

INSTITUTO DE CIÊNCIAS EXATAS E TECNOLOGIA – ICET
UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS – UFAM
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA PARA
RECURSOS AMAZÔNICOS – PPGCTRA

SABRINA DOS SANTOS SOUZA

**POTENCIAL FORMADOR DE AGNPS DE EXTRATO AQUOSO DE CRAJIRU
(*ARRABIDAEA CHICA* (HUMB. & BONPL.) B. VERLOT), PLANTA MEDICINAL
DA REGIÃO AMAZÔNICA**

Itacoatiara – AM

2024

SABRINA DOS SANTOS SOUZA

**POTENCIAL FORMADOR DE AGNPS DE EXTRATO AQUOSO DE CRAJIRU
(*ARRABIDAEA CHICA* (HUMB. & BONPL.) B. VERLOT), PLANTA MEDICINAL
DA REGIÃO AMAZÔNICA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências e Tecnologia para Recursos Amazônicos da Universidade Federal do Amazonas como requisito para obtenção do título de mestre.

Orientador: Gustavo Frigi Perotti

Itacoatiara – AM

2024

Ficha Catalográfica

Ficha catalográfica elaborada automaticamente de acordo com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

S729p Souza, Sabrina dos Santos
Potencial formador de AgNps de extrato aquoso de cajuru
(Arrabidaea chica (HUMB. & BONPL.) B. Verlot), planta medicinal
da região amazônica / Sabrina dos Santos Souza . 2024
78 f.: il. color; 31 cm.

Orientador: Gustavo Frigi Perotti
Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia para Recursos
Amazônicos) - Universidade Federal do Amazonas.

1. Síntese verde. 2. rotas sintéticas alternativas. 3. medicina
popular. 4. ação antimicrobiana.. I. Perotti, Gustavo Frigi. II.
Universidade Federal do Amazonas III. Título



SABRINA DOS SANTOS SOUZA

Potencial formador de AgNPs de extrato aquoso de cajuru (*Arrabidaea chica* (Humb. & Bonpl.) B. Verlot), planta medicinal da região Amazônica

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia para Recursos Amazônicos da Universidade Federal do Amazonas, como parte do requisito para obtenção do título de Mestre em Ciência e Tecnologia para Recursos Amazônicos, área de concentração Desenvolvimento Científico e Tecnológico em Recursos Amazônicos.

Aprovado(a) em 22.02.24.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Gustavo Frigi Perotti

Profa. Dra. Dominique Fernandes de Moura do Carmo

Prof. Dr. Alex Martins Ramos



Documento assinado digitalmente
ALEX MARTINS RAMOS
Data: 22/02/2024 20:11:33-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>



Documento assinado digitalmente
GUSTAVO FRIGI PEROTTI
Data: 22/02/2024 12:34:34-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>



Documento assinado digitalmente
DOMINIQUE FERNANDES DE MOURA DO CARMO
Data: 22/02/2024 15:34:39-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Rua Nossa Senhora do Rosário, 3863, Tiradentes. CEP: 69103-128 – Itacoatiara/AM

Telefone: (92) 99271-8661 e-mail: secretariappgctra@ufam.edu.br

AGRADECIMENTOS

Agradeço à Deus por sua bondade e amor para comigo, sem ele esse sonho não seria possível. Agradeço ao Prof. Dr. Gustavo Frigi Perotti pela orientação, dedicação, incentivo e conselhos, foi uma honra e motivo de grande alegria poder ter sido sua orientanda.

Ao Centro Multiusuário para Análise de Fenômenos Biomédicos (CMABio) pela realização dos experimentos de Microscopia Eletrônica de Transmissão (TEM).

Agradeço à Carolyne Rodrigues Ribeiro (UFAM) e Gabriele Simas Ribeiro (UFAM), pelo suporte durante os experimentos no decorrer da elaboração deste trabalho e pela amizade, minha eterna gratidão e admiração.

Ao Mateus Feitosa Santos, obrigada pela amizade, companheirismo e por toda a ajuda, sua contribuição foi de extrema importância. Admiro muito você e acredite no seu potencial.

Às minhas amigas Dorvalina Rêgo da Silva Neta e Giselly Adalgiza de Souza Bezerra, que me incentivaram, apoiaram, acreditaram, estiveram e estarão em muitas circunstâncias da vida.

À Ana Caroline de Jesus Castro, amiga que se tornou irmã, grande incentivadora, apoiadora, acreditou e ofereceu todo o auxílio em diversas situações ao longo desses anos. Você me acolheu e fez essa jornada ser menos pesada, você tem minha total admiração, carinho, respeito e confiança.

Agradeço à professora Andrea Medeiros, por todo incentivo, apoio e por me ensinar a sonhar. Agradeço do fundo meu coração aos meus pais Karlei e Isangela Andreocci, por todo incentivo, amor e apoio. Que sempre celebraram cada conquista minha, me incentivavam nos estudos, apoiando minhas escolhas e acreditando no meu potencial mesmo quando eu não conseguia acreditar. Amo vocês.

Agradeço ao PPGCTRA e à Fundação à Pesquisa do Estado do Amazonas (FAPEAM) pela bolsa de pesquisa concedida para a realização deste trabalho.

RESUMO

A nanotecnologia é um campo interdisciplinar muito vasto e essa área de pesquisa e desenvolvimento tem o potencial de revolucionar uma ampla gama de setores. As nanopartículas metálicas são pertencentes a esse conjunto e vem sendo amplamente investigadas devido aos seu potencial microbicida.

Dentre as nanopartículas com propriedades antimicrobianas destacam-se as nanopartículas de prata (AgNPs) por apresentarem amplo espectro e baixa probabilidade de indução de resistência microbiana. Este estudo tem como objetivo investigar o potencial de formação de AgNPs utilizando extratos vegetais aquosos de cajuru, em diferentes condições de pH, temperatura e diluições do extrato. Pretende-se examinar como essas condições de síntese influenciam o tamanho e a morfologia das nanoestruturas, bem como seu impacto nos testes de halo de inibição.

A caracterização do extrato aquoso de cajuru foi realizada por meio de espectroscopia UV-Vis, permitindo a observação de como as condições de síntese podem influenciar a produção de nanopartículas. Em condições de síntese alcalinas e com concentrações diluídas de extrato aquoso de cajuru, foram observadas bandas relacionadas à formação de nanoestruturas mais intensas e de tamanhos variados. Isso sugere a produção de nanopartículas com diâmetros maiores à medida que a reação progride em meios ácidos e neutros. Por outro lado, o aumento da temperatura do meio reacional resultou em uma diminuição na quantidade de nanopartículas formadas, o que favoreceu a redução da prata em temperatura ambiente.

A análise por microscopia eletrônica de transmissão (TEM) confirmou a relação entre temperatura, concentração e pH com as características das AgNPs produzidas. As nanopartículas de menor diâmetro demonstraram maior eficácia contra bactérias gram-positivas e gram-negativas, alinhando-se com descobertas prévias na literatura. Esses resultados ressaltam o potencial das AgNPs derivadas do cajuru como agentes antimicrobianos e destacam a importância de otimizar as condições de síntese para maximizar suas propriedades desejadas. Assim, este estudo contribui significativamente para o avanço do conhecimento em nanotecnologia e para o desenvolvimento de novos biomateriais com aplicações promissoras em diversas áreas, incluindo saúde e tecnologia.

Palavras-chave: Síntese verde, rotas sintéticas alternativas, medicina popular, ação antimicrobiana.

ABSTRACT

Nanotechnology is a vast interdisciplinary field and this area of research and development has the potential to revolutionize a wide range of sectors. Metallic nanoparticles belong to this group and have been widely investigated due to their microbicidal potential.

Among the nanoparticles with antimicrobial properties, silver nanoparticles (AgNPs) stand out for their broad spectrum and low probability of inducing microbial resistance. The aim of this study is to investigate the potential for forming AgNPs by aqueous plant extracts of cajiru under different conditions of pH, temperature and extract concentration.

The characterization of the aqueous cajiru extract was analyzed using UV-Vis spectroscopy, making it possible to see how the synthesis conditions can affect the production of nanoparticles. The synthesis conditions in alkaline media using diluted concentrations of aqueous cajiru extract showed bands related to the formation of more intense nanostructures of varying sizes, indicating the production of nanoparticles with larger diameters as the reaction progressed to acidic and neutral media. Increasing the temperature of the reaction medium caused a decrease in the quantity of nanoparticles formed, favoring the reduction of silver carried out at room temperature. Transmission electron microscopy (TEM) analysis confirmed the relationship between temperature, concentration and pH with the characteristics of the AgNPs produced. Notably, the smaller diameter nanoparticles showed greater efficacy against gram-positive and gram-negative bacteria, in line with previous findings in the literature. These results underscore the potential of cajiru-derived AgNPs as antimicrobial agents and highlight the importance of optimizing synthesis conditions to maximize their desired properties. Thus, this study contributes significantly to the advancement of knowledge in nanotechnology and to the development of new biomaterials with promising applications in various areas, including health and technology.

Keywords: Green synthesis, alternative synthetic routes, traditional medicine, antimicrobial action.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Fluxograma contendo diferentes abordagens para a produção de NPs.....	15
Figura 2 - Possível mecanismo de ação antimicrobiana das AgNPs.....	19
Figura 3 - Folhas da espécie <i>Arrabidaea chica</i> (Crajiro).....	20
Figura 4 - Estruturas químicas de antocianidinas encontradas no crajiro.....	21
Figura 5 - Estrutura química de flavonoides encontrados no crajiro.....	22
Figura 6 - a) Folhas de crajiro secas; b) Extrato em repouso; (c) Filtração do extrato; (d) Extrato concentrado.....	27
Figura 7 - Reação qualitativa para identificação de flavonoides através da reação oxalo-bórica: A) extrato aquoso de crajiro, B) extrato aquoso de crajiro através do UV.....	32
Figura 8 - Reação qualitativa para identificação de antraquinonas: A) extrato aquoso B) folhas.....	33
Figura 9 - Reação qualitativa para identificação de: A) Tanino (Gelatina); B) Tanino condensado (FeCl ₃)	34
Figura 10 - Reação qualitativa para identificação de: C) Alcaloides; D) Taninos condensados (acetato de cobre (II)).....	34
Figura 11 - Reação qualitativa para identificação de: E) Flavonoide (FeCl ₃); F) Saponinas.....	35
Figura 12 - Reação qualitativa para identificação de: G) Terpenos; H) Flavonoides com hidroxila livre.....	35
Figura 13 - Reação qualitativa para identificação de: I) Naftoquinona.....	36
Figura 14 - Reação oxalo-bórica como método para indicar a presença de flavonoides do tipo flavonóis.....	37
Figura 15 - Espectros eletrônicos UV-Vis do extrato de crajiro em função do tempo de preparo.....	38
Figura 16 - Espectros eletrônicos UV-Vis relacionados ao acompanhamento da temperatura de extração 70 °C e 90 °C.....	40
Figura 17 - Absorbância máxima em diferentes temperaturas de extração (70 °C e 90 °C) na região de 480 nm em função do tempo.....	41
Figura 18 - Espectros eletrônicos UV-Vis do meio reacional em pH 5,0 (linha preta), pH 7,0 (linha vermelha) e pH 9,0 (linha verde) utilizando o extrato concentrado de crajiro.....	42
Figura 19 - Imagens do meio de reação de produção das AgNPs em pH 9,0 nas diferentes condições de extrato de crajiro após 1 hora (Δ) de reação e 1 dia (□) de reação: a) condição 1:1; b) condição 1:2; c) condição 1:4.....	43

Figura 20 - Acompanhamento por 21 dias no espectro eletrônico UV-Vis dos meios de reação em pH 9,0 para a formação das AgNPs na condição 1:1 de diluição do extrato de cajuru.....	44
Figura 21 - Acompanhamento por 21 dias no espectro eletrônico UV-Vis dos meios de reação em pH 9,0 para a formação das AgNPs em diferentes tempos de reação, na condição 1:2 de diluição do extrato de cajuru.....	45
Figura 22 - Espectros eletrônicos UV-Vis dos meios de reação em pH 9,0 para a formação das AgNPs em diferentes tempos de reação na condição 1:4 de diluição do extrato de cajuru.....	46
Figura 23 - Absorbância máxima da banda RPS (430 nm) dos meios de reação em pH 9,0 em diferentes diluições de extrato de cajuru em função do tempo.....	46
Figura 24 - Estrutura química representativa dos flavonoides e os seus sítios quelantes (A = íon metálico) ao lado das estruturas químicas do extrato de cajuru.....	47
Figura 25 - Imagens do meio de reação em diferentes valores de pH após 1 dia empregando a condição 1:2 de diluição extrato de cajuru: a) pH = 5,0; b) pH = 7,0; c) pH = 9,0.....	48
Figura 26 - Espectros UV-Vis dos meios reacionais para a condição 1:2 de diluição do extrato em diferentes pHs: A) pH 5,0; B) pH 7,0; C) pH 9,0.....	49
Figura 27 - Absorbância máxima da banda RPS em pHs diferentes em função do tempo para a condução 1:2 de diluição do extrato de cajuru: A) pH 5,0 B) pH 7,0 C). pH 9,0 em 430 nm	51
Figura 28 - Representação das estruturas das antocianinas encontradas em função do pHs	52
Figura 29 - Imagens do meio de reação em diferentes temperaturas após 1 dia empregando a condição 1:2 de diluição de extrato de cajuru: a) 25 °C, b) 50 °C.....	52
Figura 30 - Espectros UV-Vis do meio reacional em pH 9,0 para a condição 2 de extrato de cajuru em temperatura de 50 °C.....	53
Figura 31 - Absorbância máxima da banda RPS (430 nm) da condição 1:2 de diluição do extrato de cajuru em pH 9,0 em diferentes temperaturas e em função do tempo.....	54
Figura 32 - Mecanismo proposto para compostos fenólicos encontrados no extrato da folha do marmeleiro da Índia.....	55
Figura 33 - Esquema representativo do efeito de encapsulamento das nanopartículas de prata por compostos fenólicos.....	56
Figura 34 - Mecanismo de síntese de nanopartículas de prata para compostos flavonoides do extrato da fruta <i>Syzygium c.</i>	56
Figura 35 - Imagens TEM da reação de AgNPs obtidas em pH 9,0 e diluição do extrato de cajuru da condição 1 a 25°C.....	57
Figura 36 - Análise de EDS, sendo espectro EDS referente ao espectro da condição 1 (A), localização do espectro (B), (C) imagem em camadas e mapeamento dos elementos (D, E, F e G)	58

Figura 37 - Imagens TEM da reação de AgNPs obtidas em pH 9,0 e diluição do extrato de cajuru da condição 2 a 25°C.....	59
Figura 38 - Análise de EDS, sendo espectro EDS referente ao espectro da condição 1 (A), localização do espectro (B), (C) imagem em camadas e mapeamento dos elementos (D, E, F e G)	59
Figura 39 - Imagens TEM da reação de AgNPs obtidas em pH 5,5 e diluição do extrato de cajuru da condição 2 a 25°C.....	60
Figura 40 - Análise de EDS, sendo espectro EDS referente ao espectro da condição 2 (A), localização do espectro (B), (C) imagem em camadas e mapeamento dos elementos (D, E, F e G)	61
Figura 41 - Imagens TEM da reação de AgNPs obtidas em pH 9,0 e diluição do extrato de cajuru da condição 2 a 50°C	62
Figura 42 - Análise de EDS, sendo o EDS referente ao espectro da condição 2 em temperatura de 50°C (A), localização do espectro (B), (C) imagem em camadas e mapeamento dos elementos (D, E, F, G e H)	63
Figura 43 - Resultado das AgNPs em diferentes condições submetidas em diferentes microrganismos, sendo condição 1:1, 1:2 e 1:4 em pH 7,0, todas produzidas em Temperatura ambiente. Microrganismos <i>E. coli</i> (A), <i>Candida albicans</i> (B), <i>S. aureus</i> (C), <i>Salmonella sp.</i> (D) e <i>B. cereus</i> (E)	64

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Lista de equipamentos utilizados no presente estudo.....	18
Tabela 2 - Lista de reagentes utilizados na produção das AgNPs.....	19
Tabela 3 - Lista de microrganismos utilizados no presente estudo.....	19
Tabela 4 - Cepas microbianas e condições de crescimento.....	24
Tabela 5 - Identificação dos metabólitos secundários.....	31
Tabela 6 - Atividade antimicrobiana das AgNPs em pH 7,0	93

LISTA DE ABREVIATURAS

A. chica - *Arrabidaea chica*

AC- 1 - Variedade 1 da espécie *Arrabidaea chica*

AC-2 - Variedade 2 da espécie *Arrabidaea chica*

AC-3 - Variedade 3 da espécie *Arrabidaea chica*

Ag⁺ - Íons prata

Ag⁰ - Prata metálica

AgNPs - Nanopartículas de prata

AM - Amazonas

B. cereus - *Bacillus cereus*

C. albicans - *Candida albicans*

°C - Graus Celsius

DNA - Ácido desoxirribonucleico

DLS - Espalhamento de luz dinâmico

DPPH - 2,2-difenil-1-picril-hidrazil

EDS - Energy dispersive spectroscopy

ESI - Ionização por electrospray (*Electrospray ionization*)

E. coli - *Escherichia coli*

g - Gramas

HPLC-DAD - Cromatografia líquida ultra rápida acoplada a detector por arranjo de diodos, do inglês *high pressure liquid chromatography with diode array detector*.

LC-ESI-MS/MS - Cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massa sequencial (*Liquid Chromatography – Tandem Mass Spectrometry*)

mg - Miligramas

mL - Mililitros

mmol L⁻¹ - Milimol por litro

NCCLS - Comitê Nacional para Padrões de Laboratórios Clínicos (*National Committee for Clinical Laboratory Standards*)

MIC - Concentração mínima inibitória (*minimum inhibitory concentration*)

nm - Nanômetro

NPs - Nanopartículas

pH - Potencial hidrogeniônico

RPM - Rotação por minuto

RPS - Ressonância de *plasmon* de superfície

S. aureus - *Staphylococcus aureus*

SUS - Sistema Único de Saúde

UV-Vis - Ultravioleta-visível

ZOI - Zona de inibição (*zone of inhibition*)

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	14
2. REFERENCIAL TEÓRICO	15
2.1. Abordagens para a produção de nanoestruturas metálicas	15
2.2. Síntese biológica de nanoestruturas	16
2.3. Ação microbiológica das AgNPs	18
2.4. O crajiru	20
3. OBJETIVOS	23
3.1. Objetivo geral	23
3.2. Objetivos específicos	23
4. MATERIAIS	24
5. METODOLOGIA	26
5.1. Produção do extrato aquoso de Crajiru	26
5.2. Teste qualitativo para confirmação dos metabólitos secundários	27
5.2.1. Flavonoides	27
5.2.2. Taninos	28
5.2.3. Quinonas	28
5.2.4. Saponinas	28
5.2.5. Terpenos	29
5.2.6. Alcaloides	29
5.2.7. Naftoquinonas	29
5.3. Produção das dispersões de nanopartículas de prata (AgNPs)	29
5.4. Caracterização das AgNPs	30
5.4.1. Formação e estabilidade coloidal das AgNPs	30
5.4.2. Tamanho e forma das AgNPs	30
5.4.3. Atividade microbiológica das AgNPs	30
5.4.3.1. Ensaios de halo de inibição (antibiograma)	30
6. RESULTADOS E DISCUSSÃO	31
6.1. Teste qualitativo para identificação de metabólitos secundários	31
6.2. Caracterização do extrato aquoso do crajiru pela espectroscopia UV-Vis	36
6.3. Produção de nanopartículas	40

6.4 Síntese de AgNPs em diferentes concentrações de extrato de cajuru	41
6.5 Síntese de AgNPs em valores diferentes de pH	46
6.6 Síntese de AgNPs em valores diferentes de temperatura	50
6.7 Provável mecanismo de síntese de AgNPs mediada por extratos de cajuru	53
6.8 Microscopia eletrônica de transmissão TEM	56
6.9 Avaliação do ensaio microbiológico	63
8. CONCLUSÃO	65
9. REFERÊNCIAS	66

1. INTRODUÇÃO

As plantas podem ser amplamente utilizadas em reações químicas em virtude de sua composição química, especialmente considerando o seu diverso conteúdo de composto redutores, tais como os terpenos, alcaloides e outros metabólitos secundários. Para não gerar resíduos tóxicos e nem poluentes ao meio ambiente e visando à extração desses metabólitos, geralmente, se utiliza como solvente a água. Cada parte da planta pode ser empregada inclusive na geração de nanoestruturas metálicas com características físico-químicas diferentes devido a variação de metabólitos presentes, sobretudo os secundários (Morales *et al.*, 2021). De forma geral, toda parte do vegetal pode ser utilizada já que todas apresentam metabólitos primários e secundários em diferentes proporções e tipos (Srikar *et al.*, 2016).

As folhas de espécie *Arrabidaea chica*, também conhecidas como cajuru, são ricas em pigmentos de coloração de vermelho-escuro e vermelho-tijolo, que são empregadas no tingimento de fibras artesanais, enfeites, utensílios e vestuário, também são utilizadas em tatuagens, como repelente de insetos e como protetor solar (Da Rocha, 2017)

Segundo a medicina tradicional, o chá preparado a partir das folhas do cajuru são utilizadas para tratamentos de doenças como: diarreia, anemia, icterícia, hepatites e nervosismo. Há ainda relatos de sua eficácia anti-inflamatória, antibacteriana, antifúngica, antiparasitária, e contra cânceres de boca, útero e leucemia. Essa planta medicinal se aplicada topicamente pode auxiliar no combate às enfermidades da pele como psoríase, feridas e úlceras (Athithan *et al.*, 2020; Brandão *et al.*, 2021; Kalil Filho *et al.*, 2000; Rocha *et al.*, 2019; Oliveira *et al.*, 2009).

Na antiguidade, os sais de prata eram utilizados como fármaco, para o tratamento de queimaduras e quimioterápico contra patologias oriundas de bactérias. Com a descoberta da penicilina, o uso da prata reduziu consideravelmente, porém, com a descoberta de cepas resistentes a antibióticos, o uso da prata e seus derivados empregados em aplicações microbiológicas voltaram a ser investigados (Chopra, 2007).

A rota química convencional é o procedimento economicamente mais viável para a produção de nanopartículas (NPs). Nesse processo é utilizado o sal em meio aquoso e um agente redutor/estabilizador, no qual são comumente usados o citrato de sódio e o borohidreto de sódio (Santos, 2023). Entretanto, alguns desses agentes redutores geram subprodutos potencialmente tóxicos que limitam sua aplicação na área biomédica. Por outro lado, a rota biológica vem ganhando considerável importância nos últimos anos.

A atratividade pela produção de nanopartículas é relacionada pela aplicação de conceitos da síntese verde, que é caracterizada por um baixo impacto ambiental, pela redução

de produtos não desejáveis e pelo estímulo de usos de recursos naturais (Ribeiro *et al.*, 2022).

As nanopartículas de prata (AgNPs) têm sido muito utilizadas e estudadas devido à sua potente atividade antimicrobiana. A síntese biogênica de nanopartículas de prata é conhecida a muito tempo por muitos investigadores, e vários estudos promissores foram publicadas nos últimos anos (Benedito *et al.*, 2017; Durán *et al.*, 2016; Faramarzi; Sadighi, 2013; Gomes *et al.*, 2020; Liu *et al.*, 2018; Rafique *et al.*, 2017; Viana *et al.*, 2021).

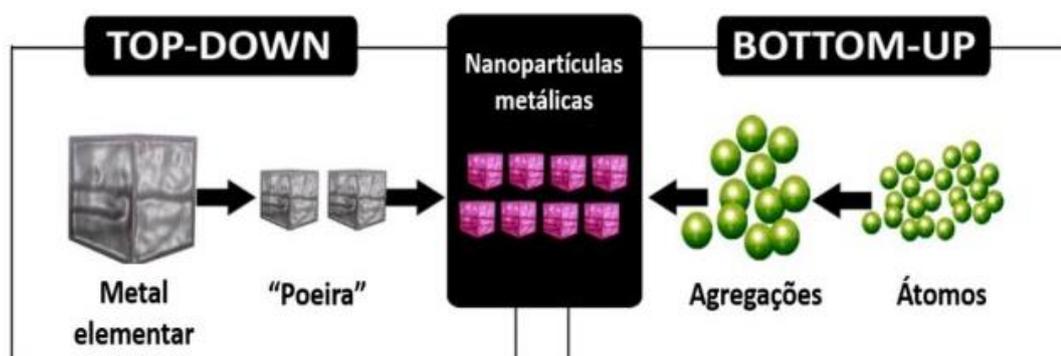
Tem-se pesquisado a utilização de extrato de plantas medicinais junto às nanopartículas na busca por criar ações naturais, mais eficientes e de baixo custo para combater bactérias, fungos e leveduras. Além disso, a síntese verde de NPs pode aumentar a biodisponibilidade e biocompatibilidade das NPs (Furlan *et al.*, 2015; Ghramh; Ibrahim; Khan, 2019; Yu *et al.*, 2012) e, com isso, busca-se obter dispersões de nanopartículas de prata através da síntese mediada por extrato aquoso de cajuru e usá-las frente a bactérias gram-positivas, gram-negativas e fungos.

2. REFERENCIAL TEÓRICO

2.1. Abordagens para a produção de nanoestruturas metálicas

As NPs podem ser sintetizadas através de diferentes métodos. Tal como se pode observar na Figura 1, os métodos podem ser resumidamente classificados como métodos *top-down* e de *bottom-up*. No primeiro, as partículas são sintetizadas a partir do fracionamento de um material em escala micro ou macrométrica (por métodos físicos como ablação a laser, decomposição termal, pirólise por spray ultrassônico, evaporação e/ou condensação) (Rudramurthy *et al.*, 2016; Yadi *et al.*, 2018).

Figura 1- Abordagens utilizadas na síntese de nanopartículas metálicas, inclusive de AgNPs.



Fonte: <https://nanotechnologyjd.weebly.com>

Na abordagem *bottom-up*, as partículas são obtidas pela combinação dos reagentes inicialmente em nível atômico ou molecular através de métodos químicos ou biológicos

(Rudramurthy *et al.*, 2016). A literatura reporta que as NPs obtidas podem ter uma grande variabilidade de tamanho e forma (Durán *et al.*, 2019; Rodrigues *et al.*, 2019). Os métodos e abordagens implementados para produzir as nanopartículas são importantes para obtenção de diferentes nanoestruturas. Contudo, características e propriedades como estabilidade e tamanho dependem também de condições experimentais, como o tempo de reação, temperatura e o uso ou não de agentes estabilizantes (Beyene *et al.*, 2017).

2.2. Síntese biológica de nanoestruturas

A produção de nanopartículas através de plantas vem ganhando importância nos últimos anos devido à sua natureza livre de solventes orgânicos e menor toxicidade (Jamkhande *et al.*, 2019; Lakshmanan *et al.*, 2018). A utilização de extratos de diferentes partes de plantas contém uma variedade de metabólitos secundários, tais como carboidratos, lipídios, compostos fenólicos, terpenoides e alcaloides, e estas são capazes de reduzir cátions metálicos.

Isso decorre devido às propriedades químicas específicas desses compostos, esses metabólitos contêm grupos funcionais, como grupos hidroxila (-OH), grupos carbonila (C=O), grupos fenol e outros grupos que possuem elétrons disponíveis para doação. Esses grupos funcionais podem atuar como agentes redutores em reações químicas, transferindo elétrons para cátions metálicos, mas também pode servir como agente de recobrimento (*capping agents*) para evitar a coalescência das nanoestruturas formadas (Lakshmanan *et al.*, 2018).

A síntese das nanopartículas de prata (AgNPs) utilizando extratos vegetais é possível em razão da existência de metabólitos secundários capazes de recobrir e estabilizar as nanoestruturas a serem formadas. No entanto, essa estabilidade no processo de síntese pode ser afetada por diferentes fatores, como a quantidade e capacidade antioxidante dos agentes redutores, além da afinidade de interação dos metabólitos secundários do extrato vegetal pela superfície das nanopartículas a serem produzidas (Houllou *et al.*, 2019).

Uma das características-chaves na aplicação das AgNPs consiste na metaestabilidade do sistema formado (Pereira, 2021). Já foi demonstrado que a estabilidade das soluções coloidais nanopartículas de prata tem uma forte dependência da especificidade do método de preparação e as condições experimentais (Toledo *et al.*, 2020).

Os parâmetros de síntese empregados para a formação nanopartículas de prata dependem da natureza dos materiais, como concentração do nitrato de prata, concentração dos extratos vegetais, duração e temperatura do processo de síntese, entre outros. Estes fatores influenciam no tempo necessário para que ocorra a mudança de coloração das suspensões, bem como a intensidade dessas (Ribeiro *et al.*, 2022; Viana *et al.*, 2021).

Com relação à concentração dos reagentes, esse parâmetro é responsável pela modulação do tamanho e morfologia das nanoestruturas (Dakal *et al.*, 2016). Dong *et al.* (2014) observou que um aumento na concentração de AgNO_3 induziu a diminuição no tamanho das nanopartículas. Inicialmente, na proporção de 1 a 5 mmol L^{-1} do AgNO_3 há a formação de AgNPs maiores, contudo, entre 5 a 10 mmol L^{-1} de AgNO_3 há uma tendência na formação de nanoestruturas de menor tamanho.

Isso ocorre, pois à medida que vai aumentando a concentração do AgNO_3 percebe-se o aumento da absorbância do meio reacional pela técnica de espectroscopia de absorção molecular na região do ultravioleta-visível (UV-Vis), enquanto Solomon *et al.*, (2007) constatou que o comprimento de onda onde ocorre o máximo de absorbância tem correlação com o tamanho das NPs. Quanto maior for a absorbância e a sua posição ocorrer em menores comprimento de onda, o aumento da concentração do reagente permite que seja formado nanopartículas menores. Contudo, para a obtenção de nanopartículas eficazes contra microrganismos é necessário o alinhamento de várias condições de síntese.

As propriedades ópticas apresentadas pelas nanopartículas metálicas são características das oscilações coletivas dos elétrons da banda de condução, denominada ressonância de plasmon de superfície (RPS), no qual há uma interação das NPs com o campo eletromagnético da luz (Kobylinska *et al.*, 2020). Com o aumento da quantidade de extrato vegetal no meio reacional há uma tendência no aumento da intensidade da banda associada à presença de AgNPs denominada de ressonância de *plasmon* de superfície (RPS), indicando a formação de uma maior quantidade de AgNPs (Santos, 2023).

Entretanto, é reportado na literatura que muitos metabólitos secundários presentes em extratos vegetais também são capazes de se complexar com íons metálicos em solução (Ribeiro *et al.* 2022). Portanto, se a concentração de extrato vegetal for muito alta em relação à concentração do sal precursor de prata, há uma competição entre os processos de redução e complexação do cátion metálico, reduzindo a quantidade de nanoestruturas formadas.

Diversos estudos mostram que o aumento do pH resulta no estreitamento gradual da banda *plasmon* das AgNPs e o aumento de sua intensidade, demonstrando que o pH tem uma grande influência na forma e velocidade de aumento desse sinal (Dada *et al.*, 2019; Santos, 2023). Em meio ácido, alguns trabalhos demonstram que a reação favorece a agregação das NPs, resultando em partículas maiores, o que justifica o alargamento da curva (Dada *et al.*, 2019; Manosalva *et al.*, 2019).

Já em meio alcalino, a reação tende a favorecer a nucleação dos átomos de prata recém reduzidos, gerando AgNPs de menor diâmetro e mais uniformes, o que resulta no estreitamento

da banda RPS. Isso sugere que uma grande quantidade de átomos de prata é reduzida rapidamente em meio básico, originando nanoestruturas de tamanhos menores (Mosaviniya *et al.*, 2019; Singh *et al.*, 2020).

Com o aumento de temperatura também há, geralmente, um aumento na formação de AgNPs. Pois o aquecimento favorece o aumento da temperatura da reação, há o aumento das correntes de convecção e aumentando assim o transporte de massa, facilitando o encontro dos agentes redutores com o agente oxidante, necessário para a redução do Ag^+ em Ag^0 . Assim, o aumento de temperatura acelera a nucleação e crescimento de AgNPs e a taxa de transporte de elétrons aumenta via redutor utilizado no caso dos extratos vegetais. A taxa de transporte de elétrons normalmente é uma etapa limitadora na síntese de AgNPs, que pode ser superada com o aumento da temperatura (Hamedi, 2017; Fayaz *et al.*, 2009; Park *et al.*, 2007).

Todos estes parâmetros podem influenciar na qualidade, forma, tamanho e na ação microbicida das AgNPs, logo, quanto menor o diâmetro das nanoestruturas de prata maior é a ação contra os microrganismos devido à facilidade de penetração nas células bacterianas (Ahmed *et al.*, 2021; Quintero-quiroz *et al.*, 2019).

2.3. Ação microbiológica das AgNPs

O sistema bacteriano pode adquirir resistência à antibióticos por vários mecanismos e pode ser transferido para outras bactérias por três principais mecanismos de recombinação genética: tradução, conjugação e transformação (Levinson, 2016). Com o cenário de resistência bacteriana, as AgNPs têm atraído o interesse devido às suas aplicações biomédicas (Dissemond *et al.*, 2020; Lemos *et al.*, 2021).

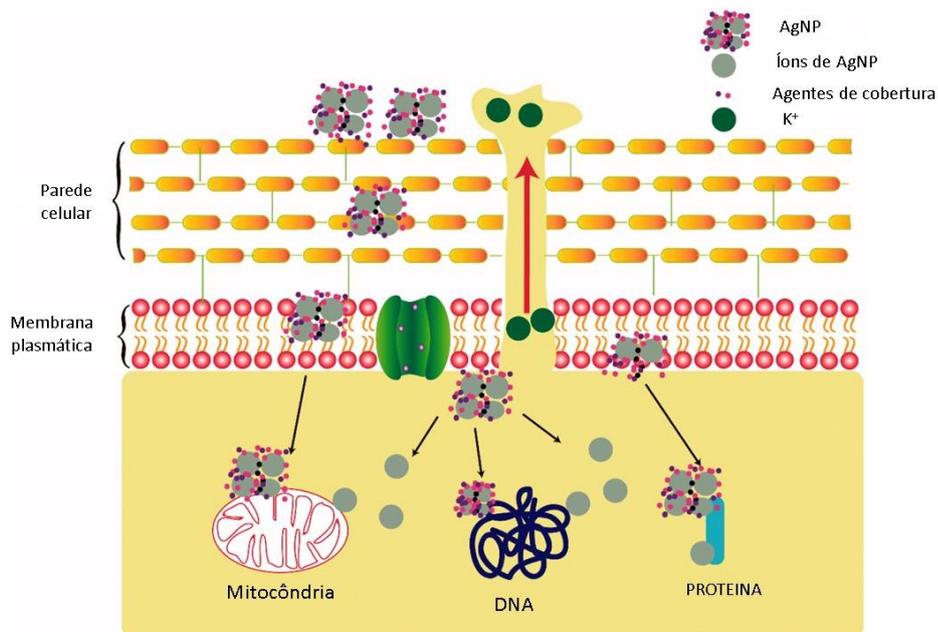
As dispersões coloidais de AgNPs, devido à alta relação área por volume, apresentam propriedades antimicrobianas contra diversos tipos de microrganismos, tais como bactérias Gram-positivas e Gram-negativas, fungos e vírus (Tormena, 2020). A carga positiva nos íons Ag^+ é sugerida como precursor essencial para atividades antimicrobianas, logo, para que a prata tenha qualquer propriedade antimicrobiana ela deve estar em sua forma ionizada. Em sua forma reduzida, a prata é inerte, mas ao entrar em contato com a umidade, libera íons prata (Klueh *et al.*, 2000).

Além disso, esse íon é capaz de interromper o transporte de nutrientes, interagindo com enzimas respiratórias e promovendo o rompimento da membrana celular bacteriana. Em relação ao formato, a maior reatividade está relacionada diretamente com o número de facetas da partícula, o que justifica partículas triangulares apresentarem maior ação antimicrobiana em relação às esféricas (Fatima *et al.*, 2016).

De acordo com dados publicados em 2013, os microrganismos mais comuns em infecções e resistência bacteriana são a *S. aureus* (Gram-positiva) e a *E. coli* (Gram-negativa) (Wang *et al.*, 2013) e, neste caso, as AgNPs, devido às suas propriedades antimicrobianas, têm sido utilizadas para impedir a contaminação dos alimentos tanto de bactérias Gram-positivas como Gram-negativas (Zhao *et al.*, 2018).

O mecanismo de ação não está totalmente elucidado, mas pode estar relacionado com a ligação e a penetração das AgNPs na parede celular, devido à atração eletrostática entre a carga negativa das membranas celulares e a carga positiva das partículas e/ou íons Ag^+ (Shahzad *et al.*, 2019). Deste modo, as AgNPs inativam os grupos tióis da parede celular, causando lise celular e liberação de íons potássio no citoplasma, tal como pode ser observado na Figura 2.

Figura 2 - Possíveis mecanismos de ação antimicrobiana das AgNPs.



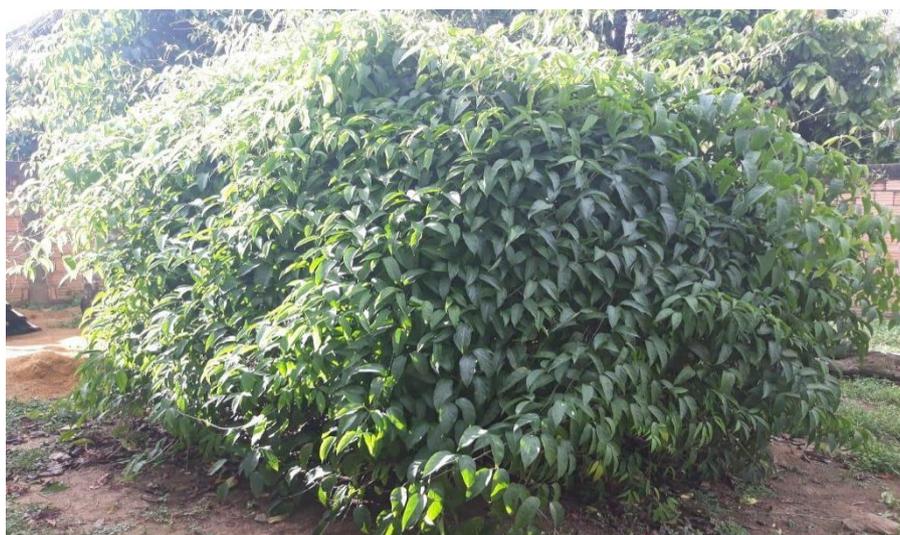
Fonte: Adaptado de Zhao *et al.* (2018).

Em comparação com bactérias Gram-negativas, as bactérias Gram-positivas são mais resistentes às AgNPs devido à presença de uma camada espessa de peptidoglicano na parede celular. Um exemplo, a *S. aureus* sendo uma bactéria Gram-positiva, possui uma camada de peptidoglicano com aproximadamente 30 nm, que pode efetivamente impedir a entrada de NPs (Tang; Zheng, 2018).

2.4. O crajiru

A espécie *Arrabidaea chica*, pertence à família Bignoniaceae, está na relação nacional de plantas medicinais de interesse ao SUS (Ministério da Saúde, 2009), sua inclusão na lista de plantas medicinais de interesse do SUS significa que ela é reconhecida como potencial fonte de medicamentos e tratamento acessíveis e eficazes para a população, alinhada com a política de saúde pública do Brasil. A inclusão no rol de plantas medicinais de interesse ao SUS pode facilitar o acesso da população a produtos fitoterápicos baseados no crajiru, contribuindo para a promoção de saúde e o tratamento de diversas condições médicas. Dependendo da região, a *A. chica* é conhecida por diferentes nomes, sendo no Amazonas conhecido como crajiru, puca-panga, coapiranga, chica ou cipó-cruz (Von Poser *et al.*, 2000), o crajiru é uma erva medicinal arbustiva e trepadeira, seus ramos são subtetrágonos e suas folhas são compostas e trifoliadas, de folíolos oblongo lanceoladas, conforme é observado na Figura 3.

Figura 3 - Folhas da espécie *Arrabidaea chica* (crajiru).



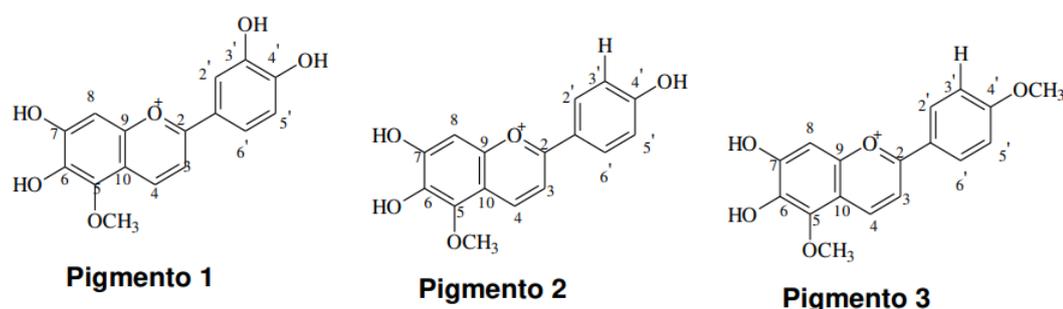
Fonte: autora (2022).

Os principais centros de distribuição geográfico de *Arrabidaea chica* são o continente africano (Von Poser *et al.*, 2000), destacando-se o Peru e Brasil Central, com prevalência na região Amazônica, incluindo regiões de Cerrado e de Mata Atlântica (Pauletti *et al.*, 2003).

A *Arrabidaea chica* é rica em flavonoides, que são compostos polifenólicos que fazem parte de um grupo particular de metabólitos secundários, que tem uma grande importância nas funções de crescimento, desenvolvimento e na defesa dos vegetais contra os ataques de patógenos (Marcucci *et al.*, 2021).

Chapman *et al.* (1927) foram os primeiros a estudar as folhas de *Arrabidaea chica*, isolando dois pigmentos denominados carajurina (1) e carajurona (2). Segundo Zorn *et al.* (2001), essas estruturas são as principais responsáveis por conferir a coloração avermelhada característica dos extratos vegetais desse vegetal. As 3-deoxiantocianidinas presentes na espécie *A. chica* são 6,7,3',4'- tetrahidroxi-5-metoxi-flavílio (**pigmento 1**); 6,7,3'-trihidroxi-5-dimetoxiflavílio (carajurona - **pigmento 2**), que foram isoladas das partes aéreas da espécie juntamente com a já descrita 6,7-dihidroxi-5,4'-dimetoxiflavílio (carajurina – **pigmento 3**) (Figura 4) (Zorn *et al.*, 2001; Silveira *et al.*, 2021).

Figura 4 - Estruturas químicas de antocianidinas encontradas no crajiru.



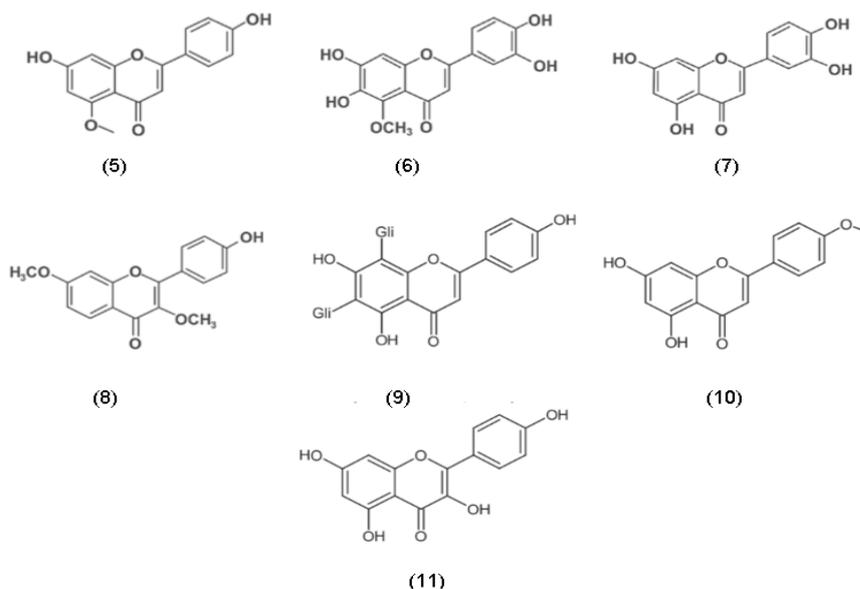
Fonte: Adaptado de Zorn *et al.* (2001)

Em termos de atividade biológica, as antocianinas provavelmente não atuam de forma independente. Alguns trabalhos sugerem que a atividade é potencializada quando administrada em misturas, onde antocianinas e outros componentes flavonoides, antocianinas e outros não-flavonoides interagem juntos para poder prover a potência total (Lila, 2004).

Estudos apontam o alto poder antioxidante das antocianinas para combater doenças metabólicas e suas complicações (Harris *et al.*, 2007; Tsuda *et al.*, 2006; Zafra-Stone *et al.*, 2007). O poder antioxidante de antocianinas isoladas de mirtilo (*Vaccinium corymbosum*), bem como a estabilidade frente a condições adversas de pH, temperatura, luz, além do contato com diferentes aditivos, foi demonstrada por Wang *et al.* (2010).

Na sequência, Takemura *et al.* (1993) isolou das folhas do crajiru os flavonoides thevetiaflavona (5) (4',7'-diidroxi-5-metoxiflavona) e, posteriormente, carajuflavona (6) (6,7,3',4'-tetraidroxi-5-metoxiflavona) e luteolina (7) (Takemura *et al.*, 1995). Barbosa *et al.*, (2008) apresentaram o isolamento de 4'-hidroxi-3,7'- dimetoxi-flavona (8) e vicenina-2 (9) e Zorn *et al.* (2001) determinaram a presença de acetina (10). A substância kaempferol (11) também foi isolada das folhas de *Arrabidaea chica* (Barbosa *et al.*, 2008), tais substâncias estão apresentadas na Figura 5.

Figura 5 - Estrutura química de flavonoides encontrados no crajiuru.



Fonte: Behrens *et al.* (2012).

O levantamento de metabólitos secundários presentes no extrato das folhas de *A. chica* indicou a presença de classes químicas tais como açúcares redutores, antraquinonas, esteroides, triterpenoides, fenóis, flavanois, flavonas, saponinas e taninos catéquicos (Carvalho *et al.*, 2022) e a presença de compostos fenólicos, taninos, flavonóis, antocianinas, ácidos orgânicos e açúcares redutores, conforme investigado por Ribeiro *et al.* (2012). De Souza, Araújo e Lopes (2022) demonstraram adicionalmente a presença de triterpenos, compostos fenólicos, flavonoides, taninos e antocianinas nas folhas e flavonoides, taninos e antocianinas nos caules da espécie.

A composição fenólica do extrato etanólico antioxidante das folhas de *Arrabidaea chica* foi determinada utilizando cromatografia líquida de alta eficiência com detector de arranjo de diodos (HPLC-DAD) e cromatografia líquida de alta eficiência, acoplado a ionização por *electrospray*, acoplado a espectrometria de massas sequencial (LC-ESI-MS/MS), identificando as substâncias: isoscutelareina, 6-hidroxiluteolina e hispidulina (Siraich *et al.*, 2013).

Os estudos farmacológicos e biológicos de extratos e frações das folhas de *A. chica* já comprovaram diversas ações, tais como antiedematogênica (Rocha *et al.*, 2019); antimicrobiana (Berla *et al.*, 2020; Carvalho *et al.*, 2022; Da Silva; Biesk, 2018; Ferreira *et al.*, 2013; Fontes *et al.*, 2021; Paosen *et al.*, 2017), antifúngica (*Trichophyton mentagrophytes*) (Athithan *et al.*, 2020), analgésica contra osteoartrite (Vasconcelos *et al.*, 2019) e anti-hepatotóxica (Souza, 2013).

A quantificação conjunta dos flavonoides é complexa devido ao comportamento dos heterosídeos das respectivas agliconas e pela dificuldade de isolamento destas substâncias de outras classes de compostos fenólicos (Zuanazzi; Montanha, 2002). O teor de constituintes presentes nas plantas também varia consideravelmente em função de fatores externos, como a temperatura, umidade, luminosidade, nutrientes do solo, método de coleta, secagem e transporte, parte da planta usada, bem como a época em que a planta é coletada, o que constitui um dos fatores de maior importância, visto que a quantidade e, às vezes, até mesmo a natureza dos constituintes ativos não é constante durante o ano.

Dessa forma, cada um desses fatores pode influenciar diretamente a qualidade da matéria prima vegetal, e conseqüentemente, o produto final e a eficácia dos medicamentos fitoterápicos (Gobbo-Neto; Lopes, 2007; Simonetti; Sammy, 2021).

Estudos relacionando à estrutura-atividade de flavonoides são importantes no processo de busca de novos agentes anti-inflamatórios e esses estudos objetivam identificar os grupos funcionais responsáveis pela ação farmacológica e entender melhor como se dá a interação do flavonoide com o receptor, de forma a poder aperfeiçoar a molécula original em termos de atividade (Borghi; Luque, 2022).

Devido à sua solubilidade em água, as antocianinas ocorrem nos tecidos de plantas dissolvidas no fluído da célula vegetal, que geralmente apresenta pH levemente baixo. Uma característica marcante das antocianinas está no fato de que em soluções aquosas apresentam diferentes estruturas em função do pH. As antocianinas são instáveis em soluções com pH neutro ou alcalino, e mesmo em soluções com pH ácido a cor pode desaparecer gradualmente quando a solução sofrer exposição à luz (Nhamússua; Agostinho, 2021). Diante dos argumentos apresentados torna-se importante o estudo e aplicabilidade das nanopartículas mediada por extrato aquoso de cajuru para avaliação do potencial antimicrobica.

3. OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

Obter dispersões de nanopartículas de prata através da síntese mediada por extratos aquosos de cajuru em diferentes condições de síntese.

3.2. Objetivos específicos

- a) Obter os extratos aquosos de cajuru em diferentes condições de diluição;
- b) Identificar a presença de metabólitos secundários presente no extrato aquoso de cajuru através da análise química qualitativa;

- c) Caracterizar os extratos vegetais pela espectroscopia eletrônica UV-Vis;
- d) Monitorar o progresso de síntese das nanopartículas pela espectroscopia eletrônica UV-Vis;
- e) Investigar a influência de diferentes parâmetros (tempo de estabilização, relação entre quantidade de Ag^+ e extratos vegetais, temperatura e pH) na obtenção de AgNPs pela espectroscopia eletrônica UV-Vis;
- f) Determinar os diâmetros das nanoestruturas produzidas pela técnica de microscopia eletrônica de transmissão (TEM);
- g) Verificar o potencial microbicida dos materiais preparados mediante ensaios microbiológicos.

4. MATERIAIS

Para execução do presente trabalho foram utilizados os seguintes equipamentos (Tabela 1), produtos químicos (Tabela 2) e microrganismos (Tabela 3).

Tabela 1 – Lista de equipamentos utilizados no presente estudo.

Equipamentos		
Especificação	Marca	Modelo
Agitador magnético	Cienlab	CE-1540/A-15
Balança analítica	Shimadzu	AUY220
Chapa aquecedora	Cienlab	CE-1540/A-15
Espectrofotômetro UV-Vis	BEL	UVM-51
Espectrofotômetro visível	Biospectro	SP-22
Estufa bacteriológica	Ethik	410-TD
Geladeira	Continental	RUCT270MUA1BR
Microscópio eletrônico de transmissão	Jeol	JEM - 1400
pHmetro	Simpla	pH140

Fonte: autora (2023).

Tabela 2 – Lista de reagentes utilizados na produção das AgNPs.

Reagentes		
Nome	Fórmula química	Procedência
Folhas de cajuru	-	Itacoatiara/AM
Acetato de cobre II (P.A)	$\text{Cu}(\text{CH}_3\text{COO})_2$	Dinâmica
Ácido bórico 3% (P.A)	H_3BO_3	ACS Cientifica
Ácido oxálico 10% (P.A)	$\text{C}_2\text{H}_2\text{O}_4$	Dinâmica
Ácido acético glacial (P.A)	CH_3COOH	Bianquímica
Ácido sulfúrico 0,01% (P.A)	H_2SO_4	LABITECH
Ácido clorídrico 2% (P.A)	HCl	ACS Cientifica
Ácido nítrico 65% (P.A)	HNO_3	Vetec
Ácido tartárico (P.A)	$\text{C}_4\text{H}_6\text{O}_6$	Synth
Anidrido acético 0,1% (P.A)	$\text{C}_4\text{H}_6\text{O}_3$	Química moderna
Cloreto férrico 2% (P.A)	FeCl_3	Dinâmica
Cloreto férrico 3% (P.A)	FeCl_3	Dinâmica
Clorofórmio (P.A)	CHCl_3	Synth
Diclorometano (P.A)	CH_2Cl_2	Química Moderna
Éter etílico (P.A)	$(\text{C}_2\text{H}_5)_2\text{O}$	Dinâmica
Etanol 75% (P.A)	$\text{C}_2\text{H}_6\text{O}$	Dinâmica
Gelatina em Pó	-	ACS Cientifica
Hidróxido de amônio (P.A)	NH_4OH	Dinâmica
Hidróxido de potássio (P.A)	KOH	Dinâmica
Hidróxido de sódio (P.A)	NaOH	Biotec
Iodeto de potássio (P.A)	KI	Diâmica
Nitrato de bismuto (P.A)	$\text{Bi}(\text{NO}_3)_3$	Diâmica
Nitrato de prata (P.A.)	AgNO_3	Laderquímica

Fonte: autora (2023).

Tabela 3 – Lista de microrganismos utilizados no presente estudo.

Microrganismo	Código ATCC
<i>Bacillus cereus</i>	14579
<i>Candida albicans</i>	90028
<i>Escherichia coli</i>	25922
<i>Salmonella sp.</i>	14028
<i>Staphylococcus aureus</i>	25923

Fonte: autora (2023).

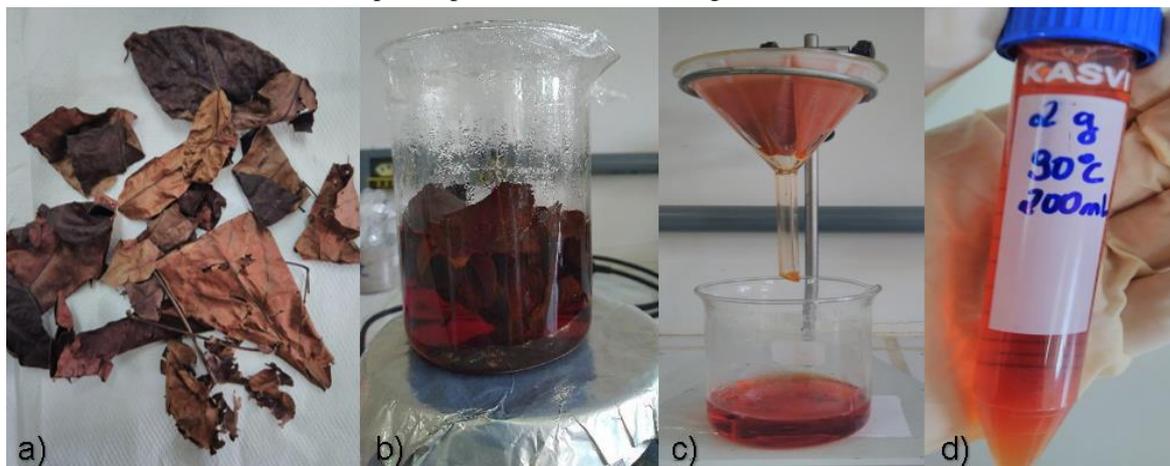
5. METODOLOGIA

5.1 Produção do extrato aquoso de Crajiru

As folhas de crajiru foram adquiridas no comércio local da cidade de Itacoatiara – AM. O primeiro passo foi a realização do procedimento de higienização das folhas, de acordo com as recomendações da Emater (2015), consistindo na lavagem em água corrente e secagem durante 48 horas, com exposição ao sol.

Para infusão de crajiru foram pesados 2 gramas das folhas secas em béquer e adicionados 200 mL de água destilada fervida a 90 °C, em seguida o béquer foi vedado com *parafilm*. A mistura obtida foi mantida sob repouso até atingir a temperatura ambiente e posteriormente foi filtrada com auxílio de aparato para filtração simples, sendo o extrato armazenado em tubos Falcon e mantido na geladeira por até 5 dias e denominada de extrato concentrado, conforme Figura 6.

Figura 6 – a) Folhas de cajuru secas; b) Extrato em repouso; (c) Filtração do extrato; (d) Extrato concentrado pronto para ser armazenado na geladeira.



Fonte: autora (2023).

5.2 Teste qualitativo para confirmação dos metabólitos secundários

A seguir serão apresentadas as metodologias empregadas para determinação qualitativa de alguns metabólitos secundários presentes nos extratos aquosos de cajuru utilizando a metodologia proposta por Matos (2009).

5.2.1. Flavonoides

O teste qualitativo para caracterização de flavonoides procedeu da seguinte forma:

1º) Reação oxalo-bórica (Reação de Taubouk): Foram retirados 8 mL da solução aquoso e transferidos para um béquer, posteriormente foram adicionados a esse volume 3 mL de solução de ácido bórico 3% (m/v) em etanol 75% (v/v) e 1 mL de solução de ácido oxálico 10% (m/v) em etanol 75% (v/v). A solução foi evaporada dentro de uma cápsula de porcelana, com o auxílio de um banho maria, até à secura e prolongou-se o aquecimento por mais 5 minutos. Após o resfriamento da amostra foi adicionado 3 mL éter etílico, com auxílio de uma pipeta Pasteur, posteriormente, a solução foi analisada em câmara ultravioleta.

2º) Reação com hidróxidos alcalinos: em um tubo de ensaio foi adicionado 1 mL do extrato aquoso e a este extrato foram adicionados 9 mL água destilada. Foi separado 5 mL da solução final em outro tubo de ensaio, e a ela foram adicionadas 25 gotas de solução de hidróxido de sódio a 1 mol L⁻¹. A presença de flavonoides com hidroxilas fenólicas livres foi indicada pelo aparecimento de coloração amarela na solução.

3º) Reação com cloreto férrico: Em um tubo de ensaio foram adicionados 1 mL do extrato vegetal e 9 mL de água destilada, desta solução foi transferido 5 mL para um outro tubo. E em um dos tubos foi adicionado uma gota de solução de cloreto férrico 2% (m/v), deixando o segundo tubo ao lado, sem a adição de nenhum reagente.

5.2.2 Taninos

Para a identificação de taninos, foi solubilizada 20 mg de extrato em 2 mL de metanol, em seguida adicionou-se 4 mL de água destilada e fez-se filtração utilizando funil e papel filtro. Posteriormente, a amostra foi dividida em dois tubos de ensaio, sendo 3 mL em cada. A primeira reação consistiu em acrescentar cinco gotas de cloreto férrico a 20% ao primeiro tubo de ensaio. Para a segunda reação, adicionou-se duas gotas de ácido clorídrico aos extratos e em seguida foram gotejadas algumas gotas de solução de albumina a 2% no segundo tubo.

5.2.3 Quinonas

O teste qualitativo para identificação de quinonas procedeu de duas formas distintas:

1º) Reação de Bornträger: Inicialmente 10 mg do extrato foi solubilizado em 0,5 mL de metanol, em seguida acrescentou-se 1,5 mL de água. Posteriormente, transferiu-se a solução para um tubo de ensaio e adicionou-se 5 mL de clorofórmio. Agitou-se e durante 10 minutos a amostra foi deixada em repouso. Após o tempo de repouso, a parte clorofórmica foi retirada e transferida para outro tubo de ensaio. Adicionou-se 1 mL de hidróxido de sódio a solução aquosa.

2º) Reação de Bornträger direta

Pesou-se 0,2 g das folhas de cajuru secas e estas foram colocadas em tubo de ensaio e foi adicionado 5 mL da solução de NaOH a 10%.

5.2.4 Saponinas

O extrato aquoso foi adicionado separadamente em tubos de ensaio, cerca de 2 mL em cada tubo. Os extratos foram solubilizados com clorofórmio, passaram por filtração e foram adicionados em cada um dos tubos de ensaio 2 mL de água destilada. A mistura foi submetida à agitação manual por 3 minutos.

5.2.5 Terpenos

Foram separados três tubos de ensaio, transferiu-se 2 mL do extrato para casa vidraria. Em seguida, adicionou-se 1 mL da solução de anidrido acético 0,1% (m/v), 1 mL de ácido sulfúrico 0,01% (v/v) e 3 mL de clorofórmio, sendo posteriormente levados para resfriar. Após a diminuição da temperatura foi adicionado ao meio mais 1 mL de anidrido acético e mais 1 mL de ácido sulfúrico.

5.2.6 Alcaloides

Com auxílio de uma pipeta, coletou-se 2 mL do extrato aquoso e dilui-se com 100 mL de água destilada. Na sequência a solução foi acidificada com ácido clorídrico 2% (m/v). O resultado foi observado pela visualização da reação sob luz ultravioleta, esperou-se 2 minutos e ao final adicionou-se 2 mL de clorofórmio e 3 gotas de reagente de Dragendorff. O resultado foi observado pela visualização da reação sob luz ultravioleta.

5.2.7 Naftoquinonas

Em um tubo de ensaio foi adicionado 5 mL do extrato, em seguida foi pipetado 2 mL da solução de NH_4OH , agitou-se a mistura e observou-se a separação de fases.

5.3 Produção das dispersões de nanopartículas de prata (AgNPs)

Foram utilizados béqueres revestidos com papel alumínio com o intuito de minimizar a fotoativação do nitrato de prata com a luz (Azizi *et al.*, 2017), utilizando um volume 50 mL de solução de nitrato de prata (AgNO_3) de $1 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$.

Para os ensaios iniciais foram usadas três diferentes diluições do extrato concentrado do cajuru: **1:1** (2,5 mL de extrato + 2,5 mL de água destilada), **1:2** (1,67 mL de extrato + 3,33 mL de água destilada) e **1:4** (1,0 mL de extrato + 4,0 mL de água destilada). Foi pipetado 5 mL de cada uma dessas três diluições de extrato vegetal em 50 mL de solução de nitrato de prata, de modo a totalizar sempre um volume de 55 mL de mistura reacional.

A etapa seguinte consistiu na síntese de AgNPs nas diferentes condições de diluição do extrato de cajuru variando o pH do meio reacional em 5,0, 7,0 e 9,0. Para ajustar o meio reacional ao valor de pH 5,0 foi utilizado uma solução de HNO_3 $0,01 \text{ mol L}^{-1}$ e para valores de pH 7,0 e 9,0 utilizou-se uma solução de NaOH $0,01 \text{ mol L}^{-1}$. Os béqueres com as nanopartículas foram mantidos sob agitação constante por 24 horas. Os recipientes de reação foram deixados à temperatura ambiente para o restante dos experimentos. Outros valores de temperatura (50 °C) também foram avaliados e seguiram o mesmo procedimento acima por 24 horas.

5.4 Caracterização das AgNPs

5.4.1 Formação e estabilidade coloidal das AgNPs

Usou-se a espectroscopia eletrônica UV-Vis para observar o progresso da formação das nanopartículas de prata através do monitoramento da banda associada à ressonância de *plasmon* de superfície, localizada próximo a 400 nm (Noguez, 2007; Pinto *et al.*, 2010) em intervalos de tempo constantes (a cada hora nas primeiras 6 horas e depois a cada 24 horas desde o início da reação até atingir o tempo total de 21 dias). Os meios reacionais foram investigados nos pH 5,0, 7,0 e 9,0, assim como as temperaturas ambiente 25 °C e 50 °C para as condições de concentração de extrato vegetal e pH que apresentaram maiores intensidades da banda RPS e estabilidade dos coloides obtidos.

5.4.2. Tamanho e forma das AgNPs

A análise das imagens de microscopia eletrônica de transmissão (TEM) foram registradas em um microscópio JEOL modelo JEM 1400 operado a 120 kV. As amostras foram previamente diluídas em água deionizada e colocadas em grades de cobre (Cu) cobertas com carbono e deixadas à temperatura ambiente por 1 hora.

5.4.3. Atividade microbiológica das AgNPs

5.4.3.1. Ensaio de halo de inibição (antibiograma)

As cepas liofilizadas foram reativadas de acordo com as condições de crescimento descritas na Tabela 4. Um inóculo de cada microrganismo estudado foi preparado, ajustando-se a leitura da densidade óptica em 620 nm para 0,08 - 0,10 (1×10^8 células/mL).

Tabela 4 – Cepas microbianas e condições de crescimento.

Cepa	Meio de cultura (sólido/líquido)	Condições de incubação
<i>B. cereus</i>	Ágar e caldo TSB	Aerobiose a 37 °C
<i>C. albicans</i>	Ágar e caldo Sabouraud Dextrose	Aerobiose a 37 °C
<i>E. coli</i>	Ágar e caldo TSB	Aerobiose a 37 °C
<i>Salmonella sp.</i>	Ágar e caldo TSB	Aerobiose a 37 °C
<i>S. aureus</i>	Ágar e caldo TSB	Aerobiose a 37 °C

TSB: triptona de soja.

Fonte: autora (2023).

O teste de halo de inibição foi realizado através da técnica de disco, a qual consiste na utilização de discos *blank* estéreis. Após o meio de cultura ágar ser esterilizado e resfriado a cerca de 50 °C foram distribuídos 25 mL em placas de Petri de 25 x 150 mm esterilizadas.

A camada *seed* foi obtida colocando-se em um tubo 12,5 mL de meio de cultura adequado para cada microrganismos esterilizado e resfriado a 50 °C, ao qual foi incorporado 2,5 mL de meio de líquido adequado para micro organismo, com o inóculo já preparado. Imediatamente a camada *seed* foi vertida sobre a camada base.

A seguir, os discos foram umedecidos com 100 µL dos extratos a serem testados, além do controle positivo (amoxicilina 10 mg) e o controle negativo (extrato aquoso). Em seguida as placas de Petri foram incubadas a 36 °C por 24 horas.

6. RESULTADOS E DISCUSSÃO

6.1 Teste qualitativo para identificação de metabólitos secundários

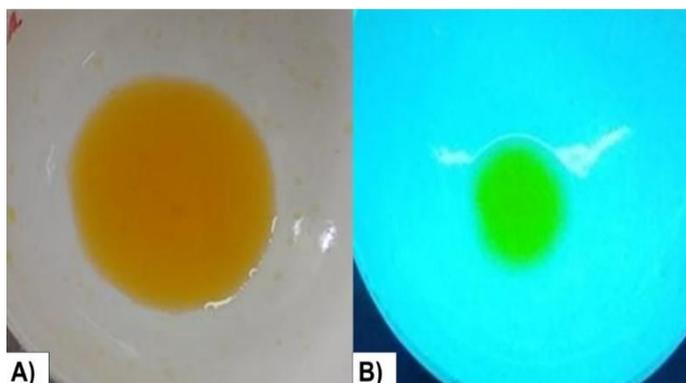
Em cada planta os compostos do metabolismo secundário são diferentes, representando assim uma característica, uma impressão digital (*fingerprint*) química pertinente a cada planta. O padrão de substâncias ativas varia de acordo com a origem, a época da colheita e condições de conservação (Silveira *et al.*, 2021). Entre os principais metabólitos secundários ou substâncias vegetais ativas encontram-se os alcaloides, glicosídeos cardiotônicos, saponinas, flavonoides, antraderivados, cumarinas, óleos essenciais e quinonas, entre outros (Ribeiro, 2011).

Um estudo realizado por Barbosa *et al.* (2008), por meio da prospecção fitoquímica, permitiu analisar que dentre as principais classes de metabólitos secundários presente no extrato de *Arrabidaea chica* se encontravam flavonóis, antocianidinas, taninos, esteroides e entre outros compostos de interesse farmacológico, o que torna esta espécie muito importante para o estudo químico de diferentes atividades biológicas.

O extrato aquoso de *A. chica* apresentou coloração avermelhada, sendo que isto ocorre em virtude do teor de metabólitos secundários presentes na espécie. Devido à quantidade de substâncias presentes no extrato do cajuru realizou-se o teste qualitativo visando caracterizar os seus principais constituintes químicos, mostrados nas Figuras 7-13, e resumidos na Tabela

5, onde na Figura 7B é exibida a mudança de coloração, confirmando a presença de flavonoides nesse extrato.

Figura 7 – Reação qualitativa para identificação de flavonoides através da reação oxalo-bórica: A) extrato aquoso de cajuru, B) extrato aquoso de cajuru através do UV.

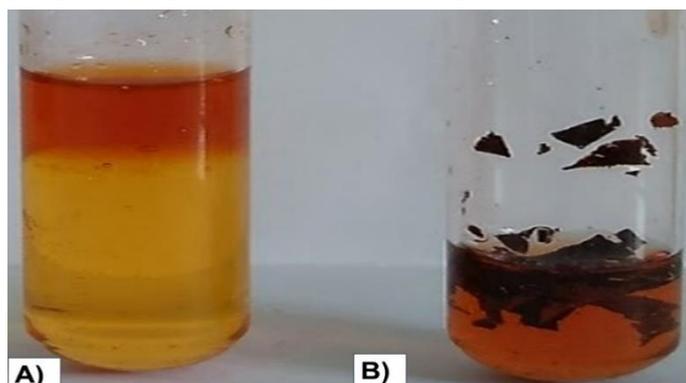


Fonte: autora (2023).

As quinonas presentes no extrato de cajuru foram pouco evidenciadas até o presente, no que tange o estudo da relação entre estrutura e atividade farmacológica em virtude do alto teor de antocianidinas presentes na espécie, deixando as quinonas pouco exploradas (Resende *et al.*, 2013). Um estudo realizado por Resende *et al.* (2017) evidenciou que as quinonas podem apresentar diferentes atividades biológicas relacionada com a estrutura química, assim foi possível notar que os radicais metil presente na estrutura da quinona isolada oriunda do extrato de *Arrabidaea brachypoda* são capazes de se ligar covalentemente ao DNA e atuar como alquilante de DNA-reativo.

Na Figura 8A foi possível observar a mudança de coloração laranja e após agitação do tubo a parte alcalina apresentou uma cor avermelhada, confirmando a presença de antraquinonas no extrato de cajuru. Na Figura 8B foi observado uma coloração rósea-vermelho, apontando uma reação positiva para antraquinonas.

Figura 8 – Reação qualitativa para identificação de antraquinonas: A) extrato aquoso B) folhas.

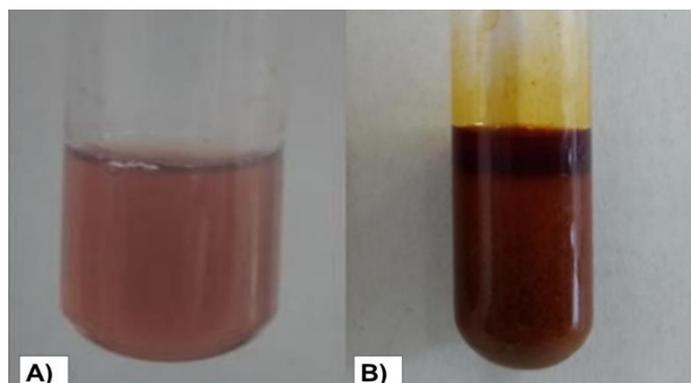


Fonte: autora (2023).

No teste utilizando a gelatina (Figura 9A) observou-se a formação de um precipitado de coloração turva. Isto acontece pelo fato de que os taninos, ao reagirem com a gelatina, mimetizam o processo biológico que os taninos realizam durante o processo de cicatrização, pois estes compostos são capazes de realizar a precipitação de proteínas através de ligação de hidrogênio localizados entre os grupos hidroxilas presentes na estrutura dos taninos e dos grupos amida presentes na gelatina (Yi *et al.*, 2006).

Os taninos também foram identificados na reação para cloreto férrico e acetato de cobre (II), pois a precipitação por sal inorgânico é um dos indicativos para esta classe de metabólitos em extratos aquosos e etanoicos (Shriner *et al.*, 2003), na Figura 9B observa-se a mudança de coloração para uma tonalidade esverdeada, confirmando a presença de tanino condensado.

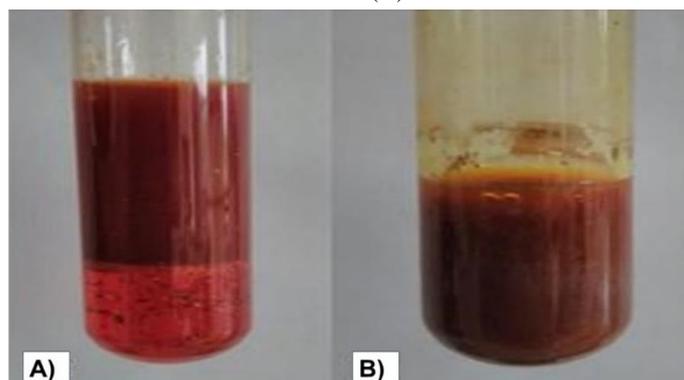
Figura 9 – Reação qualitativa para identificação de: **A)** Tanino (Gelatina); **B)** Tanino condensado (FeCl_3)



Fonte: autora (2023).

Na Figura 10A foi observado a formação de precipitado de cor avermelhada, confirmando a presença de alcaloides no extrato. Os alcaloides vêm sendo estudado desde muito tempo em virtude de suas diferentes atividades biológicas (Carvalho *et al.*, 2022). Como indicativo da presença de taninos observa-se a formação de precipitado escuro na Figura 10B.

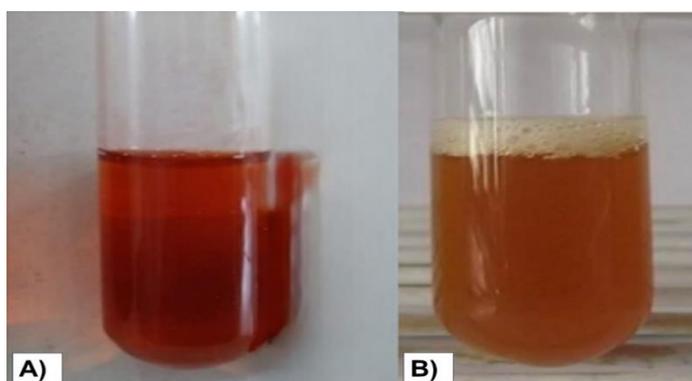
Figura 10 – Reação qualitativa para identificação de: **A)** Alcaloides; **B)** Taninos condensados (acetato de cobre (II)).



Fonte: autora (2023).

Por meio da reação oxalo-bórica foi possível observar a presença de flavonoides em virtude da formação de uma coloração amarelo esverdeada (Figura 11A) devido à atividade química do reagente utilizado na reação que tende a se associar com os grupamentos fenólicos e carbonílicos da estrutura do flavonoide (Costa, 2000). O teste qualitativo para identificação de saponinas também foi analisado nos testes realizados por Alcerito *et al.* (2002), Mafioletti (2013) e Da Rocha *et al.* (2017), onde os extratos apresentaram uma formação de espuma, confirmando a presença de saponinas no extrato, conforme Figura 11B.

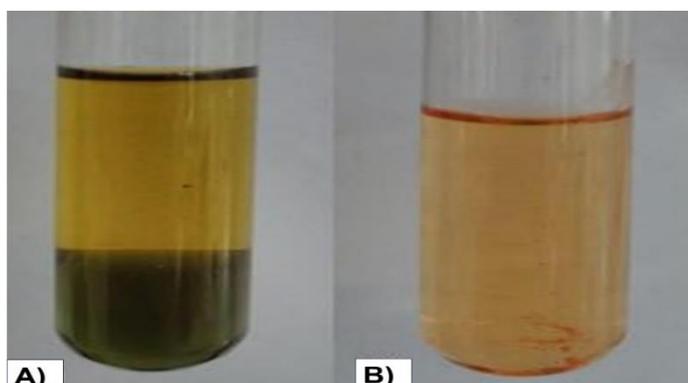
Figura 11 – Reação qualitativa para identificação de: **A)** Flavonoide (FeCl_3); **B)** Saponinas.



Fonte: autora (2023).

A presença de uma solução bifásica e de coloração esverdeada é o indicativo da presença de terpenos (Figura 12A). Os terpenos têm demonstrado alta capacidade de inibir o crescimento microbiano (Thakur; Singh; Khedkar, 2020). A reação utilizando hidróxido alcalino permitiu analisar a presença de flavonas em ambos os extratos por conta da formação de um meio reacional de coloração amarelada conforme indicado na Figura 12B, o que indica que este extrato possui flavonas com hidroxila fenólica livre.

Figura 12 – Reação qualitativa para identificação de: **G)** Terpenos; **H)** Flavonoides com hidroxila livre.



Fonte: autora (2023).

Também foram encontrados no extrato aquoso de cajuru a presença de naftoquinonas, e estes também foram descritos na literatura no que tange a sua composição química e diferentes atividades biológicas (Takemura *et al.*, 1995). As naftoquinonas, apresentam uma ampla variedade de atividades biológicas, tais como antibacteriana (Park *et al.*, 2005) e anti-inflamatória (De Almeida *et al.*, 1990), entre outras.

A reação com hidróxido de amônio (NH_4OH) permitiu analisar a presença de naftoquinonas no extrato por conta da formação de fases e a coloração avermelhada, o que indica que este extrato possui naftoquinonas, conforme Figura 13A.

Figura 13 – Reação qualitativa para identificação de: **D**) Naftoquinona.



Fonte: autora (2023).

O resultado da identificação dos metabólitos secundários presente na Tabela 5 corrobora com os resultados obtidos por Dos Santos *et al.* (2013) que identificaram no extrato bruto das folhas de *A. chica* a presença de cumarinas, saponinas, alcaloides, flavonoides, taninos e compostos fenólicos.

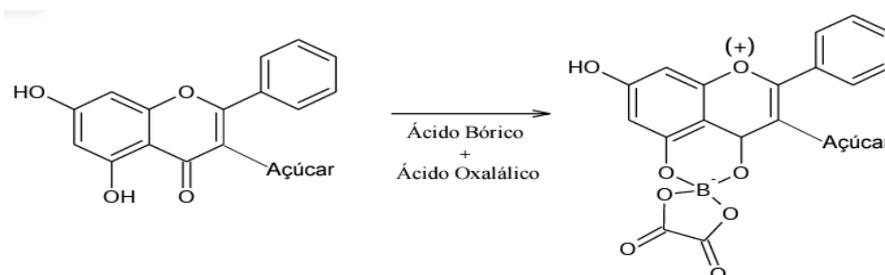
Tabela 5 – Identificação dos metabólitos secundários encontrados nos extratos aquosos de cajuru.

Classe de Metabólito	Extrato aquoso
Flavonoides	+
Taninos	+
Quinonas	+
Saponinas	+
Terpenos	+
Alcaloides	+
Naftoquinonas	+

Fonte: autora (2023).

Pode-se afirmar que a classe de flavonoides presentes no extrato aquoso do cajuru são os flavonóis que foram capazes de apresentar fluorescência (Costa, 2000). O mecanismo de interação molecular do flavonoide com o oxalo-bórico é apresentado na Figura 14.

Figura 14 – Reação oxalo-bórica como método para indicar a presença de flavonoides do tipo flavonóis.



Fonte: adaptado de Costa (2000).

De Souza *et al.* (2022), ao realizarem os testes de caracterização química do extrato de cajuru, constataram que a espécie contém entre seus metabólitos secundários flavonoides, antocianidinas e flavonas, metabólitos esses que apresentam grande atividades antileishmania (Rocha *et al.*, 2018; Silva-Silva *et al.*, 2021).

Além de flavonoides, outros metabólitos foram encontrados tais como flavonoides, antocianidinas, terpenos e chalconas. Uma mesma classe de metabólitos secundários pode variar em virtude de diversos fatores, como latitude, precipitação pluviométrica, quimiotaxonomia, gênero, parte da planta colada, sazonalidade, entre outros (Gobbo-Neto; Lopes, 2007).

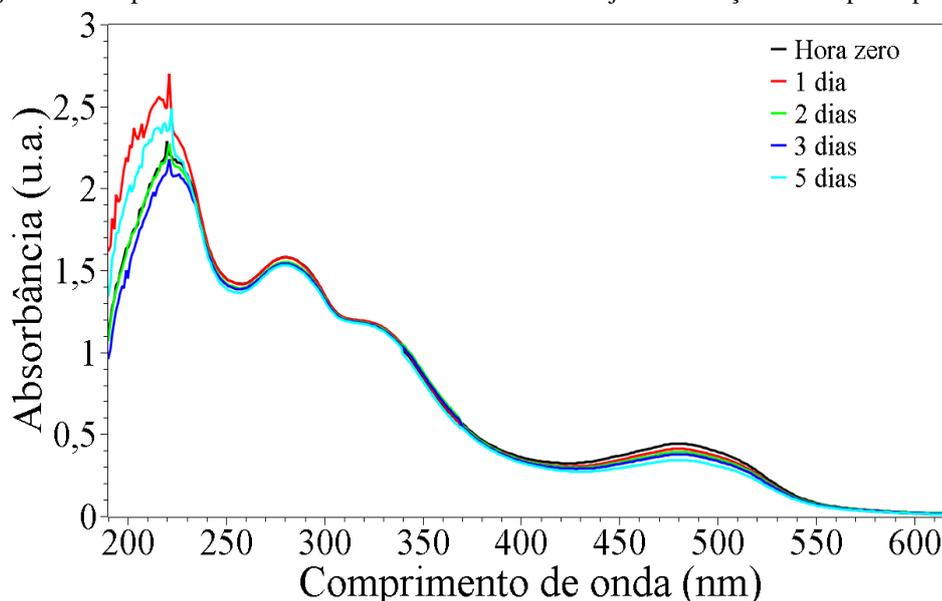
6.2 Caracterização do extrato aquoso do cajuru pela espectroscopia UV-Vis

A eficiência de extração é influenciada pela técnica de extração, propriedades da matriz dos componentes da planta, solvente de extração, temperatura, pressão e tempo (Drosou *et al.*, 2015). Com isso fez-se necessário o processo de monitoramento através da espectroscopia eletrônica UV-Vis para o extrato aquoso de cajuru na intenção de averiguar a sua estabilidade e otimização da temperatura para a produção do extrato.

O espectro mostrado na Figura 15 é relacionado ao extrato aquoso do cajuru em 90 °C que exibe quatro bandas, duas bandas moderadas nas faixas de 330 nm e 480 nm, e as duas mais intensas entre 200 nm e 280 nm, com máxima de absorção próximo a 200 nm. Após o monitoramento no UV-Vis constatou-se que o extrato puro de cajuru poderia ser usado por até cinco dias desde o seu preparo, uma vez observada a redução de 16 % na intensidade da banda

entre 200 e 220 nm nesse intervalo de tempo, os valores de absorbância sofrem uma queda de 2,2 para 2,1 u.a entre as faixas de 200 nm e 220 nm.

Figura 15 – Espectros eletrônicos UV-Vis do extrato de cajuru em função do tempo de preparo.



Fonte: autora (2023).

Ainda de acordo com a Figura 15, nota-se um deslocamento batocrômico após 24 horas na região de 200 nm para 220 nm. Segundo a literatura, esse comportamento é um indicativo de degradação de metabólitos secundários presentes em extratos vegetais, o que pode ser causado por diversos fatores, como luz, exposição ao oxigênio, tempo e temperatura (Chaves *et al.*, 2020; Nistor *et al.*, 2022). Para a síntese de AgNPs foram utilizados os extratos aquosos de cajuru até 5 dias (120 horas) após o preparo, o extrato apresentou coloração avermelha, que é uma característica típica de presença de antocianinas.

Nos resultados apresentados na Figura 15 observa-se a presença de antocianinas no extrato de cajuru. As antocianinas, quando na forma de cátion flavílico, mostram uma absorbância intensa na região do visível compreendida entre os comprimentos de onda de 465 a 530 nm (Albarici; Pessoa; Forim, 2006). Notou-se que em tempos maiores de armazenamento o extrato mudou sua coloração e tem sido reportado que a alteração de pH, estresse térmico, presença de oxigênio e tempo de estocagem são fatores que aceleram a degradação das antocianinas, sendo assim, inviabilizando o seu uso por longos períodos de tempo (Frank *et al.*, 2012; Lee; Cho, 2012).

Observa-se que com o passar dos dias existe uma diminuição na absorbância nas bandas situadas entre os comprimentos de onda de 200 à 220 nm, sendo que isso pode estar relacionado

à degradação dos metabólitos secundários presente no extrato, uma vez que os flavonoides não possuem um tempo de vida muito longo. Ademais, quando são submetidos à temperatura de extração maiores do que 80 °C apresentam um tempo de meia-vida curto e as temperaturas muito elevadas geram a degradação térmica das antocianinas, deixando-as mais instáveis (Garzon; Wrolstad, 2002; Huaranca-Huarcaya *et al.*, 2022).

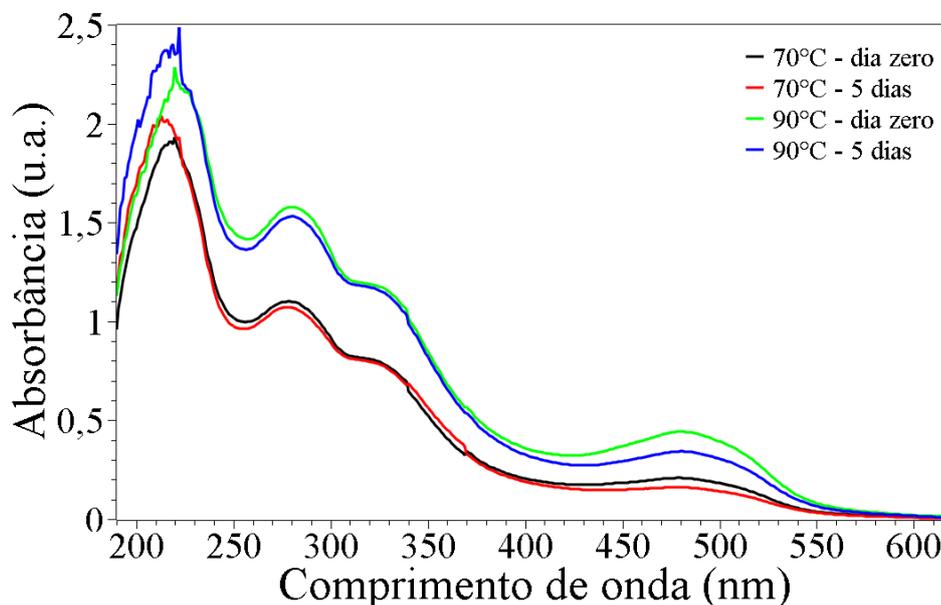
Na Figura 15 percebe-se uma banda larga com máximo próximo a 330 nm, sinal característico da classe dos flavonóis (Silveira *et al.*, 2021). Harborne (1998) menciona que as naftoquinonas têm de três a quatro máximos de absorbância em seu espectro, sendo um ou dois abaixo de 300 nm, outro entre 320 e 340 nm e outra acima de 400 nm, o que indica a presença de naftoquinonas neste extrato.

É perceptível uma queda na absorbância do sinal entre os comprimentos de onda de 465 nm e 530 nm com o passar do tempo desde a produção do extrato vegetal, relacionados a degradação das antocianinas, sendo que o estresse térmico, alterações de pH, presença de oxigênio e tempo de estocagem têm sido reportados como fatores que aceleram a degradação das antocianinas (Frank *et al.*, 2012; Lee; Cho, 2012).

Entre os comprimentos de onda de 400 nm a 500 nm tem-se uma absorbância máxima em 480 nm, característica de presença de carajurina (Servat, 2015). No estudo de Servat (2015) foi abordado o uso do crajiru em formulações e fez-se o monitoramento químico do extrato de *A. chica* realizado por LC-DAD. Previamente à análise, eliminaram-se as clorofilas e ácidos graxos utilizando cartucho C-18. Nas condições de análise, as três deoxiantocianidinas foram observadas respectivamente nos tempos de retenção TR=5,8 minutos (6,7,3',4'-tetrahidroxi-5-metoxiflavilio), TR=7,9 minutos (6,7,4'-trihidoxi-5-metoxiflavilio) e TR=15,8 minutos (6,7-dihidroxi-5,4'-dimetoxiflavilio carajurina) detectados no UV-Vis em 470 nm.

O uso da temperatura como um fator que aumenta a extração de metabólitos secundários, em especial os flavonoides, têm sido amplamente descritos na literatura. O rendimento da extração tende a aumentar gradualmente com o aumento da temperatura, indicando maior quantidade de metabólitos secundários (Mariot; Barbieri, 2007; Silva; Da Cunha, 2021), conforme Figura 16.

Figura 16 – Espectros eletrônicos UV-Vis relacionados ao acompanhamento da temperatura de extração 70 °C e 90 °C.



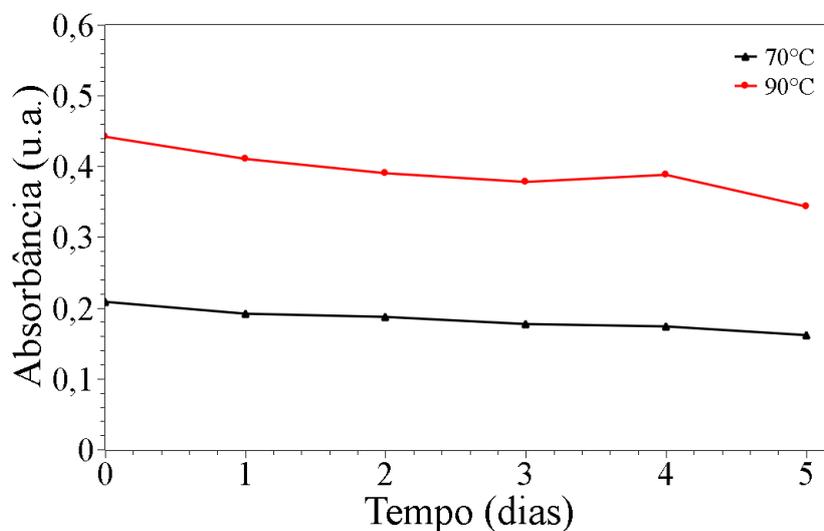
Fonte: autora (2023).

Conforme exibido na Figura 16, comparando-se a variação de absorbância entre tempo zero e cinco dias em cada temperatura de preparo dos extratos aquosos, observa-se que na temperatura de 70 °C houve uma queda de 0,21 para 0,16 (24%) dos metabólitos que estão no extrato, enquanto na temperatura de 90 °C houve uma queda de 0,44 para 0,34 (23%). Apesar de ter sido usado uma temperatura perto do limite de degradação das antocianinas, os metabólitos secundários que geram sinal em 480 nm não foram afetados significativamente pela degradação térmica.

Ainda na Figura 16 observa-se que a temperatura de extração é um fator importante para a extração de maiores quantidades de metabólitos secundários. Quando se observa a banda de 480 nm fica claro como a diferença de temperatura pode influenciar na extração dos metabólitos secundários. Com uma temperatura mais elevada observou-se maiores valores de absorbância, ou seja, a possibilidade de mais antioxidantes no meio, sendo que esse efeito protetor das antocianinas tem sido relacionado ao seu poder antioxidante, pois os compostos fenólicos, incluindo as antocianinas, possuem a capacidade de doar hidrogênios ou elétrons aos radicais (Pinto *et al.*, 2010).

Quando comparados os testes iniciais de produção de nanopartículas com extratos preparados a temperaturas abaixo de 90°C, percebe-se a formação de um número menor de AgNPs e de menor estabilidade coloidal. Uma visualização mais clara sobre a absorbância máxima da banda em 480 nm, em função da temperatura de preparo do extrato aquoso de cajuru, e do tempo decorrido de seu preparo, pode ser observado na Figura 17.

Figura 17 – Absorbância máxima em diferentes temperaturas de extração (70 °C e 90 °C) na região de 480 nm em função do tempo.



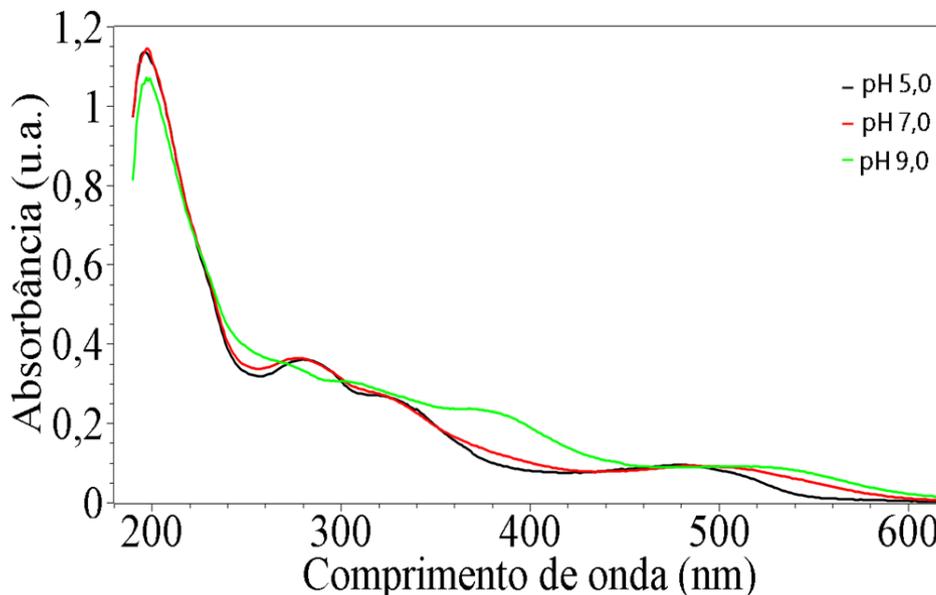
Fonte: autora (2023).

Contudo, é necessário que a temperatura para a produção do extrato não ultrapasse os 90 °C, já que o aquecimento é um dos fatores que acelera a degradação das antocianinas, conforme observado na Figura 16 e Figura 17, onde foi monitorado as temperaturas de 70 °C e 90 °C, foi possível observar um melhor desempenho na temperatura de 90 °C.

6.3 Síntese de nanopartículas

Para a realização da síntese das AgNPs foi feita a análise do extrato de crajiru concentrado através da espectroscopia eletrônica UV-Vis para averiguação da posição e da quantidade de sinais presentes em seu espectro. Nessa varredura foram localizadas três bandas, sendo duas bandas intensas na faixa de 200 nm a 300 nm, conforme Figura 18.

Figura 18 – Espectros eletrônicos UV-Vis do meio reacional em pH 5,0 (linha preta), pH 7,0 (linha vermelha) e pH 9,0 (linha verde) utilizando o extrato concentrado de cajuru.



Fonte: autora (2023).

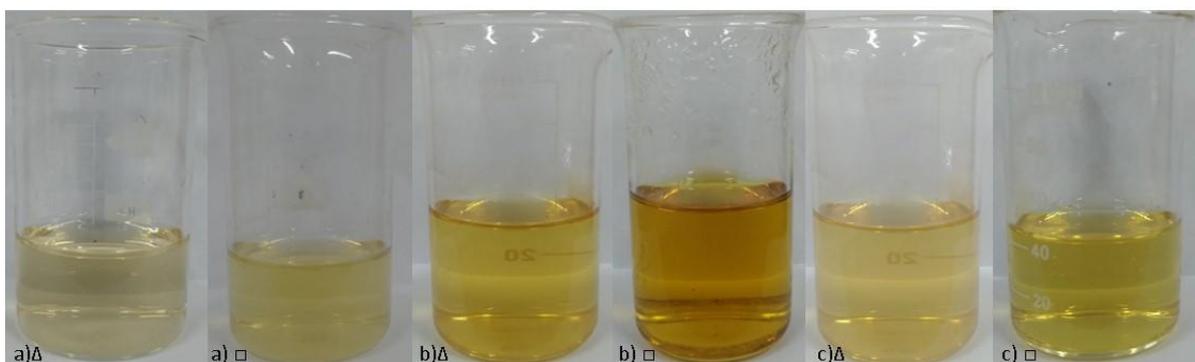
Nota-se na Figura 18, que em meio ácido (característica original do extrato) e em meio neutro o extrato comporta-se de maneira muito similar, porém, em meio alcalino alguns picos desaparecem. As estruturas das antocianinas, quando em soluções aquosas, encontram-se em diferentes equilíbrios químicos, com variadas estruturas e sua predominância é determinada pelo pH do meio (Ribeiro *et al*, 2022). Ao analisar as estruturas em meios ácidos, neutros e alcalinos, ocorre uma mudança na posição dos grupos hidroxilas nos anéis A e B com o aumento do pH, portanto, o pH pode afetar a estabilidade das antocianinas.

A primeira banda detectada apresenta um valor máximo de absorção na faixa de 200 nm, referente a transições eletrônicas entre orbitais moleculares $\pi \rightarrow \pi^*$ associados ao sistema ressonante dos anéis aromáticos. A segunda banda, com o máximo de absorbância de 280 nm, corresponde a transições eletrônicas ente orbitais moleculares $n \rightarrow \pi^*$ de carbonilas, no qual pares de elétrons não ligantes (n) do heteroátomo são promovidos para orbitais π^* (Pavia *et al.*, 2010).

6.4 Síntese de AgNPs em diferentes concentrações de extrato de cajuru

O teste inicial para produção das AgNPs foi realizado em pH 9,0. A primeira mudança identificada nos meios reacionais nas condições de diluição do extrato vegetal foi a mudança de coloração com o progresso da reação. Com o decorrer do tempo tornou-se castanho claro, como apresentado na Figura 19.

Figura 19 – Imagens do meio de reação de produção das AgNPs em pH 9,0 nas diferentes condições de extrato de cajuru após 1 hora (Δ) de reação e 1 dia (\square) de reação: a) condição 1:1; b) condição 1:2; c) condição 1:4.

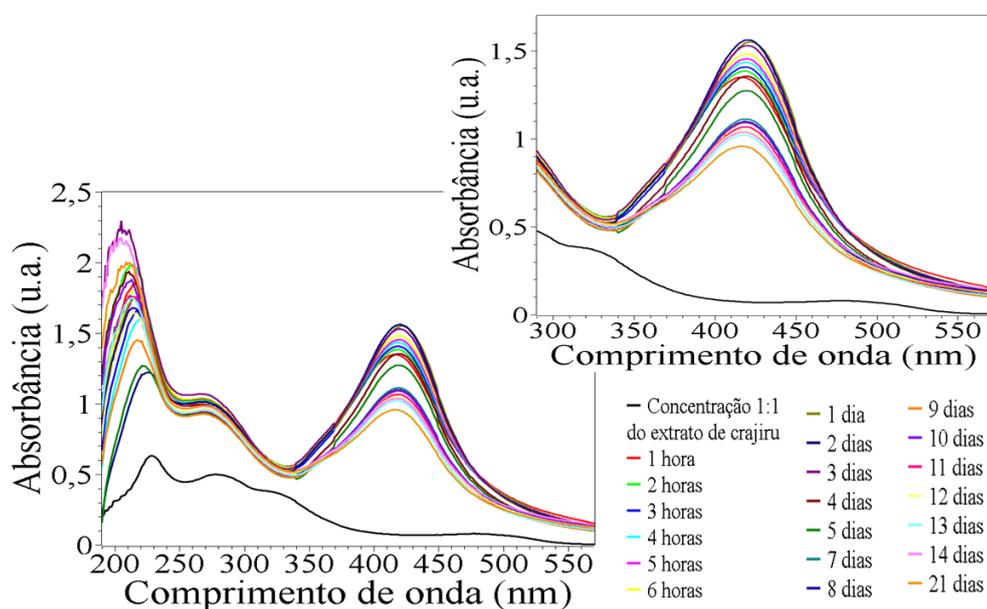


Fonte: autora (2023).

Essa mudança de coloração é associada a formação de um sistema nanoparticulado, uma vez que as dispersões de nanopartículas de prata exibem como característica cores do amarelo ao castanho claro referente à ressonância de *plasmon* de superfície (RPS) da prata nanoparticulada (Rolim *et al.*, 2019).

Observou-se a definição na banda de condução de RPS próximo da faixa entre 380-450 nm (Kobylinska *et al.*, 2020), característico das nanopartículas de prata. No entanto, houve alteração na coloração do sistema e aumento nos valores de absorvância, indicando a formação de NPs, conforme Figura 20.

Figura 20 – Acompanhamento por 21 dias no espectro eletrônico UV-Vis dos meios de reação em pH 9,0 para a formação das AgNPs na condição 1:1 de diluição do extrato de cajuru.

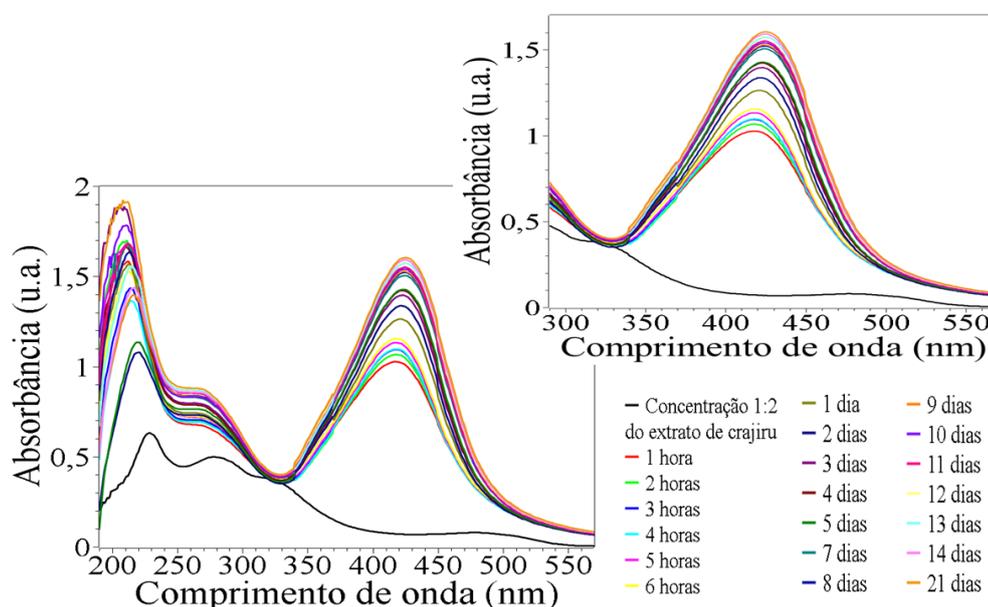


Fonte: autora (2023).

É possível observar um aumento no máximo de absorção na banda próximo da faixa de 280 nm, possivelmente devido a oxidação dos compostos fenólicos presentes no extrato de cajuru para a formação de grupos carbonilas (C=O), as estruturas que exibem as transições eletrônicas entre orbitais moleculares $n \rightarrow \pi^*$ (Pavia *et al.*, 2010) nessa região de comprimento de onda. O aumento de intensidade da banda em 280 nm pode ocorrer de forma proporcional à oxidação dos flavonoides (formando carbonilas), ou seja, quanto mais carbonilas forem formadas, maior será a intensidade da banda.

Na Figura 21 é observa-se o surgimento da banda RPS das AgNPs na faixa de 380-450 nm após uma hora de reação, com a absorbância máxima registrada em 430 nm. A banda RPS da condição 1:2 apresentou uma banda mais estreita que a condição 1:1, indicando a formação de AgNPs mais uniformes e estáveis (Mosaviniya *et al.*, 2019).

Figura 21 – Acompanhamento por 21 dias no espectro eletrônico UV-Vis dos meios de reação em pH 9,0 para a formação das AgNPs em diferentes tempos de reação, na condição 1:2 de diluição do extrato de cajuru.



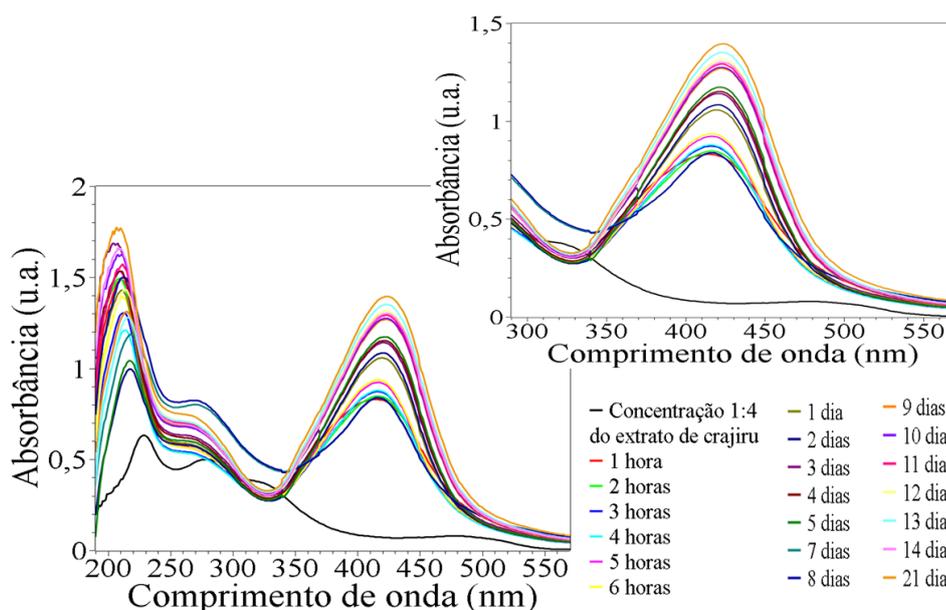
Fonte: autora (2023).

Assim como a condição 1:1 (Figura 20), na condição 1:2 (Figura 21) observa-se o surgimento da banda RPS das AgNPs na faixa de 380-450 nm após uma hora de reação, com a absorbância máxima registrada em torno de 430 nm. Com o surgimento da banda RPS houve

também o aumento no máximo de absorção do sinal próximo da faixa de 280 nm, associado a oxidação dos compostos fenólicos encontrados no extrato de cajuru formando grupos carbonilas que exibem transições eletrônicas entre orbitais moleculares $n \rightarrow \pi^*$ nessa faixa de comprimento de onda. Apesar da condição 1:1 e 1:2 apresentarem intensidade e forma das bandas similares, o que as difere é a estabilidade que cada uma apresentou ao decorrer do acompanhamento de 21 dias.

Em comparação as três condições, a concentração onde teve menos formação de nanopartículas na banda RPS foi a condição de diluição 1:4 do extrato vegetal, conforme exibido na Figura 22. Isso pode estar relacionado a menor quantidade de metabólitos secundários presente no meio para transformar a Ag^+ em Ag^0 .

Figura 22 – Espectros eletrônicos UV-Vis dos meios de reação em pH 9,0 para a formação das AgNPs em diferentes tempos de reação na condição 1:4 de diluição do extrato de cajuru.



Fonte: autora (2023).

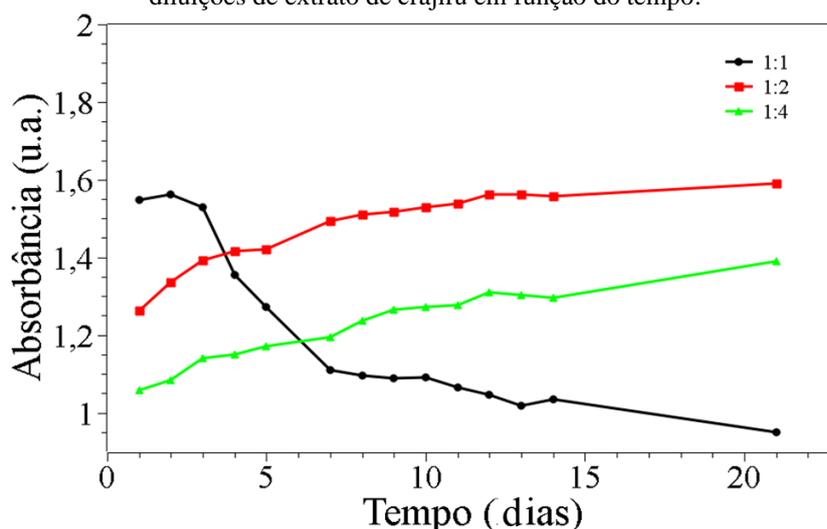
Nota-se um efeito batocrômico que ocorre com o máximo da banda RPS durante os 21 dias de acompanhamento. Observa-se que o máximo está se deslocando para maiores comprimentos de onda, indicando que as NPs estão ficando possivelmente maiores com o progresso da reação. Esse efeito é mais visível nas condições 1:2 e 1:4 porque a quantidade de AgNPs formadas nessas 2 condições aumenta com o passar do tempo, o que não acontece com a 1:1 durante todo o período de 21 dias.

Na Figura 23 é disposto o gráfico com os dados de absorbância em função do tempo para diferentes diluições de extrato de cajuru, percebe-se que é uma reação instantânea,

contudo, apresenta lentidão no progresso da reação. Nota-se que duas das condições investigadas apresentaram aumentos nos seus valores de absorbância com o tempo, mesmo em tempos reacionais longos.

Para a condição com elevada concentração de metabólitos secundários (condição 1:1) foi observado nas primeiras 24 horas de monitoramento, valores de absorbância superiores as condições mais diluídas (condições 1:2 e 1:4), associados à presença de maiores concentrações de metabólitos secundários, de modo a favorecer uma maior taxa de formação de nanoestruturas. A partir de 72 horas de reação, a formação de AgNPs em função do tempo diminui para a condição 1:1, assim foram observados menores valores de absorbância em relação às condições mais diluídas, ou seja, houve a produção de menores parcelas de AgNPs com o progresso da reação.

Figura 23 – Absorbância máxima da banda RPS (430 nm) dos meios de reação em pH 9,0 em diferentes diluições de extrato de cajuru em função do tempo.



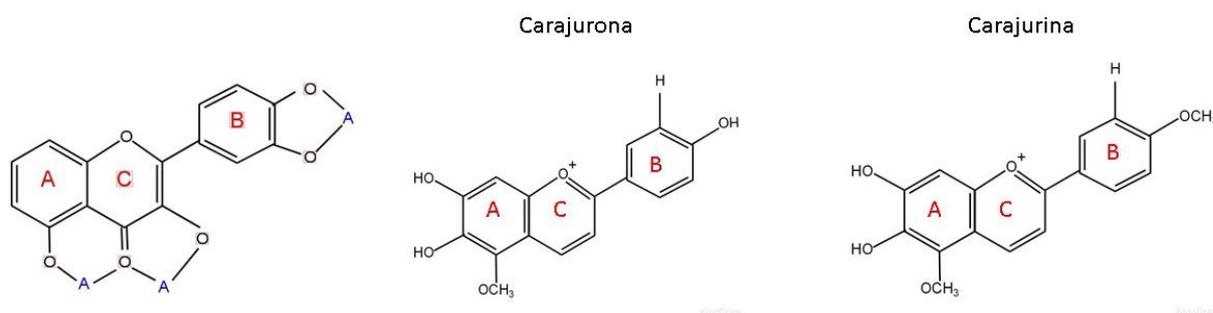
Fonte: autora (2023).

Estes resultados diferem de estudos publicados, como por exemplo o trabalho Kalaki, Safaeijavan e Faraji (2018) que, ao investigar a síntese de AgNPs mediada por extratos de hortelã-silvestre (*Mentha longifolia L.*), obtiveram um maior rendimento de nanopartículas com diferentes tamanhos ao utilizar maiores concentrações de extrato vegetal em diferentes tempos reacionais.

Uma possível explicação para esse fenômeno está na característica composicional do extrato de cajuru. Nele, os principais metabólitos secundários encontrados são flavonoides, principalmente as antocianinas (6,7,3',4'-tetraidroxi-5-metoxi-flavílio, 6,7,3'-trihidroxi-5-dimetoxiflavílio e 6,7-dihidroxi-5,4'-dimetoxiflavílio em maiores concentrações). Dessa

forma, vislumbra-se a existência de uma competição entre o efeito quelante e a redução dos íons prata quando a concentração de metabólitos secundários do extrato de cajuru é alta, prejudicando a estabilidade do sistema nanoparticulado. Abaixo estão ilustrados os possíveis sítios quelantes de flavonoides encontrados no extrato de cajuru com íons metálicos.

Figura 24 – Estrutura química representativa dos flavonoides e os seus sítios quelantes (A = íon metálico) ao lado das estruturas químicas do extrato de cajuru.



Fonte: Adaptado de Zorn *et al.* (2001).

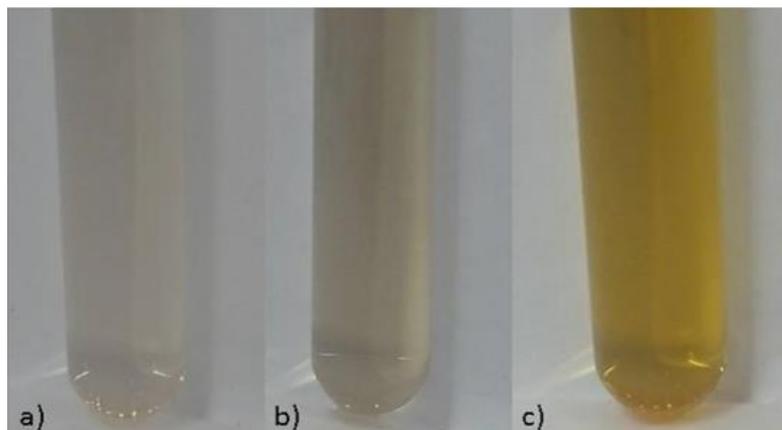
Nota-se que os valores de absorvância para as condições mais diluídas (condição 1:2 e 1:4 do extrato de cajuru), a produção de AgNPs é inferior no apenas no início da síntese, com o progresso da reação a taxa de formação das nanoestruturas é crescente e a condição 1:2 apresentando uma maior progressão. Os resultados demonstram que condições intermediárias de extrato de cajuru proporciona maior formação de AgNPs para tempos reacionais acima de 3 dias. Nessa perspectiva, as condições 1:2 e 1:4 apresentam-se adequadas para investigar os parâmetros de reação subsequentes.

6.5 Síntese de AgNPs em valores diferentes de pH

O pH é um parâmetro físico-químico importante na produção de nanoestruturas, uma vez que a acidez ou basicidade do meio reacional pode afetar o tamanho e forma das partículas produzidas (Fernando; Zhou, 2019). A Figura 25 exibe as imagens da condição 1:2 de diluição do extrato de cajuru nos diferentes valores de pH para o mesmo tempo de síntese (1 dia).

É possível notar a diferença de coloração de acordo com os valores de pH adotados em cada uma das reações. Para os valores de pH 7,0 (Figura 25B) e 9,0 (Figura 25C) observa-se uma cor mais intensa e próximo do castanho claro, indicando a formação de AgNPs (Mohaghegh *et al.*, 2020). Para o pH de reação 5,0 (Figura 25A) a alteração da coloração do meio reacional é notada de forma menos intensa, podendo ser o indicativo da presença de menores quantidades de nanopartículas formadas (Velu *et al.*, 2017).

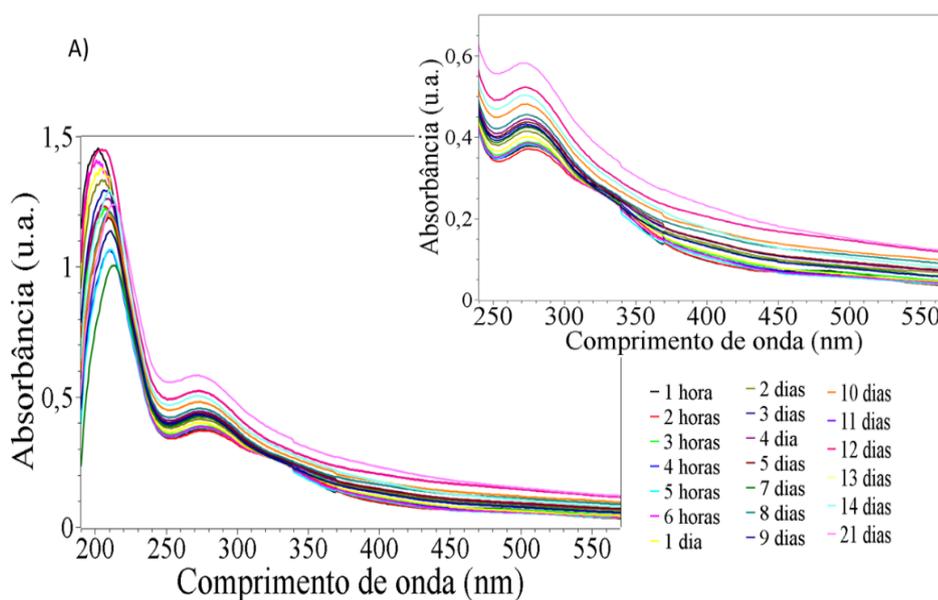
Figura 25 – Imagens do meio de reação em diferentes valores de pH após 1 dia de reação empregando a condição 1:2 de diluição extrato de cajiru: a) pH = 5,0; b) pH = 7,0; c) pH = 9,0.

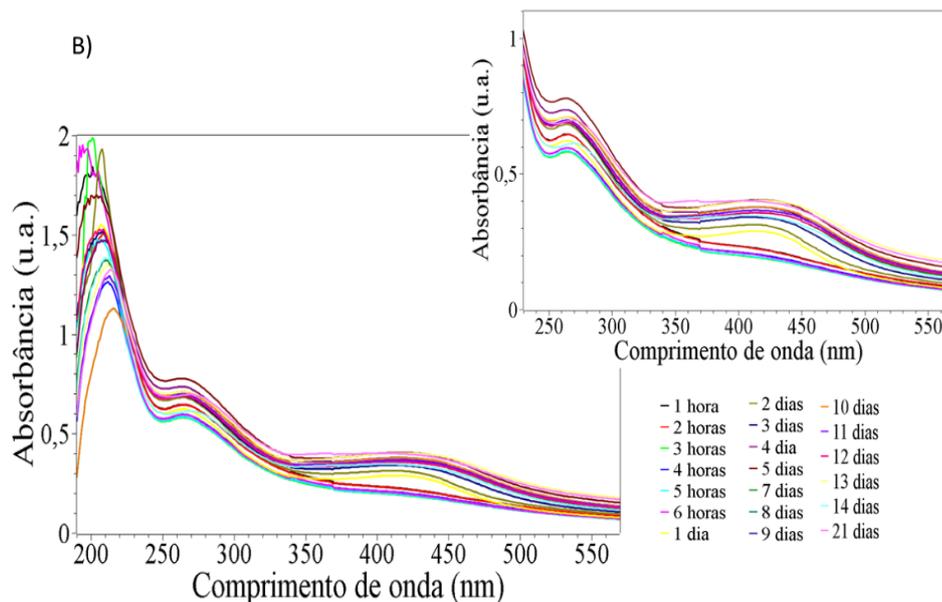


Fonte: autora (2023).

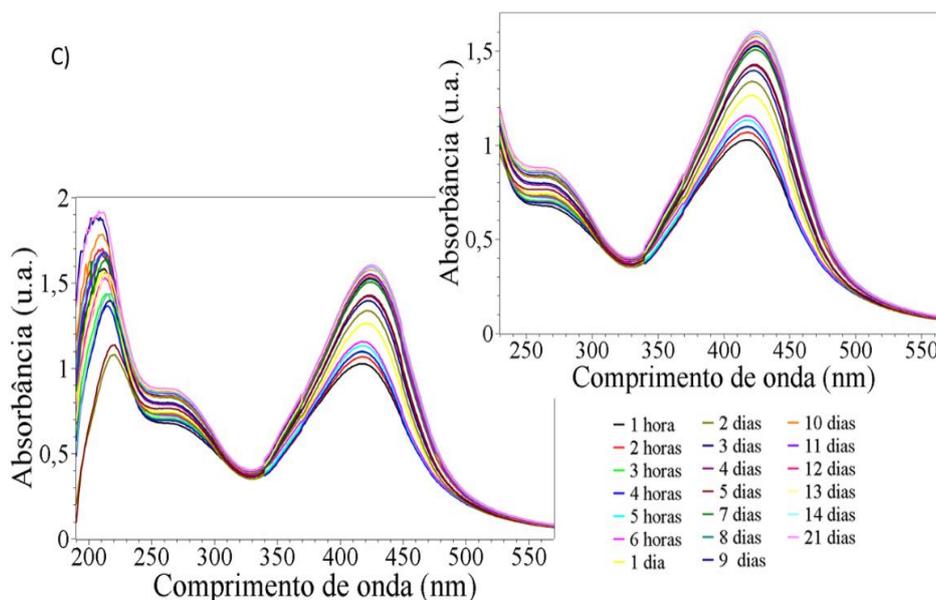
Na Figura 26 são apresentados os espectros UV-Vis dos meios de reação para a produção de AgNPs em pHs 5,0, 7,0 e 9,0. Na Figura 26A, nota-se que as condições de síntese em pH 5,0 não favorece a formação de nanopartículas, esta conclusão é evidenciada pela ausência de um sinal definido próximo a região de 400 nm, característico da banda RPS (Alzahrani, 2020). Na Figura 26B, que apresenta o meio reacional ajustado para pH 7,0, identificou-se a formação da banda RPS com baixa definição na região de comprimento de onda entre 380-450 nm, referente à formação de AgNPs, após 1 dia de monitoramento do progresso da reação.

Figura 26 – Espectros UV-Vis dos meios reacionais para a condição 1:2 de diluição do extrato em diferentes pHs: A) pH 5,0; B) pH 7,0; C) pH 9,0.





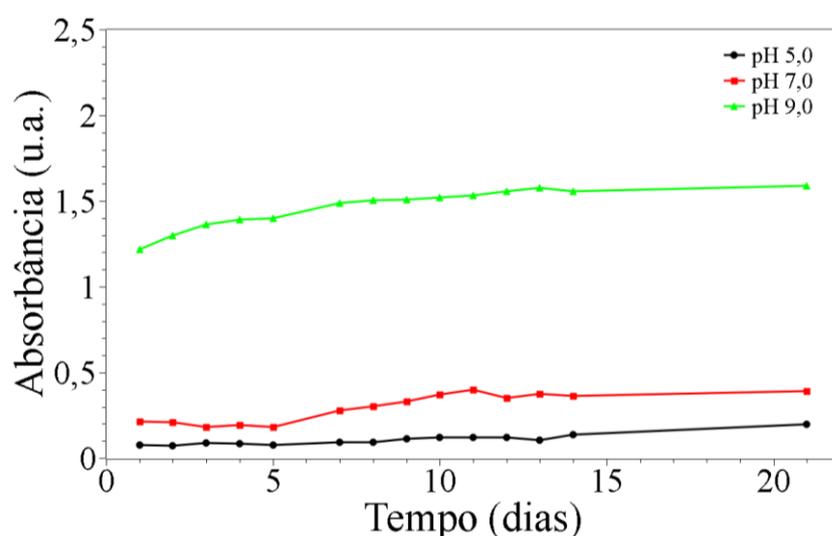
No meio reacional de pH 9,0 (Figura 26C) foi possível identificar claramente uma formação maior de nanopartículas na banda RPS após o 1 dia de síntese das AgNPs. Dentre as condições estudadas nos diferentes meios reacionais, a partir das leituras dos valores máximos de absorbância, observou-se uma maior quantidade de nanopartículas formadas utilizando pH 9,0, confirmando estudo feito por Guimarães *et al.* (2020) sobre a obtenção de AgNPs mediadas por extrato de folha de juazeiro (*Ziziphus joazeiro*) e por Santos *et al.* (2023) na obtenção de AgNPs mediadas por extratos aquosos de tucumã (*Astrocaryum aculeatum*).



Fonte: autora (2023).

Na Figura 27 são apresentados os dados de absorbância máxima em função do tempo para os meios ácido (pH 5,0), neutro (pH 7,0) e alcalino (pH 9,0). Após o primeiro dia de síntese, foi observado a baixa formação de AgNPs nos meios ácido e neutro. Em contrapartida, houve uma elevada formação de AgNPs no meio alcalino, formando bandas mais estreitas, atingindo absorbância máxima de 1,6 u.a. após sete dias. Esse estreitamento da banda RPS sugere nucleação e a formação de nanopartículas de formato esferoideais e de tamanhos menores (Liu *et al.*, 2018; Yusuf *et al.*, 2020).

Figura 27 – Absorbância máxima da banda RPS em 430 nm e pHs diferentes em função do tempo para a condição 1:2 de diluição do extrato de cajiru: A) pH 5,0; B) pH 7,0; C) pH 9,0.



Fonte: autora (2023).

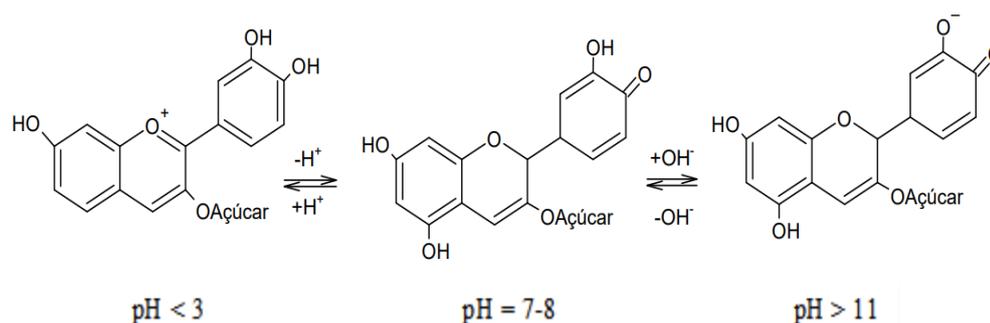
Segundo Rodriguez *et al.* (2017), a sensibilidade da síntese das nanopartículas de prata ao pH se deve à velocidade com que os metabólitos secundários redutores liberam íons H^+ dos grupos $-OH$ e dos elétrons que reduzem os íons prata ao seu estado metálico. Quando se tem uma condição com um pH alto, a concentração de íons H^+ na solução é baixa e a quebra da ligação $O-H$ é facilitada, causando rápida dissociação e subsequente redução de grande quantidade de íons prata, levando à formação de vários núcleos. Como resultado, a concentração de átomos metálicos reduzidos aumenta e ocorre o crescimento acelerado dos núcleos para formar nanoestruturas.

Em meio neutro, a taxa na qual os metabólitos se dissociam é menor, assim como o número de núcleos formadas. Em pH baixo, a concentração de íons H^+ na solução é maior, causando uma dissociação ainda menor dos metabólitos secundários redutores presentes no extrato, acarretando em uma baixa formação de AgNPs.

Conforme monitoramento obtido através de espectroscopia UV-Vis para os meios de reação neutro e alcalino indicam que o pH influencia de forma direta na reatividade dos metabólitos secundários encontradas no extrato de crajiru. Isso se deve porque as antocianinas, que é uma das principais espécies presentes nesse extrato vegetal, possui alta capacidade antioxidante, e apresentam diferentes estabilidades químicas em meios básicos (Jiang *et al.*, 2019).

As antocianinas possuem estruturas complexas e o grau de complexidade é maior em meios aquosos por encontrarem-se em diferentes equilíbrios químicos dependendo do pH do meio reacional (Freitas, 2019). Os equilíbrios encontrados para as antocianinas em função do pH estão descritos na Figura 28 Embora a estabilidade mude, a velocidade limitante da reação está associada com a retirada do H^+ dos grupos $-OH$ que é favorecido em meio básico.

Figura 28 – Representação das estruturas das antocianinas encontradas em função do pHs.



Fonte: Adaptado de Wahyuningsih *et al.* (2017).

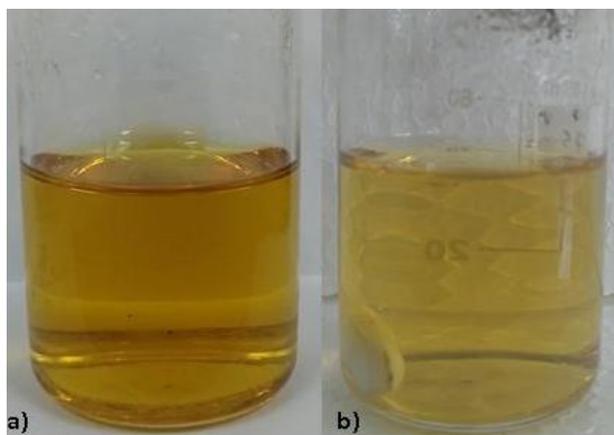
6.6 Síntese de AgNPs em valores diferentes de temperatura

A temperatura empregada para produzir nanoestruturas mediada por extratos vegetais é um parâmetro físico-químico importante a ser investigado, principalmente por ter capacidade de alterar a cinética de reação, influenciando a taxa de formação e tamanho das AgNPs (Dada *et al.*, 2019).

Na Figura 29 é disposto imagens do meio reacional após 1 dia de síntese para a condição 1:2 de diluição do extrato de crajiru em pH 9,0 nas temperaturas de 25 °C e 50 °C. Nota-se que para ambas as temperaturas houve a alteração de coloração do meio reacional para um tom de castanho claro, característica associada a síntese de nanopartículas de prata (Mohaghegh *et al.*, 2020). A mudança de coloração é observada em intensidades diferentes, no qual as condições em temperatura elevada (50 °C) exibem uma menor intensidade, ou seja, um possível indicativo

de menores quantidades de AgNPs no meio reacional do que na temperatura de 25 °C (Figura 29a).

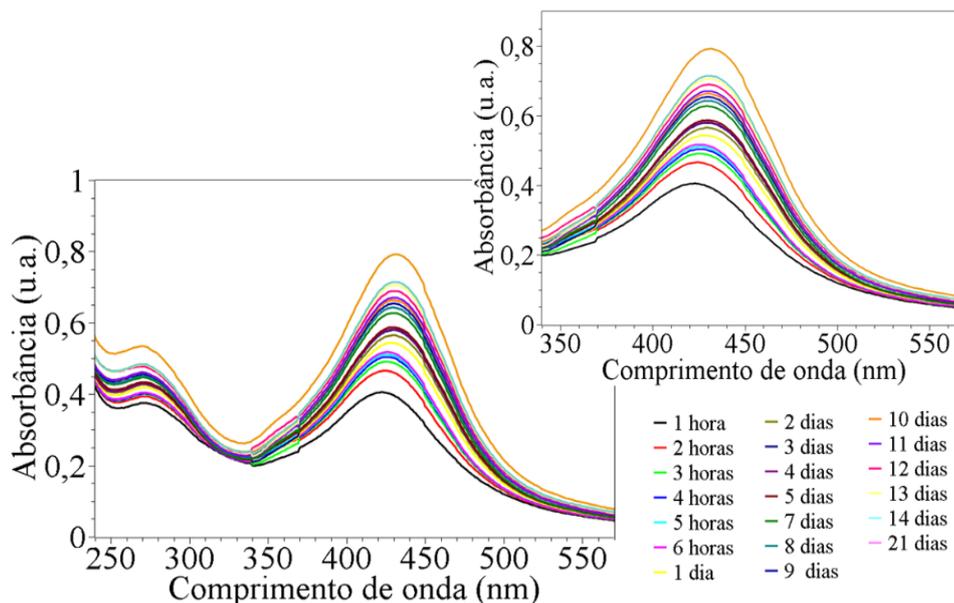
Figura 29 – Imagens do meio de reação em diferentes temperaturas após 1 dia empregando a condição 1:2 de diluição de extrato de cajuru: a) 25 °C, b) 50 °C.



Fonte: autora (2023).

Na Figura 30 são apresentados os espectros UV-Vis dos meios reacionais em temperaturas de 25 °C e 50 °C para a condição 2 do extrato de cajuru em pH 9,0. Observa-se a formação da banda RPS entre os comprimentos de onda 380-480 nm, associado à presença de AgNPs. Com o progresso da reação o sinal da banda RPS se intensifica, havendo aumento nos valores de absorbância, evidenciando a formação de mais nanoestruturas em meio aquoso. Quando realizado o comparativo das diferentes temperaturas, nota-se que as condições em temperaturas elevadas (50 °C), os valores de absorbância da banda RPS são inferiores aos de temperatura ambiente (25 °C).

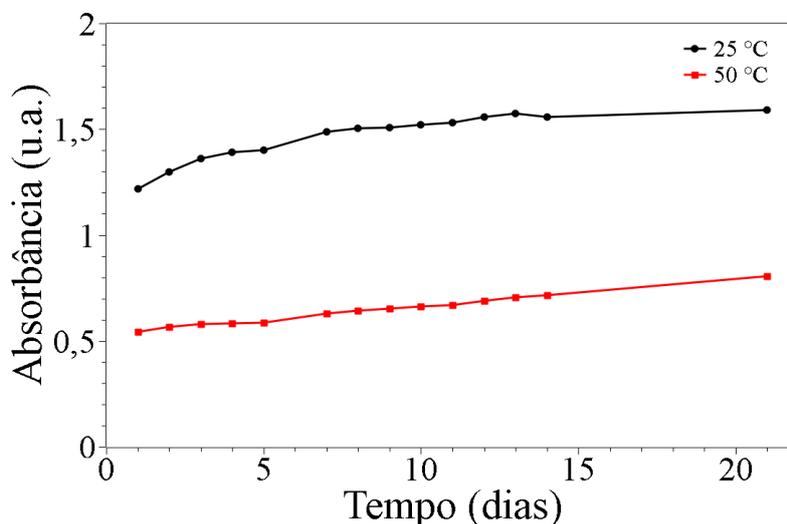
Figura 30 – Espectros UV-Vis do meio reacional em pH 9,0 para a condição 2 de extrato de cajuru em temperatura de 50 °C.



Fonte: autora (2023).

Na Figura 31 são apresentados os valores de absorbância máxima da banda RPS para a condição 1:2 de diluição do extrato de cajuru em pH 9,0 para os dois valores de temperatura investigados. Durante todo o tempo de reação, nota-se os valores de absorbância da banda RPS para a temperatura elevadas (50 °C) se mantêm inferiores ao obtidos em temperatura ambiente, ou seja, com progressão da síntese há menores quantidades de nanoestruturas formadas no meio reacional, aquecido em função do tempo, em comparação com o meio de reação sem aquecimento.

Figura 31 – Absorbância máxima da banda RPS (430 nm) da condição 1:2 de diluição do extrato de cajuru em pH 9,0 e em diferentes temperaturas e em função do tempo.



Fonte: autora (2023).

Ao se elevar a temperatura, esperava-se incrementar a taxa de formação de produtos na reação estudada pelo aumento da energia cinética dos reagentes para reduzir os íons Ag^+ em Ag^0 , obtendo maiores rendimentos e nanoestruturas de menores tamanhos. Contudo, o aumento de temperatura possivelmente proporcionou a degradação dos diferentes metabólitos secundários presentes no cajuru, como as antocianinas (carajurina e carajurona), metabólitos capazes de auxiliar na redução da prata e formar AgNPs.

Diversos estudos evidenciaram a sensibilidade à temperatura de metabólitos secundários como as antocianinas, no qual sofrem degradação ao serem expostos a temperaturas acima de 90°C (Ng; Cheok, 2020; Tecucianu; Draghici; Oancea, 2020). Portanto, altas temperaturas podem contribuir de forma desfavorável a síntese de AgNPs, afetando a concentração metabólitos secundários do extrato de cajuru e reduzindo a capacidade redutora deste meio reacional.

6.7 Provável mecanismo de síntese de AgNPs mediada por extratos de cajuru

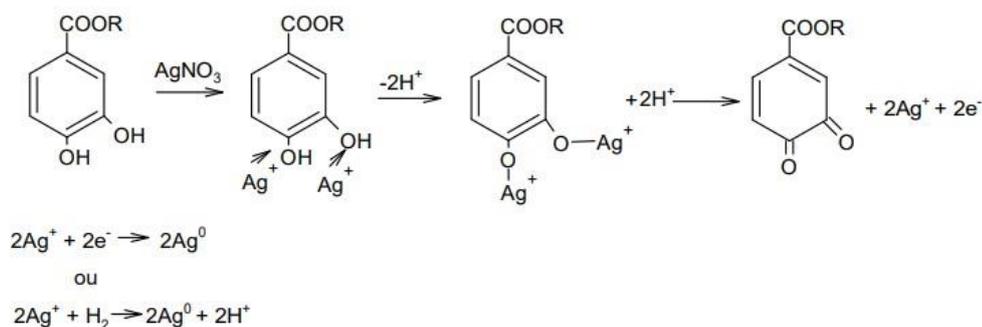
O mecanismo de biossíntese de nanopartículas metálicas mediada por extrato vegetais ainda não é totalmente compreendido (Vijayaraghavan; Ashokkumar, 2017) devido à multiplicidade de metabólitos secundários presentes em diferentes extratos vegetais e que podem ser mais ou menos reativas dependendo de muitos fatores, como o método de extração, as funções químicas presentes, associação com outras biomoléculas, entre muitas outras.

Em geral, o processo de formação das nanopartículas de prata pode ser generalizado em três etapas diferentes, a primeira etapa é o processo de nucleação, que consiste na redução dos íons Ag^+ para Ag^0 para a formação de pequenos germens. Em seguida é iniciada a etapa de crescimento, onde acontece a agregação dos germens e/ou incorporação de mais átomos de prata reduzidos a eles, formando as nanopartículas de prata. Por fim, a última etapa consiste no recobrimento da superfície das nanoestruturas formadas por biomoléculas do extrato vegetal, dificultando o processo de agregação e crescimento sem controle das partículas (Kobylinska *et al.*, 2020).

O estudo de Rao e Paria (2013) sugeriu um mecanismo de síntese de AgNPs para compostos fenólicos (taninos) encontrados no extrato da folha de *Aegle marmelos* (marmeleiro da Índia), via reação de complexação e redução da prata (Figura 32). A ação de taninos e outros compostos polifenólicos (uma ou mais hidroxilas ligadas a um anel aromático) presentes em extratos vegetais aquosos na síntese de nanopartículas por uma reação redox é bem descrita na

literatura, onde estes compostos são apontados como responsáveis pela redução de íons metálicos e revestindo as nanopartículas, evitando sua agregação (Menon; Rajeshkumar; Kumar; 2017; Rao; Paria, 2013).

Figura 32 – Mecanismo proposto para compostos fenólicos encontrados no extrato da folha do marmeleiro da Índia (*Aegle marmelos*).

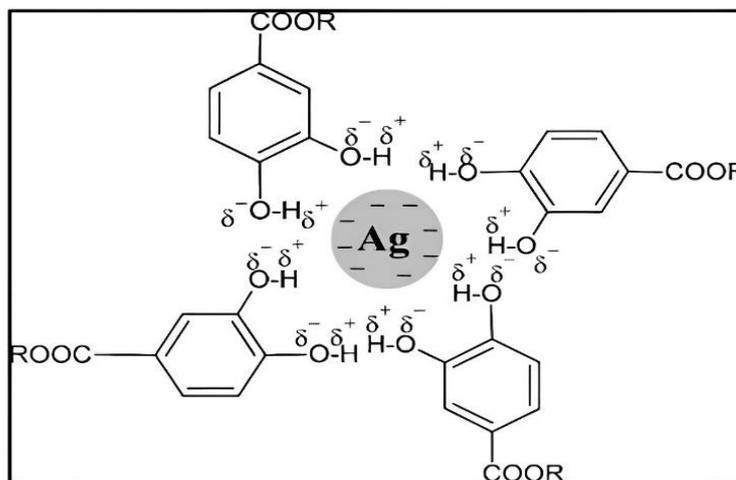


Fonte: Adaptado de Rao e Paria (2013).

O meio básico pode favorecer a formação de nanopartículas a partir de compostos fenólicos encontrados nos extratos através da ativação dos grupos fenólicos, aumento da solubilidade, estabilização coloidal e controle do processo de nucleação e crescimento das nanopartículas. A combinação desses fatores podem contribuir para a formação eficiente e estável das AgNPs em meio básico.

Logo, sugere-se que a redução ocorra a partir dos grupos hidroxila presentes no anel benzênico. Inicia-se com a oxidação do tanino na presença de íons Ag^+ , com a formação de um complexo intermediário. Os íons Ag^+ são reduzidos a Ag^0 e que colidem, formando aglomerados. Possivelmente, a estabilização do crescimento das nanopartículas ocorre por encapsulamento pelos compostos polifenólicos (Rao; Paria, 2013), conforme mostrado nas Figuras 32 e 33.

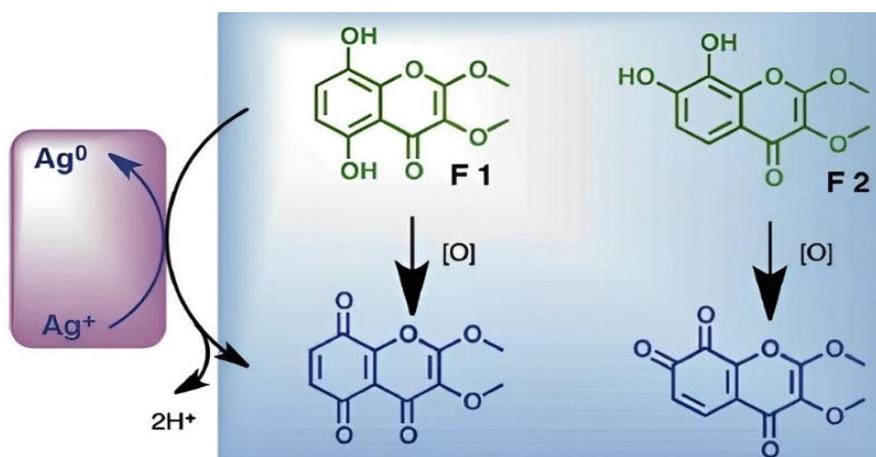
Figura 33 – Esquema representativo do efeito de encapsulamento das nanopartículas de prata por compostos fenólicos.



Fonte: Adaptado de Rao e Paria (2013).

Mittal *et al.* (2014) também propuseram um mecanismo para a síntese de nanopartículas de prata mediada por extrato a fruta jamelão (*Syzygium cumini*). Neste processo, dois membros de compostos flavonoides (com polaridades diferentes) presentes no extrato vegetal reduzem a prata catiônica para a Ag^0 também por meio de uma reação redox (Figura 34), através da oxidação dos átomos de H encontrados nos grupos OH das estruturas para a formação de enonas/dicarbonilas.

Figura 34 – Mecanismo de síntese de nanopartículas de prata para compostos flavonoides do extrato do jamelão (*Syzygium cumini*).



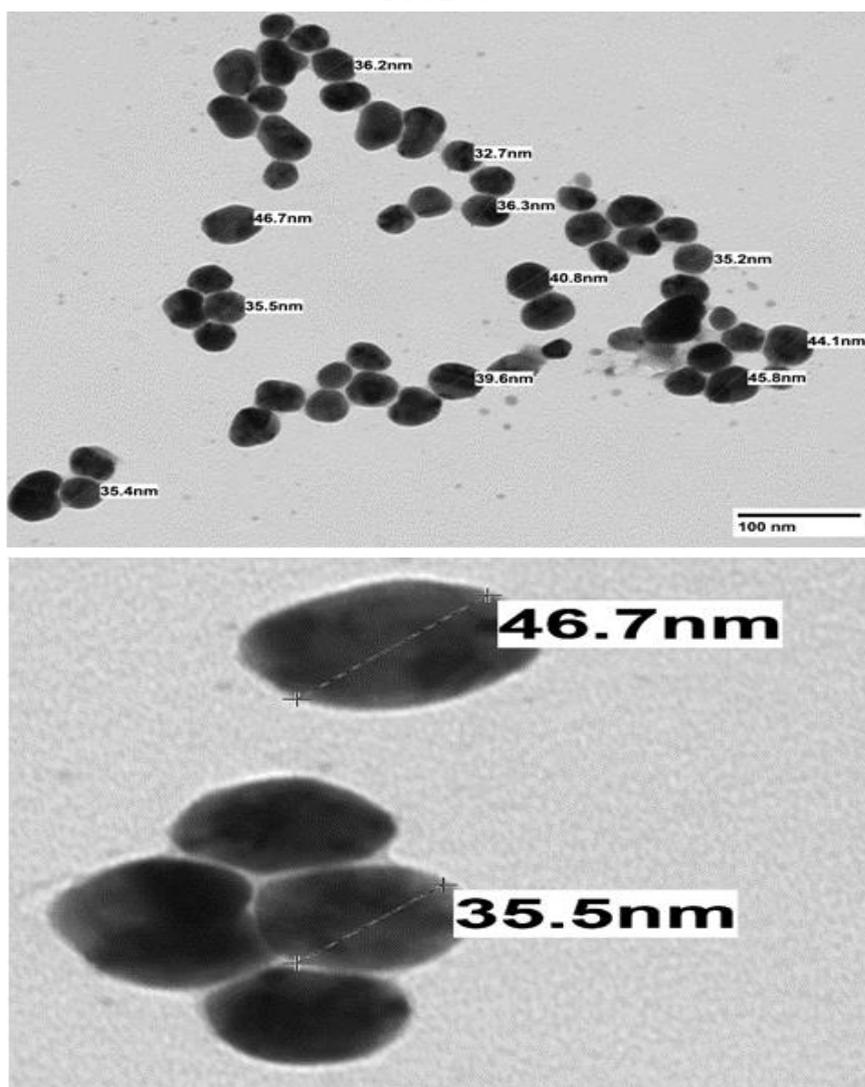
Fonte: Adaptado de Mittal *et al.* (2014).

Considerando da síntese mediado da extrato aquoso de cajuru, a literatura reporta que não seria apenas um ou dois metabolitos secundários que fariam a redução da prata, uma vez que ainda não foi feito um estudo mais detalhado sobre isso, ou seja, afirma-se que os responsáveis para redução dos íons Ag^+ em Ag^0 seria o conjunto de biomoléculas presente no extrato.

6.8 Microscopia eletrônica de transmissão TEM

A microscopia eletrônica de transmissão é utilizada para revelar a morfologia das AgNPs em escala nanométrica a micrométrica (Gomathi *et al.*, 2020). Na Figura 34 estão as imagens das nanopartículas de prata em pH 9,0, temperatura de 25°C e condição 1:1 de diluição de extrato de cajuru.

Figura 35 – Imagens TEM da reação de AgNPs obtidas em pH 9,0 e diluição do extrato de cajuru da condição 1:1 a 25°C.

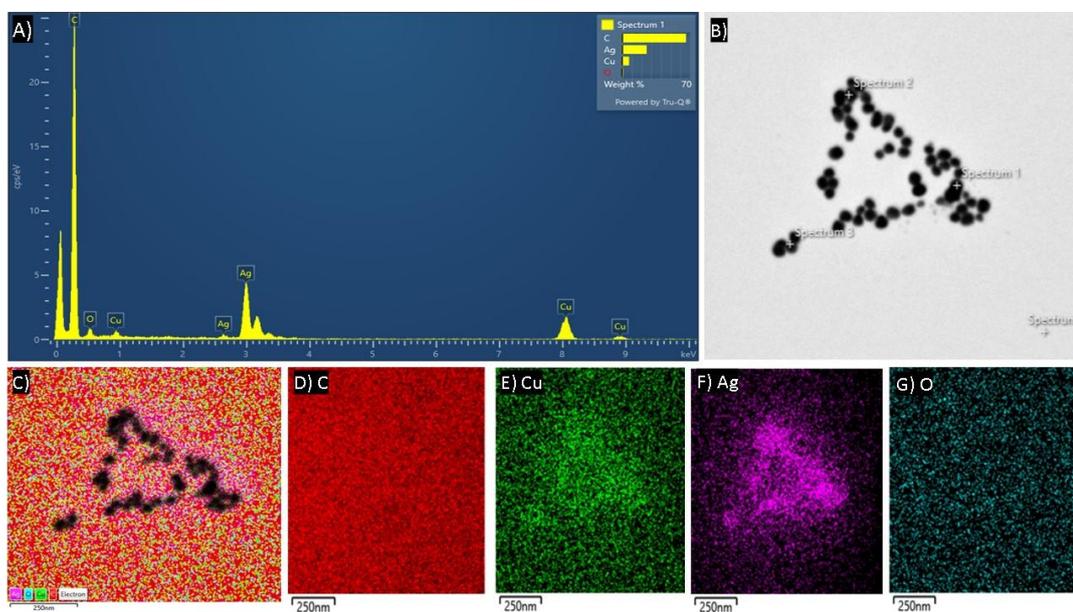


Fonte: autora (2023).

Nessas condições observa-se a presença de nanopartículas de prata mais aglomeradas em comparação às outras condições de síntese que serão discutidas em sequência. Há uma predominância de nanopartículas esféricas, esféricas facetadas e com tamanhos encontrados variando de 32,7 a 46,7 nm. Esse fato corrobora com o que foi observado anteriormente através da banda RPS alargada e com uma menor absorbância pela espectroscopia UV-Vis, apresentando maior variabilidade de dimensões quando comparadas às NPs mais monodispersas, sendo que esta característica pode refletir na estabilidade das AgNPs.

A composição e distribuição dos elementos foram analisados através da espectroscopia de energia dispersiva de raios-x (EDS), conforme Figura 36. Os resultados apresentam sinal de Ag^0 em 3 keV (A e B) confirmando a presença de AgNPs (Rautela; Rani, 2019) e associado ao mapeamento (Figura 36C) foram encontrados outros elementos além da prata (F) que são provenientes das grades de cobre revestida por carbono usadas para a análise (D, E e G), onde maiores porcentagens são destinadas ao carbono (65,89%), prata (25,38%) e cobre (7,34%).

Figura 36 – Análise de EDS das AgNPs obtidas, sendo espectro EDS referente ao espectro da condição 1:1 de diluição do extrato de cajuru em pH 9,0 a 25 °C (A), área de registro do EDS (B), (C) imagem em camadas e mapeamento dos elementos (D, E, F e G).

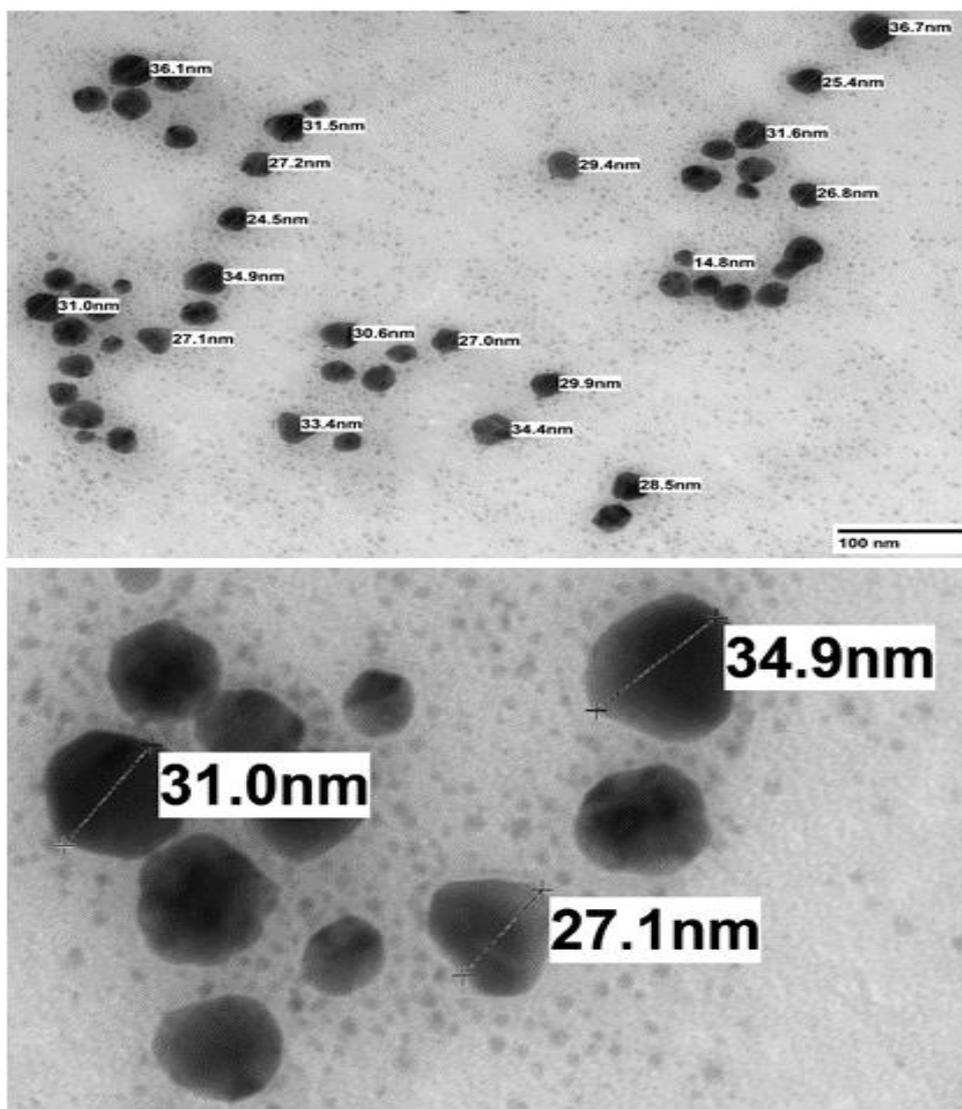


Fonte: autora (2023).

A síntese de AgNPs mediada por extrato aquoso de cajuru em pH 9,0 expressou ter mais estabilidade de sistemas nanoparticulados de metais, sendo observado através da microscopia eletrônica de transmissão a presença de formatos mais definidos e tamanhos mais uniformes.

Na Figura 37 mostra AgNPs obtidas à temperatura ambiente e pH 9,0 em condição 2 de diluição do extrato, observa-se NPs monodispersas, sendo esféricas facetadas, triangulares e triangulares truncadas de diâmetros menores em relação a síntese em condição de diluição 1:1 do extrato vegetal.

Figura 37 - Imagens TEM da reação de AgNPs obtidas em pH 9,0 e diluição do extrato de cajuru da condição 1:2 a 25°C.

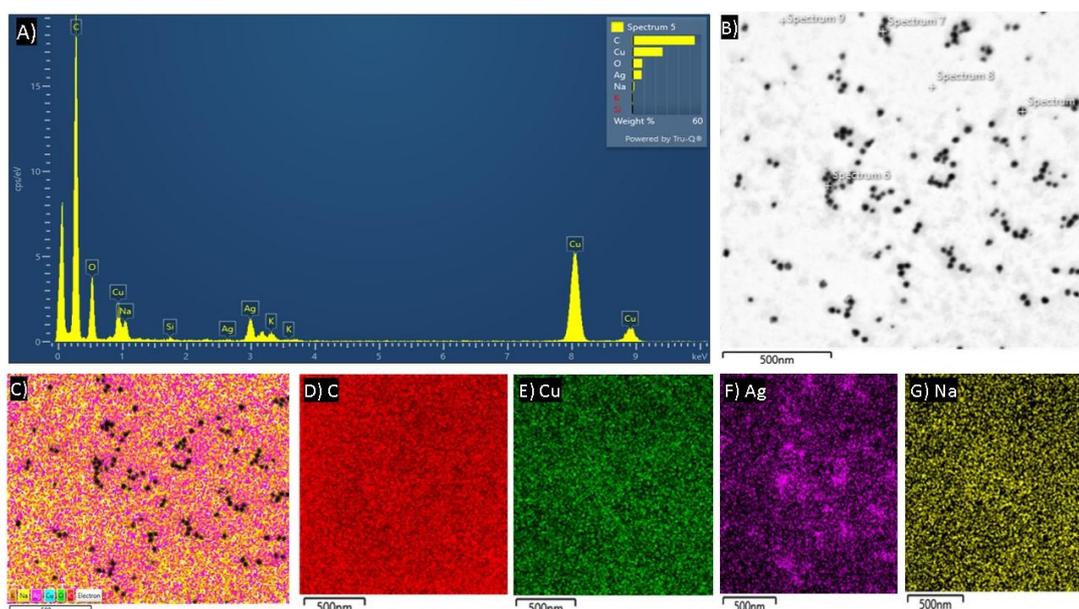


Fonte: autora (2023).

Na Figura 38 é mostrada a análise de espectroscopia de energia dispersiva de raios-x (EDS) realizada para a síntese em pH 9,0 na condição de diluição 1:2 do extrato vegetal à temperatura ambiente, com resultados que se assemelham aos encontrados pra a condição 1 (Figura 35), apresentando sinal para a absorção de AgNPs em 3 keV. A condição de diluição

1:2 formou nanopartículas com menores diâmetro (14,8 a 31,1nm) e maiores quantidades de nanopartículas, confirmando o que foi observado através da espectroscopia UV-Vis.

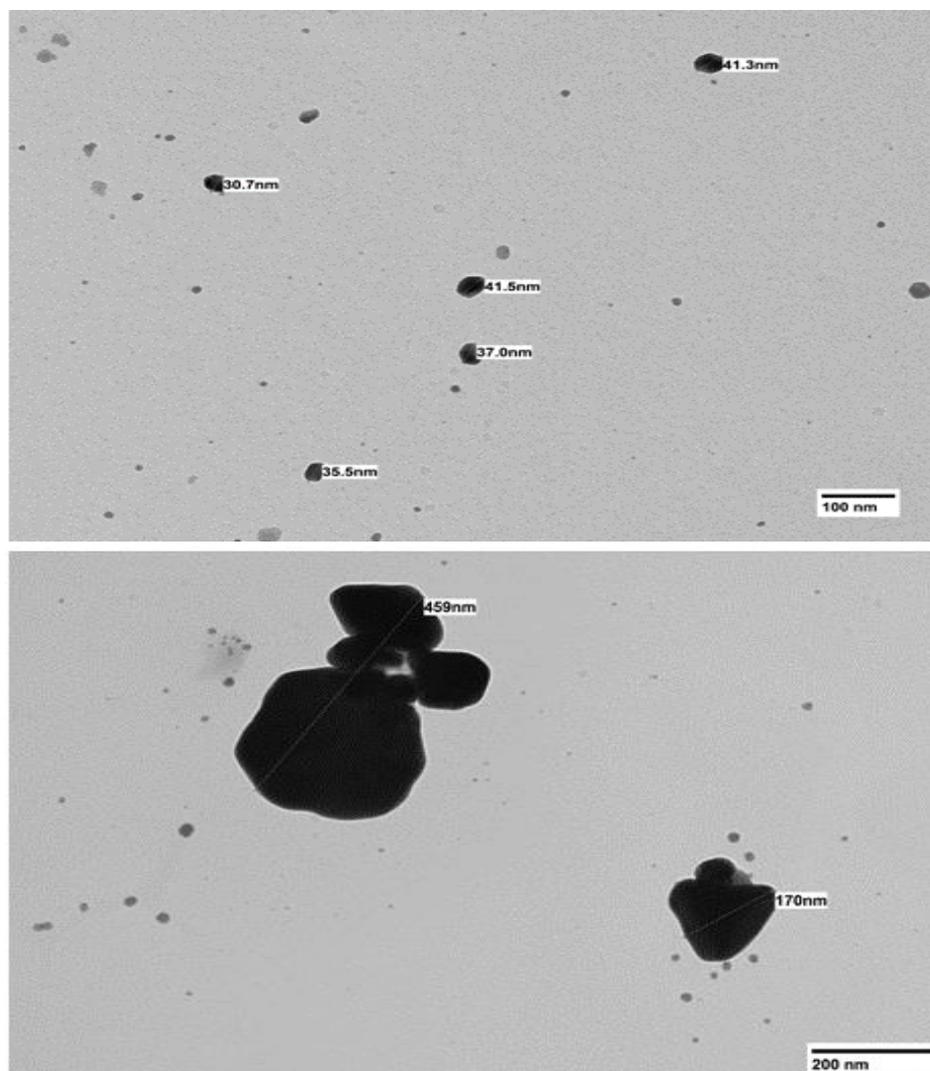
Figura 38 – Análise de EDS das AgNPs obtidas, sendo espectro EDS referente ao espectro da condição 1:2 de diluição do extrato de cajuru em pH 9,0 a 25 °C (A), área de registro do EDS (B), (C) imagem em camadas e mapeamento dos elementos (D, E, F e G).



Fonte: autora (2023)

Na Figura 39 observa-se imagens de AgNPs obtidas em pH 5,5 em condição de diluição 1:2 do extrato de cajuru. Nota-se a pouca formação de NPs, além disso, o diâmetro das NPs formadas é superior as demais condições estudadas de pH e concentração de extrato vegetal conforme análise pela microscopia eletrônica de transmissão. O pH é um fator importante na síntese de NPs, pois além de afetar a estabilidade, tamanho, perda de uniformidade e/ou perda de distribuição homogênea das partículas, levando à agregação e precipitação das partículas. Em estudos realizados por Velgosová *et al.*, (2016), indicando que essa é uma condição desfavorável para a formação de AgNPs.

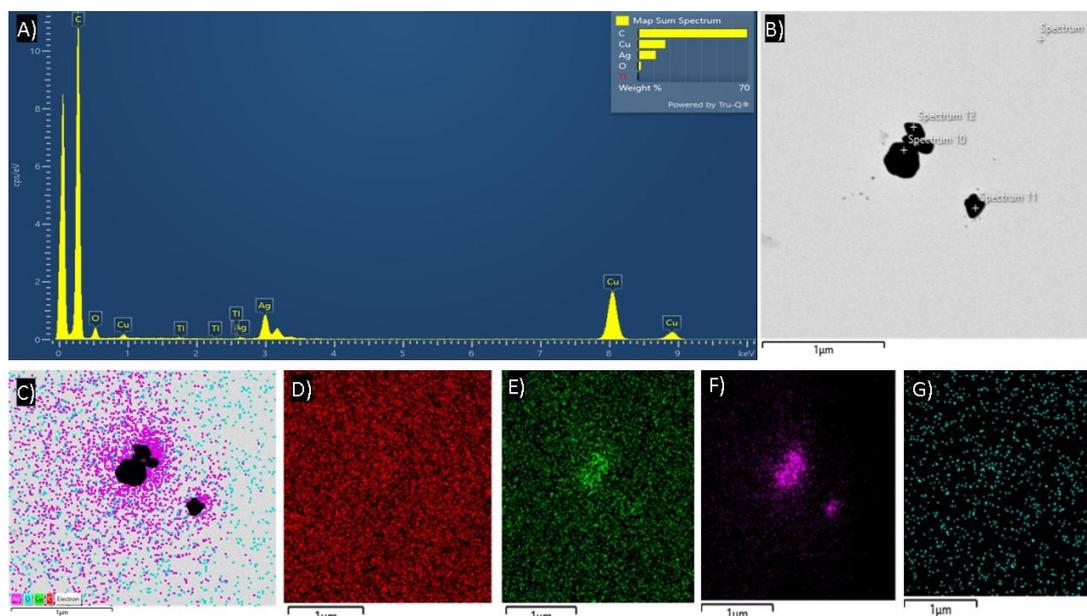
Figura 39 - Imagens TEM da reação de AgNPs obtidas em pH 5,5 e diluição do extrato de cajuru da condição 1:2 a 25°C.



Fonte: autora (2023)

Assim como as demais condições de síntese, a condição de diluição do extrato de cajuru 1:2 em pH 5,5 apresentou sinal para a absorção de AgNPs em 3 keV (Figura 40A), contudo, houve pouca redução dos íons prata (Figura 40C), uma vez que em meio ácido a taxa de ocorrência de redução dos íons prata pode ser mais lenta. Isso ocorre porque a concentração dos íons de H^+ em solução ácida é alta, dificultando a quebra da ligação O-H dos metabólitos secundários para iniciar o processo de redução (Rao; Paria, 2013).

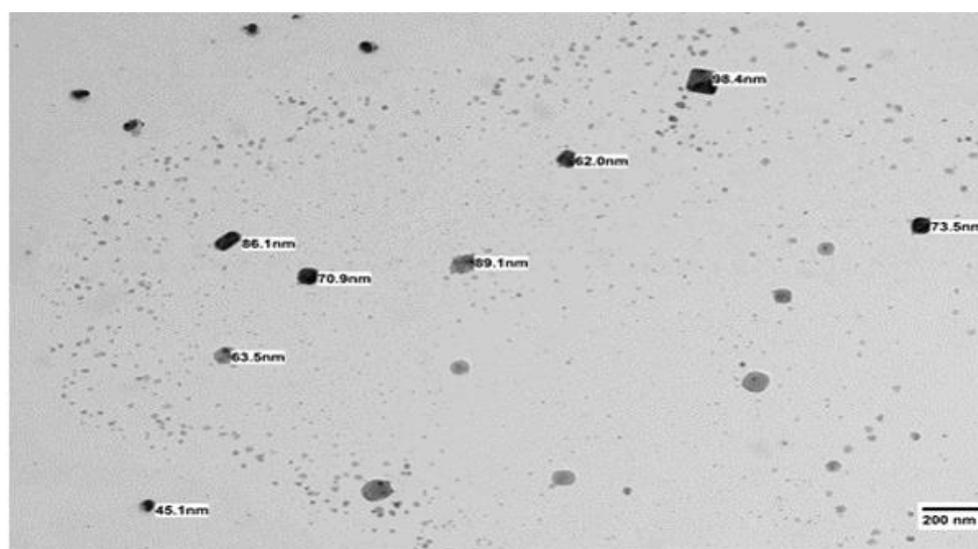
Figura 40 – Análise de EDS das AgNPs obtidas, sendo espectro EDS referente ao espectro da condição 1:2 de diluição do extrato de cajuru em pH 5,5 a 25 °C (A), área de registro do EDS (B), (C) imagem em camadas e mapeamento dos elementos (D, E, F e G).

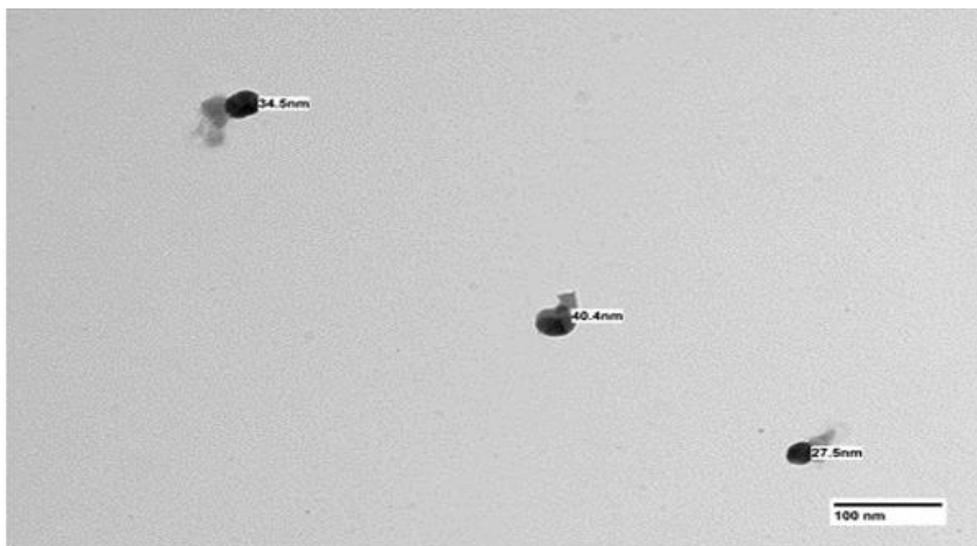


Fonte: autora (2023)

Na Figura 41, observa-se que apesar da condição de diluição 1:2 do extrato de cajuru e meio reacional ajustado pH 9,0 ser uma condição onde há uma grande produção de nanopartículas, quando a temperatura do meio é elevada, a quantidade de nanopartículas formadas é baixa. A temperatura é um dos fatores críticos que influenciam na cinética da ocorrência e, portanto, a formação e o tamanho dos coloides formados.

Figura 41 – Imagens TEM da reação de AgNPs obtidas em pH 9,0 e diluição do extrato de cajuru da condição 1:2 a 50°C.

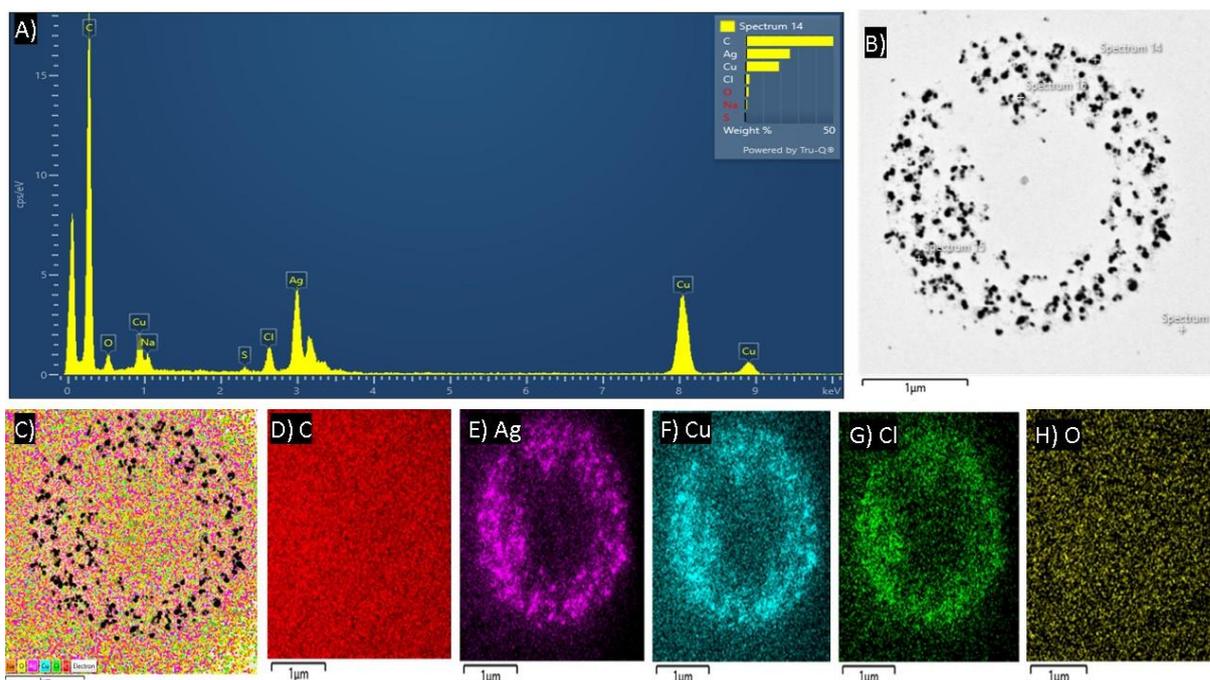




Fonte: a autora (2023).

Embora o aumento na temperatura influencie positivamente no aumento da velocidade de reação por aumentar a energia cinética dos reagentes, antecipando o aumento da absorvância para tempos de reação mais baixos, há uma redução na absorvância máxima detectada de maneira progressiva quando se eleva a temperatura. Na Figura 42B nota-se a aglomeração das nanopartículas, isso pode estar relacionado a temperatura elevada, pois nessa condição os átomos na superfície da nanopartícula têm maior mobilidade, isso pode permitir que eles se movam e se juntem de forma mais fácil, levando à aglomeração das nanopartículas.

Figura 42 – Análise de EDS das AgNPs obtidas, sendo espectro EDS referente ao espectro da condição 1:2 de diluição do extrato de cajuru em pH 9,0 e 50 °C (A), área de registro do EDS (B), (C) imagem em camadas e mapeamento dos elementos (D, E, F e G)



Fonte: autora (2023).

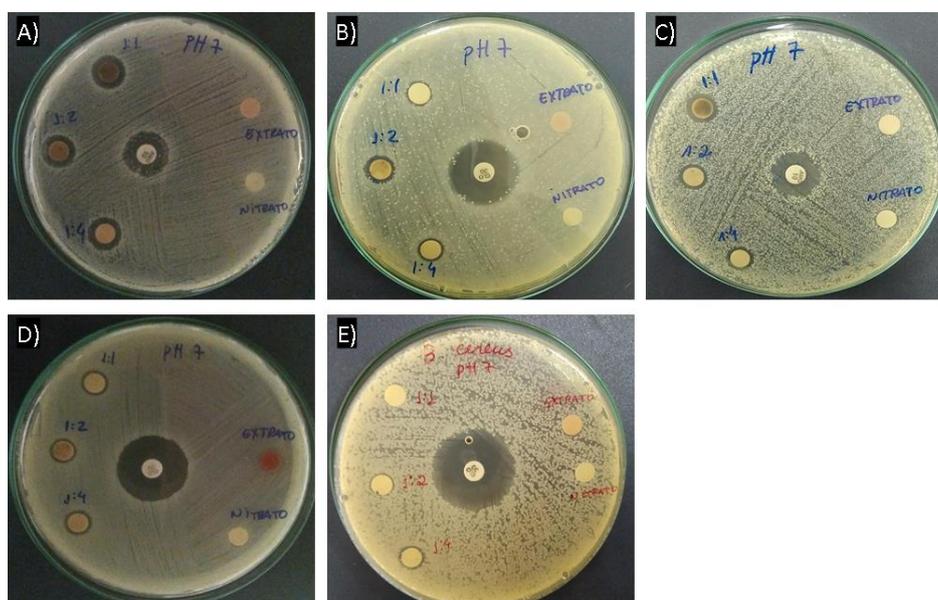
A baixa formação de nanopartículas também pode estar atrelada a degradação do material de partida (extrato), sendo que ao preparo do extrato aquoso de cajuru requer temperatura elevada e com a produção da nanopartícula em uma temperatura de 50°C, os precursores usados na síntese podem ter se degradado mais rapidamente ou se tornaram menos eficazes (Ng; Cheok, 2020; Tecucianu; Draghici; Oancea, 2020).

6.9 Avaliação do ensaio microbiológico

Os resultados obtidos de halo de inibição das AgNPs produzidas estão dispostos na Figura 43, para as bactérias *Escherichia coli* (Gram-negativa), *Staphylococcus aureus* (Gram-positiva), *Salmonella sp.* (Gram-negativa), *Bacillus cereus* (Gram-positiva) e o fungo *Candida albicans*.

Realizou-se o teste de suscetibilidade aos antimicrobianos (NCCLS, 2003) e com isso observou-se que para as diferentes amostras produzidas não foi possível identificar atividade inibitória frente ao microrganismo *B. cereus* (Figura 43E). Em relação as demais cepas, foi observado que as AgNPs tiveram inibição intermediária frente as cepas *E. coli* (Figura 43A), *Candida albicans* (Figura 43B), *Salmonella sp.* (Figura 43D) e *S. aureus* (Figura 43C).

Figura 43 – Resultado das AgNPs em diferentes condições submetidas em diferentes microrganismos, sendo condição de diluição 1:1, 1:2 e 1:4 em pH 7,0, todas produzidas a 25 °C. Microrganismos: *E. coli* (A), *Candida albicans* (B), *S. aureus* (C), *Salmonella sp.* (D) e *B. cereus* (E).



Fonte: autora (2023).

A resistência dessas cepas pode estar ligada à diversos fatores, um desses é a camada de peptidoglicano das bactérias Gram-positivas que apresentam uma estrutura mais espessa, dificultando a ação da AgNPs e à presença de ácido lipoteicóico em bactérias Gram-positivas que exerce a função de proteção desses microrganismos contra agentes externos (Clébis *et al.*, 2021; Mohanbaba; Gurunathan, 2016; Quintero-Quiroz *et al.*, 2019). Os valores das zonas de inibição para as diferentes AgNPs produzidas e que mostraram atividade microbicida estão mostradas na Tabela 6.

A ação microbicida pode estar atrelada ao tamanho das AgNPs, pois alguns autores atribuem o efeito antimicrobiano ao tamanho das nanopartículas de prata, de forma que quanto menor o diâmetro, maior o efeito sobre os microrganismos devido à maior facilidade de penetração nas células bacterianas (Ahmed *et al.*, 2021; Nurulaini *et al.*, 2019; Quintero-Quiroz *et al.*, 2019).

Tabela 6 – Atividade antimicrobiana das AgNPs em pH 7,0.

Zonas de inibição (média (mm) ± desvio padrão)					
Amostras AgNPs	<i>E. coli</i>	<i>C. albicans</i>	<i>S. aureus</i>	<i>Salmonella sp.</i>	<i>B. cereus</i>
Condição 1:1	10,5 ± 1,8	-	10,3 ± 1,6	9,4 ± 0,5	-
Condição 1:2	10,5 ± 1,8	10,2 ± 1,6	10,2 ± 1,6	9,3 ± 0,5	-
Condição 1:4	10,5 ± 1,7	9,4 ± 1,0	10,2 ± 1,5	9,4 ± 0,6	-
Extrato	-	-	-	-	-
Nitrato de prata	-	-	-	-	-
Antibiótico	14,3 ± 1,6	25,3 ± 0,5	13,3 ± 1,1	24,23 ± 1,5	24,20 ± 1,5

Fonte: autora (2023).

Acredita-se que a maior capacidade antibacteriana das AgNPs seja devida a sua maior área de superfície onde pode ocorrer a liberação máxima de cátions Ag⁺. Esta espécie iônica então se liga a grupos funcionais de moléculas carregadas negativamente presentes na parede celular bacteriana, causando ruptura da parede celular, inativação enzimática e/ou alterações na permeabilidade da membrana (Kalwar; Shan, 2018).

Além disso, a alteração do pH pode alterar a carga superficial das AgNPs e afetar potencialmente a afinidade das nanopartículas com as bactérias, além da afinidade da camada de recobrimento com a superfície das AgNPs que regulam a estabilidade dos átomos metálicos periféricos dessa estrutura. Tanto nas bactérias Gram-positivas como nas Gram-negativas, a membrana celular é carregada negativamente, mas a magnitude de carga varia de estirpe para estirpe (Alpaslan *et al.*, 2017).

8. CONCLUSÃO

Ao estudar a síntese de AgNPs mediada por extrato aquoso de cajuru (*Arrabidaea chica*), investigou-se os efeitos de diversos parâmetros físico-químicos, tais como a concentração do extrato vegetal, temperatura do meio reacional e pH. Foi constatado que ao trabalhar com as diferentes concentrações do extrato, a taxa de formação de nanopartículas de prata não teve grandes variações no progresso da reação, apenas nos dias iniciais a condição 2 exibe um maior quantidade de nanoestruturas produzidas. Contudo, as quantidades produzidas de AgNPs foram dependentes da concentração de extrato vegetal empregada.

Ao avaliar a influência do pH na produção de nanopartículas, trabalhou-se com as condições diluídas do extrato aquoso de cajuru em meio reacional ácido (pH 5,0), neutro (7,0) e alcalino (pH) 9,0. Observou-se que em meio alcalino houve uma maior formação de NPs em comparação com os outros meios, com isso, o aumento do pH do meio reacional somado à concentração do extrato de cajuru e temperatura tiveram grande influência na quantidade de nanopartículas produzidas e na estabilidade.

O pH do meio reacional também fornece um papel fundamental na formação de NPs. Assim como a temperatura influenciou na formação de NP, o pH regulou a formação de centros de nucleação. À medida que o pH aumentou, o número de centros de nucleação também aumentou.

Nesta perspectiva, condições de síntese de nanopartículas em temperatura ambiente utilizando o extrato aquoso de cajuru na condição de diluição 1:2 em meio alcalino sugerem a maiores produções de nanopartículas de menor diâmetro e com formatos variados. Observa-se que o potencial de formação das nanopartículas de prata está atrelado à quantidade de extrato vegetal envolvido na síntese, uma vez que este fator é dependente dos compostos orgânicos presente na composição do extrato.

Os resultados da análise TEM sugerem formatos e tamanhos distintos para diferentes condições de síntese das nanopartículas de prata (AgNPs). Foi observado a formação de

nanopartícula monodispersas com diâmetros reduzidos e formatos esferoidais foram produzidas em pH 9,0, em temperatura ambiente, indo contra alguns resultados encontrados na literatura, que reportam que o aumento da temperatura pode intensificar a formação de NPs. Isso pode estar atrelado ao fato do extrato de cajuru ter sido produzido em temperatura elevada (90 °C), gerando um desgaste térmico nos metabolitos secundários e conseqüentemente acarretando a degradação dos metabólitos quando a síntese é submetida a temperatura de 50 °C, ocasionando a baixa formação de AgNPs no meio reacional.

O teste de halo de inibição indicou maior atividade microbida das AgNPs produzidas em pH 7,0, temperatura de 25 °C e diluição 1:2 do extrato vegetal para *E. coli*, *Candida albicans*, *S. aureus* e *Salmonella sp.* Os resultados sugerem que a formação de AgNPs e a ação microbida é influenciada pelos parâmetros experimentais concentração de extrato vegetal, pH e temperatura.

Explorar as possíveis aplicações das AgNPs produzidas, principalmente em relação à ação contra microrganismos, pode abrir caminho para inovações, novos produtos e a análise da criação de AgNPs com auxílio de extrato de cajuru oferece inúmeras oportunidades para futuras investigações, que podem ter um grande impacto no avanço da nanotecnologia, biotecnologia e outras áreas práticas, como saúde, meio ambiente e materiais tecnológicos.

9. REFERÊNCIAS

AHMED, F.; ALOMAR, S. Y.; ALBALAWI, F.; ARSHI, N.; DWIVEDI, S.; KUMAR, S.; AHMAD, N. Microwave Mediated Fast Synthesis of Silver Nanoparticles and Investigation of Their Antibacterial Activities for Gram-Positive and Gram-Negative Microorganisms. **Crystals**, v.11, n.6, p.666-694, 2021.

ALBARICI, T. R.; PESSOA, J. D. C.; FORIM, M. R. Efeito das variações de pH e temperatura sobre as antocianinas na polpa de açaí: estudos espectrofotométricos e cromatográficos. **EMBRAPA**. ISSN 1517-4786. São Carlos, SP 2006.

ALCERITO, T.; BARBO, F. E.; NEGRI, G.; SANTOS, D. Y.; MEDA, C. I.; YOUNG, M. C. M.; BLATT, C. T. Cera epicuticular foliar de *Arrabidaea brachypoda*: flavonoides e atividade antifúngica. **Sistemática Bioquímica e Ecologia**, v.30, n.7, p.677-683, 2002.

ALPASLAN, E.; GEILICH, B. M.; YAZICI, H.; WEBSTER, T. J. pH-controlled cerium oxide nanoparticle inhibition of both gram-positive and gram-negative bacteria growth. **Scientific Reports**, v.7, n.1, p.45859, 2017.

ALZHRANI, E. Colorimetric detection based on localized surface plasmon resonance optical characteristics for sensing of mercury using green-synthesized silver nanoparticles. **Journal of Analytical Methods in Chemistry**, v.2020, 2020.

ATHITHAN, A. S.; JEYASUNDARI, J.; RENUGA, D.; JACOB, Y. B. A. *Annona muricata* fruit mediated biosynthesis, physicochemical characterization of magnetite (Fe₃O₄) nanoparticles and assessment of its in vitro antidiabetic activity. **Rasayan Journal Chemical**, v.13, n.3, p.1759-1766, 2020.

AZIZI, M.; SEDAGHAT, S.; TAHVILDARI, K.; DERAKHSHI, P.; GHAEMI, A. Synthesis of silver nanoparticles using *Peganum harmala* extract as a green route. **Green Chemistry Letters and Reviews**, v.10, n.4, p.420-427, 2017.

BARBOSA, W.L.R.; PINTO, L. D. N.; QUIGNARD, E.; VIEIRA, J. M. D. S.; SILVA JR, J.O.C.; ALBUQUERQUE, S. *Arrabidaea chica* (HBK) Verlot: abordagem fitoquímica, atividade antifúngica e tripanocida. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.18, p.544-548, 2008.

BEHRENS, M. D. D. D.; TELLIS, C. J. M.; CHAGAS, M. D. S. *Arrabidaea chica* (Humb. & Bonpl.) B. Verlot (Bignoniaceae). **Revista Fitos**, v.7, n.04, p.236-244, 2012.

BENEDITO, A.; SILVA, F.; SANTOS, Í. Nanopartículas de prata: aplicações e impactos ambientais. **Revista Acadêmica Oswaldo Cruz**, v.16, p.4-5, 2017.

Berla, S.; Damasceno, A. P. L. G.; Leão, M. V. P.; Soléo, S.; Dos Santos, F. Ação in vitro de extratos de *Arrabidaea chica* sobre *Candida albicans*. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v.22, p.39-44, 2020.

BEYENE, H. D.; WERKNEH, A. A.; BEZABH, H. K.; AMBAYE, T. G. Synthesis Paradigm and Applications of Silver Nanoparticles (AgNPs), A Review. **Sustainable Materials and Technologies**, v.13, p.18-23, 2017.

BORGHI, S. M.; LUQUE, M. Z. **Desvendando novos horizontes para o tratamento da dor muscular de início tardio: chalconas como estratégia para a prática do exercício físico visando a promoção da saúde**. v.1, Curitiba: Editora CRV, p.20-28. 2022.

BRANDÃO, C. M. M.; HASS, V.; ZAGO, P. W.; DE CARVALHO, L. C. G.; DIBAI, D. B.; SILVA, F. B.; DE JESUS, R. R. T. Ação do extrato de *Arrabidaea chica* em biofilmes de *Candida albicans*, efeito citotóxico em fibroblastos e queratinócitos, e nas propriedades físico/mecânicas de resina de poli(metilmetacrilato). **Research, Society and Development**, v. 10, n.13, artigo e292101320667, 2021.

CARVALHO, C. M.; DE ALMEIDA NETO, S. G.; REIS, C. L. F.; DE FREITAS, J. M. R.; CAMARGO, K. C.; DE AGUILAR, M. G.; DE SOUSA, G. F. Perfil Metabólico por UHPLC/HR-ESI-MS/MS de *Fridericia chica* e *Echinacea purpurea* e Perfil de Compostos Voláteis por CG-FID e CG-MS de *E. purpurea*. **Revista Virtual de Química**, Rio de Janeiro, v.15, n.5, p.659-670. 2022. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.21577/1984-6835.20220130>.

CHAPMAN, E.; PERKIN, A. G.; ROBINSON, R. The colouring matters of carajura. **Journal of Chemical Society**, v.49, p.3015-3041, 1927.

CHAVES, J. O.; DE SOUZA, M. C.; DA SILVA, L. C.; LACHOS-PEREZ, D.; TORRES-MAYANGA, P. C.; MACHADO, A. P. D. F.; ROSTAGNO, M. A. Extraction of flavonoids from natural sources using modern techniques. **Frontiers in Chemistry**, v.8, artigo 507887, 2020.

- CHOPRA, I. The increasing use of silver-based products as antimicrobial agents: a useful development or a cause for concern? **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v.59, n.4, p. 587-590, 2007.
- CLÉBIS, V. H.; PRONI, E.; SARIMENTO, J. J. P.; TAKAYAMA, R. K.; NAKAZATO, G. Atividade antibacteriana de micropartículas de prata encapsuladas com méis de *Apis mellifera* e *Scaptotrigona bipunctata*. **Brazilian Journal of Animal and Environmental Research**, v. 4, n.1, p.933-948, 2021.
- COSTA, A.F. **Farmacognosia**. 3. ed. Fundação Calouste Gulbenkian: Lisboa, v.3, 2000.
- DA ROCHA, C. Q.; DE-FARIA, F. M.; MARCOURT, L.; EBRAHIMI, S. N.; KITANO, B. T.; GHILARDI, A. F.; WOLFENDER, J. L. Gastroprotective effects of hydroethanolic root extract of ***Arrabidaea chica***: Evidences of cytoprotection and isolation of unusual glycosylated polyphenols. **Phytochemistry**, v.135, p.93–105. 2017.
- DADA, A. O.; ADEKOLA, F. A.; DADA, F. E.; ADELANI-AKANDE, A. T.; BELLO, M. O.; OKONKWO, C. R.; ADETUNJI, C. O. Synthesis of silver nanoparticles by *Acalypha wilkesiana* extract: phytochemical screening, characterization, influence of operational parameters and preliminary antibacterial test. **Heliyon**, v.5, n.10, p.502-517, 2019.
- DAKAL, T. C.; KUMAR, A.; MAJUMDAR, R. S.; YADAV, V. Mechanistic basis of antimicrobial actions of silver nanoparticles. **Frontiers in microbiology**, v.7, p.1831, 2016.
- DA SILVA, S. G; BIESKI, I. G. C. A importância medicinal dos flavonóides na saúde humana, com ênfase na espécie *Arrabidaea chica* (Bonpl.) B. Verl. **Revista Saúde Viva Multidisciplinar da AJES**, v.1, n.1, 2018.
- DE ALMEIDA, E. R.; DA SILVA FILHO, A. A.; DOS SANTOS, E. R.; LOPES, C. A. Antiinflammatory action of lapachol. **J Ethnopharmacol**, v.29, n.2, p.239-41, 1990.
- DE SOUZA, N.F.; AZEVEDO, C. C.; DA SILVA, L. A.; DE SOUSA, L. M.; DE OLIVEIRA, C. I. F. B.; DE VASCONCELLOS, M. C.; DA SILVA, A. B. Caracterização química dos extratos in natura das folhas de *Arrabidaea chica* Verlot e avaliação do potencial regenerativo através de testes *in vitro* e *in vivo* em fibroblastos. **Brazilian Journal of Development**, v.8, n.7, p.54567-54586, 2022.
- DE SOUZA, T. M.; ARAÚJO, B. C.; LOPES, J. C. Efeito carcinogênico ou anticarcinogênico do extrato aquoso da casca de jabuticaba (*plinia cauliflora*): uma revisão integrativa. **Revista Ibero-Americana de Humanidades, Ciências e Educação**, v.8, n.9, p.421-437, 2022.
- DISSEMOND, J.; STEINMANN, J.; MÜNTER, K. C.; BRILL, H.; BÖTTRICH, J. G.; BRAUNWARTH, H.; WILKEN, P. Risk and clinical impact of bacterial resistance/susceptibility to silver-based wound dressings: a systematic review. **Journal of Wound Care**, v.29, n.4, p.221-234, 2020.
- DONG, C.; ZHANG, X.; CAI, H.; CAO, C. Facile and one-step synthesis of monodisperse silver nanoparticles using gum acaia in aqueous solution. **Journal of Molecular Liquids**, Amsterdam, v.196, p.135-141, 2014.
- DROSOU, C.; KYRIAKOPOULOU, K.; BIMPILAS, A.; TSIMOGIANNIS, D.; KROKIDA, M. Comparative study on different extraction techniques to recover red grape pomace

polyphenols from vinification byproducts. **Industrial Crops and Products**, v.75, p.141- 149, 2015.

DOS SANTOS, V. C.; LONGO, T. B.; GARCIA, A. L. H.; RICHTER, M. F.; GUECHEVA, T. N.; HENRIQUES, J. A. P.; PICADA, J. N. Avaliação da mutagenicidade e genotoxicidade de *Arrabidaea chica* Verlot (Bignoneaceae), planta amazônica com propriedades medicinais. **Jornal de Toxicologia e Saúde Ambiental, Parte A**, v.76, n.6, p.381-390, 2013.

DURÁN, N.; DURÁN, M.; DE JESUS, M. B.; SEABRA, A. B.; FÁVARO, W. J.; NAKAZATO, G. Silver nanoparticles: A new view on mechanistic aspects on antimicrobial activity. **Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and medicine**, v.12, n.3, p.789-799, 2016.

DURÁN, N.; ROLIM, W. R.; DURÁN, M.; FÁVARO, W. J.; SEABRA, A. B. Nanotoxicologia de nanopartículas de prata: toxicidade em animais e humanos. **Química Nova**, v.42, p.206-213, 2019.

EMPRESA DE ASSISTÊNCIA TÉCNICA E EXTENSÃO RURAL DO DISTRITO FEDERAL – **EMATER**: Brasília, Plantas Medicinais, 2015.

FARAMARZI, M. A; SADIGHI, A. Insights sobre a produção biogênica e química de nanomateriais inorgânicos e nanoestruturas. **Avanços em Colloid e Interface Science**, v.189, p.1-20, 2013.

FATIMA, M.; ZAIDI, S.; AMRAIZ, D.; AFZAL, F. In vitro antiviral activity of *Cinnamomum cassia* and its nanoparticles against H7N3 influenza A virus. **Journal of Microbiology and Biotechnology**, v.26, n.1, p.151-159, 2016.

FAYAZ, A. M.; BALAJI, K.; KALAICHELVAN, P. T.; Venkatesan, R. Fungal based synthesis of silver nanoparticles-an effect of temperature on the size of particles. **Colloids and surfaces B: Biointerfaces**. v.74, p.123-126. 2009.

FERREIRA, F. A. G.; CARVALHO, C. M.; COSTA, J. C.; FERREIRA, J. M. R.; SILVA, F. Comprovação do potencial medicinal de *Arrabidaea chica* (Bignoniaceae). **Scientia prima**, v. 1, n.1, p.1-6, 2013.

FERNANDO, I; ZHOU, Y. Impact of pH on the stability, dissolution and aggregation kinetics of silver nanoparticles. **Chemosphere**, v.216, p.297-305, 2019.

FONTES, B. R. A; MILHOME, W. S. D. S; DE MELO, J. D. G. Avaliação da atividade antimicrobiana das plantas medicinais *Arrabidaea chica*, *Caesalpinia ferra* var e *Hancornia speciosa* Gomes. **Brazilian Journal of Surgery & Clinical Research**, v.35, n.2, 2021.

FRANK, K.; KÖHLER, K.; SCHUCHMANN, H. P. Stability of anthocyanins in high pressure homogenisation. **Food Chemistry**, v.130, n.3, p.716-719, 2012.

FREITAS, V. O mundo colorido das antocianinas. **Revista de Ciência Elementar**, v.7, n.2, p.1-6, 2019.

FURLAN, C. M.; SANTOS, K. P.; SEDANO-PARTIDA, M. D.; MOTTA, L. B. D.; SANTOS, D. Y. A.; SALATINO, M. L. F.; SALATINO, A. Flavonoids and antioxidant potential of nine Argentinian species of *Croton* (Euphorbiaceae). **Brazilian Journal of**

Botany, v.38, p.693-702, 2015.

GARZON, G.A; WROLSTAD, R.E. Comparação da estabilidade de antocianinas à base de pelargonidina em suco e concentrado de morango. **Journal of Food Science**, v.67, n.4, p.1288-1299, 2002.

GOBBO-NETO, L.; LOPES, N.P. Plantas medicinais: fatores de influência no conteúdo de metabólitos secundários. **Química Nova**, v.30, n.2, p.374, 2007.

GOMATHI, A. C.; RAJARATHINAM, S. X.; SADIQ, A. M.; RAJESHKUMAR, S. Anticancer activity of silver nanoparticles synthesized using aqueous fruit shell extract of *Tamarindus indica* on MCF-7 human breast cancer cell line. **Journal of Drug Delivery Science and Technology**, v.55, artigo 101376, 2020.

GOMES, D. M. D.; DURÁN, N.; SEABRA, A. B.; DE PAIVA, L. S.; PRADO, F. B.; DE AMORIM, T. S.; TEIXEIRA, M. F. S. Síntese verde de nanopartículas de prata intermediada por fungo anamórfico e eficácia antibacteriana e antifúngica. **Boletim do Museu Paraense Emílio Goeldi-Ciências Naturais**, v.15, n.2, p.433-443, 2020.

GHRAMH, H. A.; KHAN, K. A.; IBRAHIM, E. H. Biological activities of *Euphorbia peplus* leaves ethanolic extract and the extract fabricated gold nanoparticles (AuNPs). **Molecules**, v. 24, n.7, artigo 1431, 2019.

GUIMARÃES, M. L.; DA SILVA, F. A. G.; DA COSTA, M. M.; DE OLIVEIRA, H. P. Green synthesis of silver nanoparticles using *Ziziphus joazeiro* leaf extract for production of antibacterial agents. **Applied Nanoscience**, v.10, n.4, p.1073-1081, 2020.

HAMEDI, S. Controlled biosynthesis of silver nanoparticles using culture supernatant of filamentous fungus. **Iranian journal of chemistry and chemical engineering**. v.36, n.5, p. 33-42. 2017.

HARBORNE, J. B. *Métodos fitoquímicos: um guia para técnicas modernas de análise de plantas*. 3ª edição. Nova York, NY: Londres, Reino Unido, p.219-245, 1998.

HARRIS, C. S.; BURT, A. J.; SALEEM, A.; LE, P. M.; MARTINEAU, L. C.; HADDAD, P. S.; ARNASON, J. T. A single HPLC-PAD-APCI/MS method for the quantitative comparison of phenolic compounds found in leaf, stem, root and fruit extracts of *Vaccinium angustifolium*. **Phytochemical Analysis: An International Journal of Plant Chemical and Biochemical Techniques**, v.18, n.2, p.161-169, 2007.

HOULLOU, L. M.; DE SOUZA, R. A. B.; MALAFAIA, C. B.; DA PAIXÃO, D. L. M.; DE ARAÚJO, A. T. B.; SILVA, M. G.; DUARTE, G. C. S. Green synthesis of silver nanoparticles using leaf extract from *Tabebuia roseoalba* and *T. pentaphylla*. **Journal of Environmental Analysis and Progress**, p.216-222, 2019

HUARANCCA-HUARCAYA, E.; PAREDES-QUIROZ, L. R.; PILARES-ESTRADA, N. M.; BARRAGÁN-CONDORI, M.; HUAMANÍ-MELÉNDEZ, V. J. Kinetic of thermal degradation of alaybilí (*Vaccinium floribundum* Kunth) and macha-macha (*Gaultheria glomerata* (Cav.) Sleumer) anthocyanins. **Brazilian Journal of Food Technology**, v.25, e2021106. p.1-10. 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/1981-6723.10621>

JAMKHANDE, P. G.; GHULE, N. W.; BAMER, A. H.; KALASKAR, M. G. Metal

nanoparticles synthesis: An overview on methods of preparation, advantages and disadvantages, and applications. **Journal of drug delivery science and technology**, v.53, p. 101174, 2019.

JIANG, T.; MAO, Y.; SUI, L.; YANG, N.; LI, S.; ZHU, Z.; HE, Y. Degradation of anthocyanins and polymeric color formation during heat treatment of purple sweet potato extract at different pH. **Food Chemistry**, v.274, p.460- 470, 2019.

KALAKI, Z.A; SAFAEIJAVAN, R; FARAJI, H. Procedure optimisation for green synthesis of silver nanoparticles by Taguchi method. **Micro & Nano Letters**, v.13, n.4, p.558-561, 2018.

KALIL FILHO, A. N.; KALIL, G. D. C.; LUZ, A. I. R. Conservação de germoplasma de plantas aromáticas e medicinais da Amazônia brasileira para uso humano. **Comunicado Técnico EMBRAPA**, v.50, p.1-4, 2000.

KALWAR, K.; SHAN, D. Antimicrobial effect of silver nanoparticles (AgNPs) and their mechanism—a mini review. **Micro & Nano Letters**, v.13, n.3, p.277-280, 2018.

KLUEH, U.; WAGNER, V.; KELLY, S.; JOHNSON, A.; BRYERS, J. D. Efficacy of silver-coated fabric to prevent bacterial colonization and subsequent device-based biofilm formation. **Journal of Biomedical Materials Research**, v.53, n.6, p.621-31, 2000.

KOBYLINSKA, N.; SHAKHOVSKY, A.; KHAINAKOVA, O.; KLYMCHUK, D.; AVDEEVA, L.; RATUSHNYAK, Y.; MATVIEIEVA, N. 'Hairy' root extracts as source for green synthesis of silver nanoparticles and medical applications. **RSC Advances**, v.10, n.65, p.39434-39446, 2020.

LAKSHMANAN, G.; SATHIYASEELAN, A.; KALAICHELVAN, P. T.; MURUGESAN, K. Plant-mediated synthesis of silver nanoparticles using fruit extract of *Cleome viscosa* L.: Assessment of their antibacterial anticancer activity, **Karbala Internacional Journal of Modern Science**, v.4, p.61-68, 2018.

LEE, J. H; CHO, K. M. Alterações ocorridas nos componentes da composição da soja preta mantida à temperatura ambiente em diferentes períodos de armazenamento. **Química dos Alimentos**, v.131, n.1, p.161-169, 2012.

LEMONS, T. A. B.; VIANA, D. D. S. F.; VIANA, V. G. F.; DA SILVA, M. H. L.; DE FIGUEIREDO, G. S. Preparação, caracterização e aplicação antimicrobiana de nanopartículas de prata estabilizadas em extrato de girassol (*Helianthus annuus*). **Research, Society and Development**, v.10, n.6, p.e11710615533, 2021.

LILA, M. A. Antocianinas e saúde humana: uma abordagem investigativa in vitro. **Journal of Biomedicine and Biotechnology**, v.2004, n.5, p.75-81, 2004.

LEVINSON, Warren. **Microbiologia médica e imunologia**. 13 ed. Brasil, AMGH editora LTDA, 2016.

LIU, G.; HAIQI, G.; LI, K.; XIANG, J.; LAN, T.; ZHANG, Z. Fabrication of silver nanoparticle sponge leather with durable, Antibacterial property. **Journal of Colloid and Interface Science**, v.514, n.15, p.338–348, 2018.

MAFIOLETI, L.; DA SILVA JUNIOR, I. F.; COLODEL, E. M.; FLACH, A.; DE OLIVEIRA, D. T. M. Avaliação da toxicidade e atividade antimicrobiana do extrato hidroetanólico de *Arrabidaea chica* (Humb. & Bonpl.) B. Verl. **Journal of Ethnopharmacology**, v.150, n.2, p.576-582, 2013.

MANOSALVA, N.; TORTELLA, G.; CRISTINA, M. D.; SCHALCHLI, H.; SEABRA, A. B.; DURÁN, N.; RUBILAR, O. Green synthesis of silver nanoparticles: effect of synthesis reaction parameters on antimicrobial activity. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v.35, n.6, p.1-9, 2019.

MARIOT, M. P.; BARBIERI, R. L. Metabólitos secundários e propriedades medicinais da espinheira-santa (*Maytenus ilicifolia* Mart. ex Reiss. e *M. aquifolium* Mart.). **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v.9, n.3, p.89-99, 2007.

MARCUCCI, M. C.; SALATINO, A.; OLIVEIRA, L. F. A. M.; GONÇALVES, C. P. Metodologias acessíveis para a quantificação de flavonoides e fenóis totais em própolis. **Revista Virtual Química**, v.13, n.1, p.61-73. 2021.

MATOS, F. J. A. **Introdução à Fitoquímica experimental**. 3. ed./ Fortaleza: Edições UFC, p.45-46, 2009.

MENON, S; RAJESHKUMAR, S; KUMAR, V. A review on biogenic synthesis of gold nanoparticles, characterization, and its applications. **Resource-Efficient Technologies**, v.3, n. 4, p.516-527, 2017.

MINISTERIO DA SAÚDE – Relação Nacional de Plantas Mediciniais de Interesse ao SUS. **Brasília**, DF. Acesso em 01 de novembro de 2023. Disponível em: https://bvsmms.saude.gov.br/bvs/sus/pdf/marco/ms_relacao_plantas_mediciniais_sus_0603.

MITTAL, A. K; BHAUMIK, J.; KUMAR, S.; BANERJEE, U. C. Biosynthesis of silver nanoparticles: elucidation of prospective mechanism and therapeutic potential. **Journal of Colloid and Interface Science**, v.415, p.39-47, 2014.

MOHAGHEGH, S.; OSOULI-BOSTANABAD, K.; NAZEMIYEH, H.; JAVADZADEH, Y.; PARVIZPUR, A.; BARZEGAR-JALALI, M.; ADIBKIA, K. A comparative study of eco-friendly silver nanoparticles synthesis using *Prunus domestica* plum extract and sodium citrate as reducing agents. **Advanced Powder Technology**, v.31, n.3, p.1169-1180, 2020.

MOHANBABA, S.; GURUNATHAN, S. Differential biological activities of silver nanoparticles against Gram-negative and Gram-positive bacteria: A novel approach for antimicrobial therapy. In: Grumezescu, A. M. (Ed.). **Nanobiomaterials in Antimicrobial Therapy: Nanobiomaterials in Antimicrobial Therapy**. Bucarest: William Andrew Applied Science Publishers, p.193-227. 2016.

MORALES-LOZOYA, V.; ESPINOZA-GÓMEZ, H.; FLORES-LÓPEZ, L. Z.; SOTELO-BARRERA, E. L.; NUÑEZ-RIVERA, A.; CADENA-NAVA, R. D.; RIVERO, I. A. Study of the effect of the different parts of *Morinda citrifolia* L.(noni) on the green synthesis of silver nanoparticles and their antibacterial activity. **Applied Surface Science**, v.537, p.147855, 2021.

MOSAVINIYA, M.; KIKHAVANI, T.; TANZIFI, M.; YARAKI, M. T.; TAJBAKHSI, P.; LAJEVARDI, A. Facile green synthesis of silver nanoparticles using *Crocus Haussknechtii*

Bois bulb extract: Catalytic activity and antibacterial properties. **Colloid and Interface Science Communications**, v.33, artigo 100211, 2019.

NCCLS. Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests; Approved Standard— Eighth Edition. NCCLS document M2-A8 [ISBN 1-56238-485-6]. NCCLS, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, Pennsylvania 19087-1898 USA, 2003.

NG, K. L.; CHEOK, C. Y. Evaluation of Thermal Degradation Kinetic Order of Anthocyanins Extracted from *Garcinia Mangostana* L. rind. **Progress in Energy and Environment**, p.16-25, 2020.

NHAMÚSSUA, R. L.; AGOSTINHO, D. Avaliação do Extrato Aquoso Da Cinza Na Prospecção de Alguns Metabólitos Secundários e Como Proposta Metodológica Em Experimentos No Ensino de Química. **Revista de Educação da Universidade Federal do Vale do São Francisco**, v.11, n.25, p.125-149, 2021.

NISTOR, M.; POP, R.; DAESCU, A.; PINTEA, A.; SOCACIU, C.; RUGINA, D. Anthocyanins as key phytochemicals acting for the prevention of metabolic diseases: An overview. **Molecules**, v.27, n.13, artigo 4254, 2022.

NOGUEZ, C. Surface plasmons on metal nanoparticles: the influence of shape and physical environment. **The Journal of Physical Chemistry**, v.111, n.10, p.3806- 3819, 2007.

NURULAINI, A.; AL FARRAJ, D. A.; ENDARKO, E.; RUBIYANTO, A.; NUR, H.; AL KHULAIFI, M. M.; SYAFI UDDIN, A. A new green method for the synthesis of silver nanoparticles and their antibacterial activities against gram-positive and gram-negative bacteria. **Journal of the Chinese Chemical Society**, v.66, n.7, p.705-712, 2019.

OLIVEIRA, D. P. C. D.; BORRÁS, M. R. L.; FERREIRA, L. C. D. L.; LÓPEZ-LOZANO, J. L. Anti-inflammatory activity of the aqueous extract of *Arrabidaea chica* (Humb. & Bonpl.) B. Verl. on the self-induced inflammatory process from venoms amazonians snakes. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.19, p.643-649, 2009.

PAOSEN, S.; SAISING, J.; SEPTAMA, A. W.; VORAVUTHIKUNCHAI, S. P. green synthesis of silver nanoparticles using plants from Myrtaceae family and characterization of their antibacterial activity. **Materials Letters**, v.209, n.15, p.201-206, 2017.

PARK, B. S.; KIM, J. R.; LEE, S. E.; KIM, K. S.; TAKEOKA, G. R.; AHN, Y. J.; KIM, J. H. Selective growth-inhibiting effects of compounds identified in *Tabebuia impetiginosa* inner bark on human intestinal bacteria. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.53, n.4, p.1152-1157, 2005.

PARK, J.; JOO, J.; KWON, S. G.; JANG, Y.; HYEON, T. Synthesis of monodisperse spherical nanocrystals. **Angewandte Chemie International Edition**. v.46, p.4630-4660. 2007.

PAULETTI, P. M.; BOLZANI, V. D. S.; YOUNG, M. C. M. Constituintes químicos da *Arrabidaea samydoides* (Bignoniaceae). **Química Nova**, v.26, n.5, p.641-643.2003.

PAVIA, D. L.; LAMPMAN, G. M.; KRIZ, G. S.; VYVYAN, J. R. **Introdução à espectroscopia**. Tradução da 4ª edição norte americana. São Paulo: Cengage Learning, capítulo 7, 2010.

PEREIRA, A. B. D. **Síntese de biofilmes dopados com nanopartículas de prata: caracterização e aplicação.** 2021. 66 f. Dissertação (Mestrado em Agroquímica) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa. 2021.

PINTO, V. V.; FERREIRA, M. J.; SILVA, R.; SANTOS, H. A.; SILVA, F.; PEREIRA, C. M. Long-Time effect on the stability of silver nanoparticles in aqueous medium: Effect of the synthesis and storage conditions colloids and Surfaces. **A Physicochemical Engineering Aspects**, v.364, n.1-3, p.19-25, 2010.

QUINTERO-QUIROZ, C.; ACEVEDO, N.; ZAPATA-GIRALDO, J.; BOTERO, L. E.; QUINTERO, J.; ZÁRATE-TRIVIÑO, D.; PÉREZ, V. Z. Optimization of silver nanoparticle synthesis by chemical reduction and evaluation of its antimicrobial and toxic activity. **Biomaterials Research**, v.23, n.1, p.1-15, 2019.

RAFIQUE, M.; SADAF, I.; RAFIQUE, M. S.; TAHIR, M. B. A review on green synthesis of silver nanoparticles and their applications. **Artificial Cells, Nanomedicine, and Biotechnology**, v.45, n.7, p.1272-1291, 2017.

RAO, K.J.; PARIA, S. Green synthesis of silver nanoparticles from aqueous *Aegle marmelos* leaf extract. **Materials Research Bulletin**, v.48, n.2, p.628-634, 2013.

RAUTELA, A.; RANI, J. Green synthesis of silver nanoparticles from *Tectona grandis* seeds extract: characterization and mechanism of antimicrobial action on different microorganisms. **Journal of Analytical Science and Technology**, v.10, n.1, p.1-10, 2019.

RESENDE, F. A.; DE OLIVEIRA, A. P. S.; DE CAMARGO, M. S.; VILEGAS, W.; VARANDA, E. A. Evaluation of estrogenic potential of flavonoids using a recombinant yeast strain and MCF7/BUS cell proliferation assay. **Plos one**, v.8, n.10, p.74881, 2013.

RESENDE, F. A.; NOGUEIRA, C. H.; ESPANHA, L. G.; BOLDRIN, P. K.; OLIVEIRA-HÖHNE, A. P.; DE CAMARGO, M. S.; VARANDA, E. A. *In vitro* toxicological assessment of *Arrabidaea brachypoda* (DC.) Bureau: Mutagenicity and estrogenicity studies. **Regulatory Toxicology and Pharmacology**, v.90, p.29-35, 2017.

RIBEIRO, J. F. A. Investigação fitoquímica biomonitorada da tintura 70% de *Arrabidaea chica* (Humb. & Bompl.) Verlot. **Dissertação** (Ciências Farmacêuticas), UFPA, Belém -PA, p.1-77, 2011.

RIBEIRO, A. F. C.; TELLES, T. C.; FERRAZ, V. P.; SOUZA-FAGUNDES, E. M.; CASSALI, G. D.; CARVALHO, A. T.; MELO, M. M. Effect of *Arrabidaea chica* extracts on the Ehrlich solid tumor development. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, v.22, n.2, p. 364-373. 2012.

RIBEIRO, G. S.; DE COUTO, R. A. A.; DE OLIVEIRA, A. B.; DA COSTA, L. P.; BARUD, H. D. S.; BRIGHENTI, F. L.; PEROTTI, G. F. "Green Synthesis of Silver Nanoparticles Mediated by Aqueous Açaí (*Euterpe oleracea*) Extracts." **European Academic Research**, v. X, n.3, p.1164-1180, 2022.

RODRIGUEZ, G. C.; GAUTHIER, G. H.; LADEIRA, L. O.; CALA, J. S.; CATAÑO, D. L. Effect of pH and chloroauric acid concentration on the geometry of gold nanoparticles obtained by photochemical synthesis. In **Journal of Physics: Conference Series**, v.935, artigo 012027. IOP Publishing. 2017.

- RODRIGUES, J. F. B.; BRANDÃO, P. E. D. S.; GUIMARÃES, P. Q.; PINTO, M. R. D. O.; WELLEN, R. M. R.; FOOK, M. V. L. Aplicação de método estatístico no estudo da influência do peróxido de hidrogênio e do borohidreto de sódio na síntese de nanopartículas de prata (AgNPs). **Matéria**, v.24, n.3, artigo e12395, 2019.
- ROCHA, K. B. F.; OLIVEIRA, C. N.; AZEVEDO, Í. M.; MACEDO, R. D.; MEDEIROS, A. C. Effect of *Arrabidaea chica* extract against chemically induced breast cancer in animal model. **Acta Cirúrgica Brasileira**, v.34, artigo e201901001, 2019.
- ROCHA, V. P.; QUINTINO, C. D. R.; FERREIRA, E. Q.; MARCOURT, L.; VILEGAS, W.; GRIMALDI, G. B.; SOARES, M. B. Antileishmanial activity of dimeric flavonoids isolated from *Arrabidaea brachypoda*. **Molecules**, v.24, n.1, p.1-13, 2018.
- ROLIM, W. R.; PELEGRINO, M. T.; DE ARAÚJO LIMA, B.; FERRAZ, L. S.; COSTA, F. N.; BERNARDES, J. S.; SEABRA, A. B. Green tea extract mediated biogenic synthesis of silver nanoparticles: Characterization, cytotoxicity evaluation and antibacterial activity. **Applied Surface Science**, v.463, p.66-74, 2019.
- RUDRAMURTHY, G. R.; SWAMY, M. K.; SINNIHAH, U. R.; GHASEMZADEH, A. Nanoparticles: alternatives against drug-resistant pathogenic microbes. **Molecules**, v.21, n.7, p.836-840, 2016.
- SANTOS, S. S. D.; DE COUTO, R. A.; SILVA, I. R. D.; AOUADA, M. R. M.; COSTANTINO, V. R.; COSTA, L. P. D.; PEROTTI, G. F. Production of Silver Nanoparticles Mediated by Aqueous Extracts of Tucumã (*Astrocaryum aculeatum*) Pulp. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v.34, p.705-712, 2023.
- SERVAT-MEDINA, L.; GONZALEZ-GOMEZ, A.; REYES-ORTEGA, F.; SOUSA, I. M. O.; DE CÁSSIA, A. Q. N.; ZAGO, P. M. W.; FOGLIO, M. A. Chitosan-tripolyphosphate nanoparticles as *Arrabidaea chica* standardized extract carrier: synthesis, characterization, biocompatibility, and antiulcerogenic activity. **International Journal of Nanomedicine**, v. 10, p.3897-3909, 2015.
- SHAHZAD, A.; SAEED, H.; IQTEDAR, M.; HUSSAIN, S. Z.; KALEEM, A.; ABDULLAH, R.; CHAUDHARY, A. Size-Controlled Production of Silver Nanoparticles by *Aspergillus fumigatus* BTCB10: Likely Antibacterial and Cytotoxic Effects. **Journal of Nanomaterials**, v.2019, article 5168698, 2019.
- SHRINER, R. L.; HERMANN, C. K.; MORRILL, T. C.; CURTIN, D. Y.; FUSON, R. C. **The systematic identification of organic compounds**. NY, EUA, Wiley, 8 edition, p.1-56. 2003.
- SILVA, G. G.; DA CUNHA, R. N. Avaliação de flavonoides totais e da atividade antioxidante em extratos de aranto (*Kalanchoe daigremontiana*). **Perquirere**, v.2, n.18, p. 205-217, 2021.
- SILVA-SILVA, J. V.; MORAGAS-TELLIS, C. J.; CHAGAS, M. D. S. D. S.; SOUZA, P. V. R. D.; SOUZA, C. D. S. F. D.; HARDOIM, D. D. J.; ALMEIDA-SOUZA, F. Antileishmanial activity of flavones-rich fraction from *Arrabidaea chica* Verlot (Bignoniaceae). **Frontiers in Pharmacology**, v.12, artigo 703985, 2021.
- SILVEIRA, E. R.; CARVALHO, J. C. S.; MATOS, T. M. Da planta ao fármaco: uma

abordagem fitoquímica. **X Botânica no Inverno**, São Paulo, Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo, p.166-184. 2021

SIMONETTI, A. D. C; SAMMY, A. P. Biomoléculas da Amazônia: mapeando potenciais para inovação. **Biomoléculas da Amazônia: mapeando potenciais para Inovação Farmacêutica**, Manaus: Editora UFAM, 1 edição, v.1, p.187-205. 2021.

SINGH, A.; GAUTAM, P. K.; VERMA, A.; SINGH, V.; SHIVAPRIYA, P. M.; SHIVALKAR, S.; SAMANTA, S. K. Green synthesis of metallic nanoparticles as effective alternatives to treat antibiotics resistant bacterial infections: A review. **Biotechnology Reports**, v.25, n.7, p.400-427, 2020.

SIRAICHI, J. T. G.; FELIPE, D. F.; BRAMBILLA, L. Z. S.; GATTO, M. J.; TERRA, V. A.; CECCHINI, A. L.; CORTEZ, D. A. G. Antioxidant capacity of the leaf extract obtained from *Arrabidaea chica* cultivated in Southern Brazil. **PLOS One**, v.8, n.8, p.727-733, 2013.

SOLOMON, S. D.; MULFINGER, L.; BAHADORY, M.; JEYARAJASINGAM, A. V.; RUTKOWSKY, S. A.; BORITZ, C. Synthesis and study of silver nanoparticles. **Journal of Chemical Education**, v.84, n.2, p.322-325, 2007.

SOUZA, I. M. O. **Avaliação da estabilidade do extrato seco e formulações de bases semissólidas, contendo *Arrabidaea chica* Verlot, para uso em cicatrização**. 2013. Dissertação (Mestrado em Biologia) – Instituto de Biologia, Universidade Estadual de Campinas, 2013.

SRIKAR, S. K.; GIRI, D. D.; PAL, D. B.; MISHRA, P. K.; UPADHYAY, S. N. Green synthesis of silver nanoparticles: A review. **Chemistry & Materials Science**. v.6, n.1, p.34-56. 2016.

TAKEMURA, O. S.; IINUMA, M.; TOSA, H.; MIGUEL, O. G.; MOREIRA, E. A.; NOZAWA, Y. A flavone from leaves of *Arrabidaea chica* f. *cuprea*. **Phytochemistry**, v.38, n. 5, p.1299-1300, 1995.

TAKEMURA, O. S. **Flavonoides em folhas de *Arrabidaea chica* (H & B.) Verlot. Carajuru-Bignoniaceae**. 1993. Dissertação (Mestrado em Botânica) – Curso de Pós graduação em Botânica, Universidade Federal do Paraná, Curitiba. 1993.

TANG, S; ZHENG, J. Antibacterial activity of silver nanoparticles: structural effects. **Advanced healthcare materials**, v.7, n.13, p.1701503, 2018.

TECUCIANU, A.C; DRAGHICI, O.; OANCEA, S. Extração enzimática de antocianinas de repolho roxo e sua cinética de degradação térmica. **Acta Alimentaria**, v.49, n.2, p.204-213, 2020.

THAKUR, M.; SINGH, K.; KHEDKAR, R. Phytochemicals: Extraction process, safety assessment, toxicological evaluations, and regulatory issues. In: **Functional and Preservative Properties of Phytochemicals**. San Diego, United States , Editora Academic Press, 1ª Edição, p.341-361. 2020.

TOLEDO, A. C. O *et al.* Biosynthesis and characterization of silver nanoparticles produced with aqueous extract of *Pterodon emarginatus* Vogel-Fabaceae seeds associated with

gentamicin sulfate and hyaluronic acid with potential antimicrobial activity. **Brazilian Journal of Development**, v.6, n.12, p.100655-100677, 2020.

TORMENA, R. P. I.; ROSA, E. V.; MOTA, B. D. F. O.; CHAKER, J. A.; FAGG, C. W.; FREIRE, D. O.; SOUSA, M. H. Evaluation of the antimicrobial activity of silver nanoparticles obtained by microwave-assisted green synthesis using *Handroanthus impetiginosus* (Mart. ex DC.) Mattos underbark extract. **RSC advances**, v.10, n.35, p.20676-20681, 2020.

TSUDA, T.; UENO, Y.; YOSHIKAWA, T.; KOJO, H.; OSAWA, T. Microarray profiling of gene expression in human adipocytes in response to anthocyanins. **Biochemical pharmacology**, v.71, n.8, p.1184-1197, 2006.

VASCONCELOS, C. C.; LOPES, A. J. O.; SOUSA, E. L. F.; CAMELO, D. S.; LIMA, F. C. V. M.; ROCHA, C. Q. D.; CARTÁGENES, M. D. S. D. S. Effects of extract of *Arrabidaea chica* Verlot on an experimental model of osteoarthritis. **International Journal of Molecular Sciences**, v.20, n.19, p.4717, 2019.

VELU, M.; LEE, J. H.; CHANG, W. S.; LOVANH, N.; PARK, Y. J.; JAYANTHI, P.; OH, B. T. Fabrication, optimization, and characterization of noble silver nanoparticles from sugarcane leaf (*Saccharum officinarum*) extract for antifungal application. **3 Biotech**, v.7, p. 1-9, 2017.

VELGOSOVÁ, O.; MRAŽÍKOVÁ, A.; MARCINČÁKOVÁ, R. Influência do pH na síntese verde de nanopartículas de Ag. **Cartas de materiais**, v.180, p.336-339, 2016.

VIANA, A. V.; VIANA, D. D. S. F.; DE FIGUEIRÊDO, G. S.; DE BRITO, J. E.; VIANA, V. G. F. Síntese verde e caracterização de nanopartículas de prata em curcumina e extrato de cajueiro (*Anacardium occidentale*). **Research, Society and Development**, v.10, n.6, p. e11310615512, 2021.

VIJAYARAGHAVAN, K.; ASHOKKUMAR, T. Plant-mediated biosynthesis of metallic nanoparticles: A review of literature, factors affecting synthesis, characterization techniques and applications. **Journal of Environmental Chemical Engineering**, v.5, n.5, p.4866-4883, 2017.

VON POSER, G. L.; SCHRIPEMA, J.; HENRIQUES, A. T.; JENSEN, S. R. The distribution of iridoids in Bignoniaceae. **Biochemical Systematics and Ecology**, v.28, n.4, p. 351-366, 2000.

YADI, M.; MOSTAFAVI, E.; SALEH, B.; DAVARAN, S.; ALIYEVA, I.; KHALILOV, R.; MILANI, M. Current developments in green synthesis of metallic nanoparticles using plant extracts: a review. **Artificial Cells, Nanomedicine, and Biotechnology**, v.46, n.3, p.S336-S343, 2018

YI, K.; CHENG, G.; XING, F. Gelatin/tannin complex nanospheres via molecular assembly. **Journal of applied polymer science**, v.101, n.5, p.3125-3130, 2006.

YU, M. K.; PARK, J.; JON, S. Targeting strategies for multifunctional nanoparticles in cancer imaging and therapy. **Theranostics**, v.2, n.1, p.3-44, 2012.

- YUSUF, S. N. A.; CHE MOOD, C. N. A.; AHMAD, N. H.; SANDAI, D.; LEE, C. K.; LIM, V. Optimization of biogenic synthesis of silver nanoparticles from flavonoid-rich *Clinacanthus nutans* leaf and stem aqueous extracts. **Royal Society Open Science**, v.7, n.7, artigo 200065, 2020.
- WANG, H.; CHENG, M.; HU, J.; WANG, C.; XU, S.; HAN, C. C. Preparation and optimization of silver nanoparticles embedded electrospun membrane for implant associated infections prevention. **ACS Applied Materials and Interfaces**, v.5, n.21, p.11014–11021, 2013.
- WANG, B. C.; HE, R.; LI, Z. M. The stability and antioxidant activity of anthocyanins from blueberry. **Food technology and biotechnology**, v.48, n.1, p.42-49, 2010.
- WAHYUNINGSIH, S.; WULANDARI, L.; WARTONO, M. W.; MUNAWAROH, H.; RAMELAN, A. H. The effect of pH and color stability of anthocyanin on food colorant. **IOP Conference Series: Materials Science and Engineering**, v.193, n.1, artigo 012047, 2017.
- ZAFRA-STONE, S.; YASMIN, T.; BAGCHI, M.; CHATTERJEE, A.; VINSON, J. A.; BAGCHI, D. Berry anthocyanins as novel antioxidants in human health and disease prevention. **Molecular nutrition & food research**, v.51, n.6, p.675-683, 2007.
- ZHAO, X.; ZHOU, L.; RIAZ, M. S. R.; YAN, L.; JIANG, C.; SHAO, D.; JIN, M. Fungal silver nanoparticles: synthesis, application and challenges. **Critical reviews in biotechnology**, v.38, n.6, p.817-835, 2018.
- ZORN, B.; GARCÍA-PIÑERES, A. J.; CASTRO, V.; MURILLO, R.; MORA, G.; MERFORT, I. 3-Desoxyanthocyanidins from *Arrabidaea chica*. **Phytochemistry**, v.56, n.8, p. 831-835, 2001.
- ZUANAZZI, J. A. S.; MONTANHA, J. A. Flavonoides. In: SIMÕES, C. M. O; SCHENKEL, E. P.; GORMANN, G.; MELLO, J. C. P. MENTZ, L. A. PETROVICK, P. R. *Farmacognosia: da planta ao medicamento*. 5 edição. Porto alegre, Florianópolis, Editora UFRG, p.577-614. 2002.