The Journal of Physical Chemistry B**. v. 103, n. 21, p. 4212, 1999.

LOPES, C. R. B. **Síntese verde de nanopartículas de prata e ouro e sua aplicação na determinação de mercúrio**. julho de 2018.

LU, X. *et al.*, Chemical Synthesis of Novel Plasmonic Nanoparticles. **Annual Review of Physical Chemistry**, vol. 60, no. 1, p. 167–192, 2009.

LUCENA, M. N. *et al.*. Avaliação da estabilidade da pomada à base de *Stryphnodendron adstringens*(Mart.) Conville e a sua eficácia na neutralização dos efeitos locais induzidos pela peçonha de *Bothrops pauloensis*. **Revista Horizonte Científico**, v. 3, n. 1, p. 1-29, 2009.

MAKAROV, V. *et al.* “Green” Nanotechnologies: Synthesis of Metal Nanoparticles Using Plants. **Acta naturae**, v. 6, n. 20, p. 35–44, 2014.

MARCIANO, F. R. **Estudo de Crescimentos de Filmes de DLC com nanopartículas de Prata para Aplicações Espaciais e Biomédicas**. 113p. (Dissertação de Mestrado do Curso de Pós-Graduação em Engenharia e Tecnologia Espaciais/Ciência e Tecnologia de Materiais e Sensores) - Instituto Nacional de Pesquisas Espaciais, Ministério da Ciência e Tecnologia, São José dos Campos, 2008.

NASCIMENTO, A. M. **Avaliação da atividade antifúngica de extrato de jatobá (*Hymenaea courbaril*) sobre *Aspergillus fumigatus***. Universidade Federal de Uberlândia, 2020.

OLIVEIRA, G. Z. D. S. D. Síntese verde de nanopartículas de prata utilizando extrato aquoso e metabólito secundário (quercetina) das folhas de *Pterodon emarginatus* (sucupira branca) direcionadas para aplicações biomédicas e agrícolas. Julho de 2018.

PAOSEN, S., *et al.*. “Eucalyptus Citriodora Leaf Extract-mediated Biosynthesis of Silver Nanoparticles: Broad Antimicrobial Spectrum and Mechanisms of Action against Hospital-acquired Pathogens”. **APMIS**, vol. 127, no 12, dezembro de 2019, p. 764–78.

PAREEK, V., *et al.*. “Synthesis and Applications of Noble Metal Nanoparticles: A Review”. **Advanced Science, Engineering and Medicine**, vol. 9, nº 7, julho de 2017, p. 527–44.

PARVEEN, R. Síntese de nanopartículas de ouro com forma e tamanho controlados utilizando glicerol como um agente de redução e estabilização ecológico e de baixo custo. Universidade de São Paulo, 30 de agosto de 2017.

PEREIRA, M. K. **Ressonância de Plasmon de Superfície Localizado e Espalhamento Raman em Soluções Coloidais de Ouro**. 2009. 108 f. Tese (Mestrado em Física), Programa de Pós-Graduação em Física, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2009.

PINHEIRO, J. M. S. *et al.*, Síntese de NPs-Ag em fluxo contínuo como fonte de substratos para análise SERS. 2015.

PRABHU N. *et al.*, Synthesis of silver phyto nanoparticles and their antibacterial efficacy. **Digest Journal of Nanomaterials & Biostructures**. Vol. 5 Issue 1, p185-189, 2010.

PRABHU, S. *et al.*, Silver nanoparticles : mechanism of antimicrobial action , synthesis , medical applications , and toxicity effects. **International Nano Letters**, v. 2, n. 32, p. 1–10, 2012.

RAOTA, C. S. **Síntese verde de nanopartículas de prata a partir do extrato do bagaço de Vitis labrusca (cultivar Ives), caracterização e aplicação na desinfecção de efluentes industriais.** março de 2019.

REBECCA, M. A. *et al.*. Effect of Stryphnodendron adstringens (barbatimão) on energy metabolism in the rat liver. **Toxicology Letters**, v.143, p. 55-63, sep./dez. 2002.

REBECCA, M. A. *et al.*. Toxicological studies on Stryphnodendron adstringens. **Journal of Ethnopharmacology**, v.83, p.101-104, feb./aug. 2002.

ROCHA, L. S., *et al.*. Data on Elemental Composition of the Medicinal Plant Hymenaea Martiana Hayne (Jatobá). **Data in Brief**, vol. 19, agosto de 2018, p. 959–64.

ROCHA, R. R. **“Química verde: síntese de nanopartículas de prata utilizando extratos vegetais”**. Universidade Federal de Santa Catarina, 2010.

SAHOO, S. K. *et al.*. The present and future of nanotechnology in human health care. **Nanomedicine: Nanotechnology, Biology, and Medicine**, v. 3, n. 1, p. 20–31, 2007.

SANCHES, A. C. C. *et al.*. Estudo Morfológico Comparativo das Cascas e Folhas de Stryphnodendron adstringens, S. polyphyllum e S. obovatum -Leguminosae. **Latin American Journal of Pharmacy**, v.26, n.3, p.362-368, sep./feb. 2007.

SANTOS, Jacqueline; SANTOS, Marcos; THESING, Anderson; TAVARES, Fabiele; GRIEP, Jordana; RODRIGUES, Marcos. Ressonância de plasmon de superfície localizado e aplicação em biossensores e células solares. **Química Nova**, vol. 39, no. 9, p. 1098–1111, 2016.

SILVA, R. A. H. Estudo da ação do extrato bruto de Morus nigra L. (Moreaceae) e frações fenólicas sobre a atividade antimicrobiana e geração de espécies reativas do oxigênio e nitrogênio: in vitro com ensaios químicos, enzimáticos e celular. 2012. xxvii, 178 p. Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Farmacêuticas, 2012.

Silver Nanoparticles Market Size | **Global Industry Report**, 2022.  
<https://www.grandviewresearch.com/industry-analysis/silver-nanoparticles-market>.

SIMÕES C. *et al.*. Farmacognosia da planta ao medicamento. **Florianópolis: UFRGS Editora**; 1999.

SINGH, D. *et al.*. “One-pot Green Synthesis and Structural Characterisation of Silver Nanoparticles Using Aqueous Leaves Extract of *Carissa Carandas* : Antioxidant, Anticancer and Antibacterial Activities”. **IET Nanobiotechnology**, vol. 12, no 6, setembro de 2018, p. 748–56.

SOARES, S. P. *et al.*. Atividade antibacteriana do extrato hidroalcoólico bruto de *Stryphnodendron adstringens* sobre microorganismos da cárie dental. **Rev. Odonto Ciência**, Franca, v.23, p.141 -p.144, jan./mar. 2008.

SOUZA, N. C. de. *et al.*. Absence of Genotoxicity of a Phytotherapeutic Extract From *Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville in Somatic and Germ Cells of *Drosophila melanogaster*. **Wiley-Liss**, p.293-299, aug./jan. 2003.

SRIKAR, S. K., *et al.*. “Green Synthesis of Silver Nanoparticles: A Review”. **Green and Sustainable Chemistry**, vol. 06, no 01, p. 34–56, 2016.

TRIPATHY, A. *et al.*. Process Variables in Biomimetic Synthesis of Silver Nanoparticles by Aqueous Extract of *Azadirachta Indica* (Neem) Leaves. **Journal of Nanoparticle Research**, v.12, n.1, p.237-246, 2010.

VEGGI, P. C. *et al.*. Obtaining Phenolic Compounds from Jatoba (*Hymenaea Courbaril* L.) Bark by Supercritical Fluid Extraction. **The Journal of Supercritical Fluids**, vol. 89, maio de 2014, p. 68–77.

VIOLANTE, I. M. P. *et al.*, “Avaliação in vitro da atividade fotoprotetora de extratos vegetais do cerrado de Mato Grosso”. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, vol. 19, junho de 2009, p. 452–57.

ZIA, M. *et al.*. “Green Synthesis of Silver Nanoparticles from Grape and Tomato Juices and Evaluation of Biological Activities”. **IET Nanobiotechnology**, vol. 11, no 2, março de 2017, p. 193–99.

## ANEXO 1:

Tabela 1: Metodologias de síntese de NPs metálicas utilizando extratos vegetais.

Tipo de NPs/ Precursor metálico	Extrato vegetal	Metodologia de síntese	Caracterização	Referências
Prata/ AgNO <sub>3</sub> (0,01M)	Extrato da folha do gergelim	Química verde e/ou biossíntese Oxi-redução Agitação: 120rpm Tempo 4h	Potencial zeta	GUIMARAÊS, B. S. et al., 2014.
Prata AgNO <sub>3</sub>	Extrato de planta ( <i>Piper Arboreum</i> ) Casca banana Casca maracujá	Oxi-redução	Espectroscopia UV-Visível (UV-Vis)	LARA, E. B. et al. 2017
Prata AgNO <sub>3</sub>	Semente de Uva Isabel ( <i>Vitis labrusca L.</i> ) e Pitaya ( <i>Hylocereus polyrhizus</i> )	Oxi-redução Temperaturas: 45°C, 55°C e 65°C. Tempo: 6 horas	Espectroscopia UV-Vis, Microscopia Eletrônica de Transmissão (MET), Espectroscopia por perda de energia de elétrons (ELS) e Potencial Zeta	ROCHA, R. R. 2010
Prata AgNO <sub>3</sub>	Extrato natural de própolis e de seiva de <i>Croton Lechleri</i>	Oxi-redução Agitação: 100 rpm Temperatura: 60°C Tempo: 96 h	Espectroscopia UV-Visível,, MET, ELS	FREITAS, ISABEL. 2019.
Óxido de cobre (CuO) Cu(CO <sub>2</sub> CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>  Óxido de zinco (ZnO) C <sub>4</sub> H <sub>6</sub> O <sub>4</sub> Zn.2H <sub>2</sub> O	<i>E. dunnis</i> <i>E. grandis</i>	Oxi-redução Agitação Temperaturas: 20°C Tempo: 24h	Espectroscopia UV-Vis, Difração de raio-X (DRX), MET, Espectroscopia de infravermelho por transformada de Fourier (FTIR)	CRUZ, N. D. 2019.
Ouro HAuCl <sub>4</sub>	Extrato aquoso da resina de <i>Virola oleifera</i>	Oxi-redução	Espectroscopia UV-Vis, DRX, FTIR, Espectroscopia Raman, Potencial Zeta, MET e Espalhamento de Luz Dinâmico (DLS).	FERREIRA, D. M. 2016.
Prata Ag(gNO <sub>3</sub>	Alga <i>Spatoglossum schröderi</i>	Oxi-redução	Espectroscopia UV-Vis, MEV, EDS, microscopia de força atômica (MFA), DLS, eletroforese; dosagem de ácidos úricos, sulfato, açúcares totais, proteínas totais, compostos fenólicos, teor de prata, FTIR.	DANTAS, L. A. 2017
Prata AgNO <sub>3</sub> (1,0mmol L <sup>-1</sup> )	Bagaço de <i>Vitis labrusca</i>	Química verde Oxi-redução pH: 8,0. Temperatura: 20°C.	MET, potencial zeta, Espectroscopia UV-Vis, MEV, EDS e espectroscopia Raman.	RAOTA, C. S. 2018;
Prata AgNO <sub>3</sub>  Ouro HAuCl <sub>4</sub>	Folhas de <i>Mimusops coriacea</i> (A. de Candolle) Miq.	Oxi-redução	Espectroscopia UV-Vis DLS, MET, Espectrofotometria de Emissão da Fluorescência, FTIR.	LOPES, C. R. B. 2018
Prata AgNO <sub>3</sub>	Folhas de <i>Pterodon emarginatus</i> (sucupira branca)	Química Verde Oxi-redução Temperatura: 75°C Banho-térmico: 150 min	Métodos físico-químicos Espectroscopia absorção UV-Vis, DLS, potencial Zeta, MET, MFA, FTIR, DRX e espectrometria de massa (MALDI-TOF)	OLIVEIRA. G. Z. S. 2018.

Prata AgNO <sub>3</sub>	Tomate ( <i>Lycopersicon esculentum Mill.</i> ) e Uva ( <i>Vitis vinifera</i> )	Oxi-redução	Espectroscopia absorção UV-Vis, FTIR, DRX, MEV	ZIA, M. et al. 2016.
Ouro HAuCl <sub>4</sub>	Folhas verdes de <i>Capsicum annum L</i>	Química verde Oxi-redução Temperatura: 20° C. Agitação simples	Espectroscopia de absorção FTIR, DRX MEV	BARAN, M. F. et al. 2020
Prata AgNO <sub>3</sub>	Extrato aquoso de folhas de <i>Agave americana</i> , <i>Mentha spicata</i> e <i>Mangifera indica</i>	Química verde Oxi-redução Banho-térmico: 75°C. Agitação: 1 hora.	Espectroscopia UV-Vis, DRX, MEV, MET, ELS, Análise termogravimétrica (TG-DTA).	AHMAD, BASHIR, et al. 2015.
Prata AgNO <sub>3</sub>	Extrato de folhas aquosas de <i>Carissa carandas</i>	Química verde Oxi-redução Temperatura: 20°C Agitação: 12.000rpm Tempo: 10 min.	Espectroscopia UV – Vis, FTIR, DRX, MEV, MET, Análise termogravimétrica, Quantificação de compostos bioativos e Ensaio citotóxicos.	SINGH, DEEPIKA. et al. 2018.
Prata AgNO <sub>3</sub>	Extrato aquoso de semente de <i>Phoenix dactylifera</i>	Método Semente. Meio aquoso.	Espectroscopia UV-Vis, MEV, MET, DLS	ANSARI, M. A. et al. 2018
Prata AgNO <sub>3</sub>	Extrato etanólico de folhas de <i>Eucalyptus citriodora</i>	Química verde Oxi-redução	Espectrometria de emissão óptica. .	PAOSEN, SUPAKIT. et al. 2019.
Prata AgNO <sub>3</sub>	Extratos etanólicos de <i>Costelas Rheum</i>	Química verde Oxi-redução Agitação: 200 rpm Tempo: 2 dias Temperatura: 75°C.	MET, Espectroscopia de fotoelétrons de raios-X (XPS), DRX, Espectrofotometria UV-Vis.	AYGÜN, AYSEUR. et al. 2019
Prata AgNO <sub>3</sub>	Extrato aquoso de <i>Ammania baccifera</i>	Química verde Oxi-redução Agitação: 17000rpm Temperatura: 4°C Tempo: 20 minutos.	Espectroscopia UV_Vis, Ressonância plasmônica de superfície (SPR), potencial zeta, DRX, MFA.	JADHAV, KIRAN. et al. 2016.