

UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ

TATIANE SATIE SATO

**SÍNTESE DE NANOPARTÍCULAS DE PRATA MEDIADA POR EXTRATO
AQUOSO E ETANÓLICO DE FOLHAS DE *EUGENIA INVOLUCRATA* -
CARACTERIZAÇÃO**

TOLEDO

2022

TATIANE SATIE SATO

**SÍNTESE DE NANOPARTÍCULAS DE PRATA MEDIADA POR EXTRATO
AQUOSO E ETANÓLICO DE FOLHAS DE *EUGENIA INVOLUCRATA* -
CARACTERIZAÇÃO**

**SYNTHESIS OF SILVER NANOPARTICLES MEDIATED BY AQUEOUS AND
ETHANOL EXTRACT OF LEAVES *EUGENIA INVOLUCRATA* -
CHARACTERIZATION**

Dissertação apresentada como requisito para obtenção do título de Mestre em Tecnologia em Biociências da Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR).

Orientador(a): Renato Eising.

Coorientador(a): Inara Staub Prochnau.

TOLEDO

2022



Esta licença permite compartilhamento, remixe, adaptação e criação a partir do trabalho, mesmo para fins comerciais, desde que sejam atribuídos créditos ao(s) autor(es). Conteúdos elaborados por terceiros, citados e referenciados nesta obra não são cobertos pela licença.



**Ministério da Educação
Universidade Tecnológica Federal do Paraná
Campus Toledo**



TATIANE SATIE SATO

**SÍNTESE DE NANOPARTÍCULAS DE PRATA MEDIADA POR EXTRATO AQUOSO E
ETANÓLICO DE FOLHAS DE *EUGENIA INVOLUCRATA* - CARACTERIZAÇÃO**

Trabalho de pesquisa de mestrado apresentado como requisito para obtenção do título de Mestra Em Tecnologias Em Biociências da Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR). Área de concentração: Tecnologias Em Biociências.

Data de aprovação: 10 de
Agosto de 2022

Dr. Renato Eising, Doutorado - Universidade Tecnológica Federal do Paraná

Dr. Douglas Cardoso Dragunski, Doutorado - Universidade Estadual do Oeste

do Paraná (Unioeste) Dra. Viviane Da Silva Lobo, Doutorado - Universidade

Tecnológica Federal do Paraná

Dedico este trabalho à minha família.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente à Deus.

A minha família, por todo apoio e incentivo.

Ao meu orientador professor Renato Eising, pela oportunidade em trabalhar com uma linha de pesquisa tão desafiadora, pela confiança e orientação.

A minha co-orientadora professora Inara Staub Prochnau, por aceitar este desafio e disponibilidade em auxiliar.

Ao Laboratório Multiusuário - LABCA do Campus Toledo da Universidade Tecnológica Federal do Paraná.

A Pontifícia Universidade Católica do Paraná - Campus Toledo, por disponibilizar a estrutura física, para elaboração de grande parte dos experimentos.

Aos técnicos Zélia, Marcielle e José da PUCPR - Campus Toledo, pela disponibilidade em auxiliar sempre que solicitado.

A Eloah pelas análises de Microscopia Eletrônica de Transmissão.

Aos meus amigos e colegas de trabalho.

Aos professores por proporcionarem conhecimento e contribuírem para a minha formação.

Ao Biopark.

Ao Parque da Aves do município de Toledo - PR, em especial a bióloga Lilian por disponibilizar seu tempo, além de acompanhar e orientar na coleta do material vegetal.

RESUMO

As diferentes aplicações de nanopartículas metálicas, em especial as de prata, tem impulsionado a busca por métodos de obtenção de nanopartículas de forma mais segura, atóxica e econômica. Nesse contexto, a síntese de nanopartículas de prata mediada por produtos naturais, como extratos vegetais associado ao potencial das plantas nativas e a biodiversidade, tem-se tornado uma vertente. No presente estudo objetivou-se sintetizar nanopartículas de prata empregando métodos de síntese verde, mediada por extrato aquoso e etanólico de folhas de *Eugenia involucrata*. Os extratos foram preparados por turbólise e foram avaliados quanto a características de pH, perfil fitoquímico e quantificação de compostos fenólicos. A síntese foi realizada variando parâmetros de concentração e pH de extratos no meio reacional, avaliando inicialmente efeitos visuais na alteração de coloração do meio, monitoramento da formação de banda de ressonância plasmônica de superfície por espectrofotometria UV-Vis. A caracterização foi realizada por espectrofotometria com transformada de Fourier e microscopia eletrônica de transmissão. Ambos os extratos apresentaram características ácidas e perfis fitoquímicos semelhantes, a determinação de compostos fenólicos revelou-se superior em extratos aquoso. Quanto a síntese, os resultados evidenciaram que ambos os extratos possuem compostos que atuaram como agentes redutores de íons de prata, sendo que, em pH alcalino, o processo de síntese foi favorecido, com formação de nanopartículas de prata de menor diâmetro. Este estudo confirmou a potencialidade do método extrativo e dos solventes utilizados na obtenção de extratos da espécie como mediadores da síntese de nanopartículas de prata.

Palavras-chave: cerejeira do mato; biossíntese; nanopartículas de prata.

ABSTRACT

The different applications of metallic nanoparticles, especially those of silver, have driven the search for methods to obtain nanoparticles in a safer, non-toxic and economical way. In this context, the synthesis of silver nanoparticles mediated by natural products, such as plant extracts, associated with the potential of native plants and biodiversity, has become a trend. The present study aimed to synthesize silver nanoparticles using green synthesis methods, mediated by aqueous and ethanolic extracts from *Eugenia involucrata* leaves. The extracts were prepared by turbolysis and were evaluated for pH characteristics, phytochemical profile and quantification of phenolic compounds. The synthesis was performed by varying the concentration and pH parameters of extracts in the reaction medium, initially evaluating visual effects on the color change of the medium, monitoring the surface plasmonic resonance band formation by UV-Vis spectrophotometry. The characterization was performed by Fourier transform spectrophotometry and transmission electron microscopy. Both extracts showed similar acidic characteristics and phytochemical profiles, the determination of phenolic compounds proved to be superior in aqueous extracts. As for the synthesis, the results showed that both extracts have compounds that acted as reducing agents of silver ions, and at alkaline pH, the synthesis process was favored, with the formation of smaller diameter silver nanoparticles. This study confirmed the potential of the extractive method and the solvents used to obtain extracts of the species as mediators of the synthesis of silver nanoparticles.

Keywords: cherry tree; biosynthesis; silver nanoparticles.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Processos de obtenção de nanopartículas metálicas (NPMs).....	19
Figura 2 - Principais técnicas utilizadas na obtenção de NPMs por método químico.....	20
Figura 3 - Ilustração das fases de processos de formação das nanopartículas metálicas por redução química.....	21
Figura 4 - Principais fontes para a síntese verde de nanopartículas metálicas.....	22
Figura 5 - Porcentagem de palavras-chave como mediadoras na síntese verde de nanopartículas metálicas.	23
Figura 6 - Mapa dos biomas brasileiros.	25
Figura 7 - Regiões identificadas de ocorrência de <i>Eugenia involucrata</i> no Brasil.	28
Figura 8 - Curva dos padrões de ácido gálico ($\mu\text{g/mL}$) usado na determinação de compostos fenólicos.	40
Figura 9 - Espectros dos extratos obtidos na região do infravermelho (FTIR)..	41
Figura 10 - Fotos dos meios reacionais contendo extrato aquoso (a) e extrato etanólico (b) em diferentes condições, avaliados em 4 tempos distintos (24, 48, 72 e 96 horas).	43
Figura 11 - Gráficos de absorvância versus comprimento de onda comparando as condições com extrato aquoso na concentração 0,5 mg/mL sem ajuste de pH - EA1 (a) e extrato aquoso na concentração 1,0 mg/mL sem ajuste de pH - EA2 (b).....	45
Figura 12 - Gráficos de absorvância versus comprimento de onda comparando as condições com extrato aquoso na concentração 0,5 mg/mL em pH 11 - EA1* (a) e extrato aquoso na concentração 1,0 mg/mL em pH 11 - EA2* (b).	46
Figura 13 - Gráficos de absorvância versus comprimento de onda comparando as condições com extrato etanólico na concentração 0,5 mg/mL sem ajuste de pH - EE1 (a) e extrato etanólico na concentração 1,0 mg/mL sem ajuste de pH - EE2 (b).....	47
Figura 14 - Gráficos de absorvância versus comprimento de onda comparando as condições condições com extrato etanólico na concentração 0,5 mg/mL em pH 11 - EE1* (a) e extrato etanólico na concentração 1,0 mg/mL em pH 11 - EE2* (b).....	47
Figura 15 - Comparativo dos espectros de infravermelho dos extratos e das AgNPs obtidas por síntese verde, sendo (a) referente a condição com extrato aquoso e (b) referente a condição com extrato etanólico.	49
Figura 16 - Imagens representativas das AgNPs e histogramas obtidas obtidas a partir do EA1 (A e B), EA1* (C e D), EA2 (E e F) e EA2* (G e H).....	51
Figura 17 - Imagens representativas das AgNPs e histogramas obtidas obtidas a partir do EE1 (A e B), EE1* (C e D), EE2 (E e F) e EE2* (G e H).....	52

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Condições avaliadas no processo de síntese verde de AgNPs a partir de extratos de folhas de <i>E. involucrata</i>	34
Tabela 2 - Denominações de identificação das condições dos extratos utilizados na síntese.	35
Tabela 3 - Resultados das médias das triplicatas do teor de constituintes extraíveis expresso em porcentagem (%) de resíduo seco e valores médio das leituras em triplicata de pH para o extrato aquoso e etanólico.....	38
Tabela 4 - Resultados do perfil fitoquímico por análise qualitativa realizada para o extrato aquoso e etanólico das folhas de <i>E. involucrata</i> , para os fitocompostos alcalóides, esteróides, flavonóides, polissacarídeos, saponinas, taninos condensados e triterpenos.....	39
Tabela 5 - Média e desvio padrão relativo da determinação de compostos fenólicos expresso em mg equivalente de ácido gálico por grama de extrato de folhas de <i>E. involucrata</i> (mg/Eag/g).....	40
Tabela 6 - Diâmetro médio e morfologia das AgNPs obtidas por síntese verde.	50

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

Ag ⁺	Íon prata
Ag ⁰	Átomo prata
AgNO ₃	Nitrato de prata
AgNPs	Nanopartículas de prata
ATR	Do inglês <i>Attenuated Total Reflectance</i>
FTIR	Infravermelho com transformada de Fourier
MET	Microscopia Eletrônica de Transmissão
NPs	Nanopartículas
NMPs	Nanopartículas metálicas
P&D	Pesquisa e Desenvolvimento
pH	Potencial Hidrogeniônico
ROS	Do inglês <i>Reactive Oxygen Species</i>
SPR	Do inglês <i>Surface Plasmon Resonance</i> (Ressonância Plasmônica de Superfície)
UV-Vis	Espectrofotometria no ultravioleta no visível

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	13
2	OBJETIVO	15
2.1	Objetivo geral	15
2.2	Objetivos específicos	15
3	DESENVOLVIMENTO	16
3.1	Nanociência e Nanotecnologia	16
3.2	Aplicações das nanopartículas metálicas	17
3.3	Síntese de nanopartículas metálicas	18
3.4	Síntese verde mediada por plantas	22
3.5	Produtos naturais	24
3.6	Família <i>Myrtaceae</i>	25
3.7	Gênero <i>Eugenia</i>	26
3.8	<i>Eugenia involucrata</i>	27
4	MATERIAIS E MÉTODOS	30
4.1	Coleta e identificação do material vegetal	30
4.2	Preparo do extrato aquoso e etanólico	30
4.3	Determinação do potencial hidrogeniônico	30
4.4	Determinação de teor de constituintes extraíveis (resíduo seco) ...	31
4.5	Determinação do perfil fitoquímico por análise qualitativa	31
4.5.1	Alcalóides	31
4.5.2	Flavonóides	32
4.5.3	Polissacarídeos	32
4.5.4	Saponinas	32
4.5.5	Taninos	32
4.5.6	Triterpenos e esteróides	33
4.6	Determinação de compostos fenólico	33
4.7	Análise de espectrofotometria na região do infravermelho com transformada de Fourier (FTIR) dos extratos	33
4.8	Síntese de nanopartículas de prata	33
4.9	Monitoramento da síntese de nanopartículas de prata	36
4.10	Caracterização das nanopartículas de prata	36
4.10.1	Espectrofotometria na região do infravermelho com transformada de Fourier (FTIR) das nanopartículas de prata	36

4.10.2	Microscopia eletrônica de transmissão.....	36
4.11	Análise estatística dos dados	37
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	38
5.1	Determinação de teor de constituintes extraíveis (resíduo seco) e pH 38	
5.2	Determinação do perfil fitoquímico por análise qualitativa.....	38
5.3	Determinação de compostos fenólicos.....	39
5.4	Análise de espectrofotometria na região do infravermelho com transformada de Fourier (FTIR) dos extratos	41
5.5	Síntese de nanopartículas de prata	42
5.5.1	Efeitos visuais no meio reacional de síntese.....	42
5.6	Monitoramento da síntese por espectrofotometria uv-visível.....	44
5.7	Caracterização das nanopartículas de prata.....	48
5.7.1	Espectrofotometria na região do infravermelho com transformada de Fourier (FTIR)	48
5.7.2	Microscopia eletrônica de transmissão (MET).....	50
6	CONSIDERAÇÕES FINAIS	54
	REFERÊNCIAS.....	55

1 INTRODUÇÃO

A nanotecnologia nas duas últimas décadas avançou de forma exponencial suas pesquisas, tornando-se um campo promissor. Com o cenário favorável, as nanopartículas metálicas (NPMs) tornaram-se comumente estudadas, em função das propriedades físico-químicas e por suas diversas aplicações, como nas áreas alimentícia, de saúde humana e animal, cosmética, farmacêutica, química e eletrônica (HABIBULLAH; VIKTOROVA; RUMML, 2021; IRAVANI *et al.*, 2014).

Dentre as nanopartículas metálicas amplamente pesquisadas, as nanopartículas de prata tem despertado interesses, devido as suas aplicações e propriedades, em destaque as aplicações na área biomédica (NAJAH-MISSAOUI; ARNOLD; CUMMINGS, 2021). As nanopartículas de prata apresentam atividades antimicrobianas, potencial no diagnóstico e tratamento de doenças oncológicas (LEE; JUN, 2019), aplicações em biossensores para diagnósticos, aplicações na odontologia e em componentes eletrônicos (IRAVANI *et al.*, 2014; XU *et al.*, 2020).

O potencial do emprego das nanopartículas de prata em diferentes segmentos, impulsionou a busca por diferentes métodos de obtenção. Métodos físicos convencionais são empregados com objetivo de ter nanopartículas de características puras, porém o alto custo e o tempo tornam o processo por vezes inviável (ZHANG *et al.*, 2016).

Os métodos químicos comumente usados na síntese, envolvem basicamente a redução química, mas o processo exige uso de reagentes tóxicos e agressivos ao ambiente e à saúde, além de gerarem subprodutos de toxicidade desconhecida, embora sejam métodos amplamente usados, as nanopartículas obtidas por esta técnica requerem um estudo cauteloso das suas aplicações (GUDIKANDULA; CHARYA MARINGANTI, 2016; LEE; JUN, 2019).

Diante das desvantagens e limitações dos métodos convencionais de síntese de nanopartículas metálicas, houve a necessidade do desenvolvimento de métodos alternativos, de modo que fossem ambientalmente e economicamente acessíveis, surgindo abordagens biológicas para a síntese de nanopartículas metálicas, a síntese verde, que usam microrganismos e plantas (LEE; JUN, 2019).

A síntese verde mediada por plantas tem como abordagem métodos simples, rápidos, de baixo custo, sem uso de solventes tóxicos, melhor custo benefício e melhor aceitabilidade em diferentes aplicações, devido à biocompatibilidade, quando

comparadas a técnicas convencionais e com a síntese mediada por microrganismos (GEETHA *et al.*, 2013; HAMIDA *et al.*, 2021; RÓNAVÁRI *et al.*, 2021).

Diversas plantas tem sido empregadas na síntese verde de nanopartículas de prata. E no que diz respeito ao uso de plantas para diversas finalidades, o Brasil apresenta-se como uma importante fonte desse recurso natural (NEWMAN, 2017; RIBEIRO *et al.*, 2018). A variedade de plantas brasileiras confere uma área promissora de pesquisa, para novos medicamentos, tratamentos e uso benéfico das plantas e seus produtos (ROSA *et al.*, 2021).

Ao citar a flora brasileira, a família de plantas *Myrtaceae* destaca-se como sendo uma das famílias mais importantes no território nacional, compreendendo diversos gêneros e espécies. Dentro dessa variedade, a espécie *Eugenia involucrata*, popularmente conhecida como cerejeira do mato, tem demonstrado potencial biológico para atividade antioxidante e antimicrobiana, além de ser uma espécie nativa da região sul do Brasil (INFANTE, 2013; TOLEDO, 2020).

Nesse contexto, o presente estudo propõe a avaliação do potencial de uso de extratos de folhas de *Eugenia involucrata* na obtenção de nanopartículas de prata, por meio do método de síntese verde.

2 OBJETIVO

Nesta seção serão abordados o objetivo principal do trabalho e os objetivos específicos que foram elencados para atingir o objetivo geral.

2.1 Objetivo geral

O objetivo principal deste trabalho consiste em sintetizar nanopartículas de prata empregando um método de síntese verde, mediada por extratos aquoso e etanólico de folhas de *Eugenia involucrata*.

2.2 Objetivos específicos

- Produzir extratos aquoso e etanólico de folhas de *Eugenia involucrata*;
- Determinar o teor de constituintes extraíveis e o pH de cada extrato;
- Determinar o perfil fitoquímico dos extratos por meio de análises qualitativas;
- Determinar compostos fenólicos dos extratos obtidos;
- Sintetizar nanopartículas de prata, empregando os extratos como mediadores da síntese;
- Caracterizar as nanopartículas de prata obtidas.

3 DESENVOLVIMENTO

Nesta seção faz-se uma revisão da literatura na qual são contextualizados os aspectos relacionados a nanotecnologia, as principais aplicações de material nanométrico, as nanopartículas metálicas (NPMs), apresentando o potencial das aplicações das mesmas, com foco nas nanopartículas de prata (AgNPs), um dos nanomateriais mais estudados. Nas subseções seguintes são descritos os processos de síntese convencional para a obtenção de AgNPs, com vantagens e desvantagens de cada método empregado e como é possível obter AgNPs por sínteses alternativas como, a síntese verde mediada por plantas que minimiza as principais desvantagens apresentadas pelos métodos convencionais. Deste modo, são abordados aspectos relacionados as plantas, e o potencial de uma espécie nativa no Brasil, a espécie *Eugenia involucrata*, para o processo de síntese.

3.1 Nanociência e Nanotecnologia

A nanociência consiste no estudo dos fenômenos em escala de nanômetros, que variam entre 1 e 100 nm. Com o desenvolvimento da nanociência e sua aplicação, o termo nanotecnologia tornou-se mais comumente utilizado. A nanotecnologia em sua dimensão envolve o desenvolvimento tecnológico englobando a produção, caracterização e aplicação de materiais em escala nanométrica (ELIAS, 2012).

A nanotecnologia pode ser entendida como um artifício da ciência que pode proporcionar a transformação de diferentes áreas, dentre elas de bens de consumo, saúde, educação e segurança. A tecnologia em escala nanométrica está presente em diversos produtos e materiais no nosso cotidiano, como em produtos cosméticos, em embalagens inteligente de alimentos, na construção civil, na medicina, nas áreas de diagnósticos, em sensores eletrônicos, na agricultura e em tecidos com diferentes propriedades, como antimicrobiana (ALMEIDA *et al.*, 2015; GOMES, 2019).

A obtenção de partículas com dimensões pequenas apresentam propriedades específicas, e, por meio dessas, o desenvolvimento de sistemas com nanoestruturas tornaram mais atrativas, para aplicação em diferentes áreas da ciência (ELIAS, 2017; ALMEIDA, 2015). Devido ao tamanho em escala nanométrica, a razão entre a área de superfície e o volume aumentam a capacidade de se

tornarem mais reativas, o que implica em diversas aplicações, quando comparadas a outros materiais (ALBERNAZ, 2014; ZHANG *et al.*, 2016).

O investimento com nanotecnologia aumentou consideravelmente ao longo dos anos, sendo que mais de 60 países já lançaram programas de apoio a essa tecnologia. Na década de 1990, os Estados Unidos assumiram a liderança no desenvolvimento de programas nacionais para o estudo da nanociência (YU *et al.*, 2016).

No Brasil, o desenvolvimento da nanociência e da nanotecnologia, teve início nos anos 2000, com a publicação de um Edital do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), com o intuito de incentivar pesquisas na área (LAURETH & INVERNIZZI, 2012; LEONEL, 2010).

Tanto a nanociência quanto a nanotecnologia tornaram-se importantes temas no meio científico e industrial, atuando na qualidade de vida da sociedade. Conseqüentemente, o número de estudos vinculados à nanotecnologia e sua aplicabilidade vem aumentando o interesse por pesquisas nesta área (LÓPEZ-LORENTE, VALCÁRCEL, 2016).

3.2 Aplicações das nanopartículas metálicas

As nanopartículas metálicas (NPMs) tem sido amplamente utilizadas em diversas áreas da ciência e tecnologia devido à forma, tamanho e composição que estão diretamente ligados às propriedades físicas, químicas e biológicas. Outras propriedades das nanopartículas metálicas estão sendo exploradas, como as propriedades magnéticas, ópticas e elétricas (LEE; JUN, 2019; ZHANG *et al.*, 2016). As propriedades e aplicações são dependentes das características resultantes da síntese, sendo perceptíveis em estudos que a forma e tamanho das NPMs podem potencializar a sua aplicação (GRAÇA, 2015; AGNIHOTRI; MUKHERJI; MUKHERJI, 2014).

As nanopartículas metálicas apresentam aplicações em produtos relacionados ao bem estar e consumo em diferentes áreas, dentre elas destacam-se a área medicinal e farmacêutica (com o desenvolvimento de formulações de medicamentos "drug delivery", agentes antimicrobianos e cosméticos), na área de diagnóstico (por meio de biossensores e bioimagem celular), na indústria alimentícia (com embalagens que apresentam propriedades antimicrobianas e aditivos

alimentares) e a indústria têxtil (através da engenharia de tecidos) (GRAÇA, 2015; ALMEIDA, 2015).

As NPMs são sintetizadas a partir de vários metais, tais como o ouro, níquel, selênio, ferro, zinco e prata (CHINNASAMY *et al.*, 2019). Entre as várias nanopartículas metálicas disponíveis, as nanopartículas de prata são um dos nanomateriais mais estudados. Do ponto de vista industrial e comercial, essas nanopartículas são as mais utilizadas e que apresentam maior aplicabilidade, devido às características intrínsecas, como estabilidade química, maleabilidade, alta condutividade elétrica e térmica, baixo custo de produção e principalmente atividade antimicrobiana (DURÁN *et al.*, 2019).

3.3 Síntese de nanopartículas metálicas

As técnicas utilizadas na síntese de NPMs, incluindo as nanopartículas de prata (AgNPs), podem ser obtidas por processos físicos e químicos (Figura 1), sendo que em ambas abordagens as nanopartículas resultantes apresentam características e aplicações específicas (BEYENE *et al.*, 2017).

Nos métodos físicos de síntese de NPMs, a abordagem tem como princípio diminuir a massa de um material até atingir tamanhos menores, as mesmas são obtidas por basicamente duas técnicas, a evaporação-condensação e ablação a laser (OLIVEIRA, 2018).

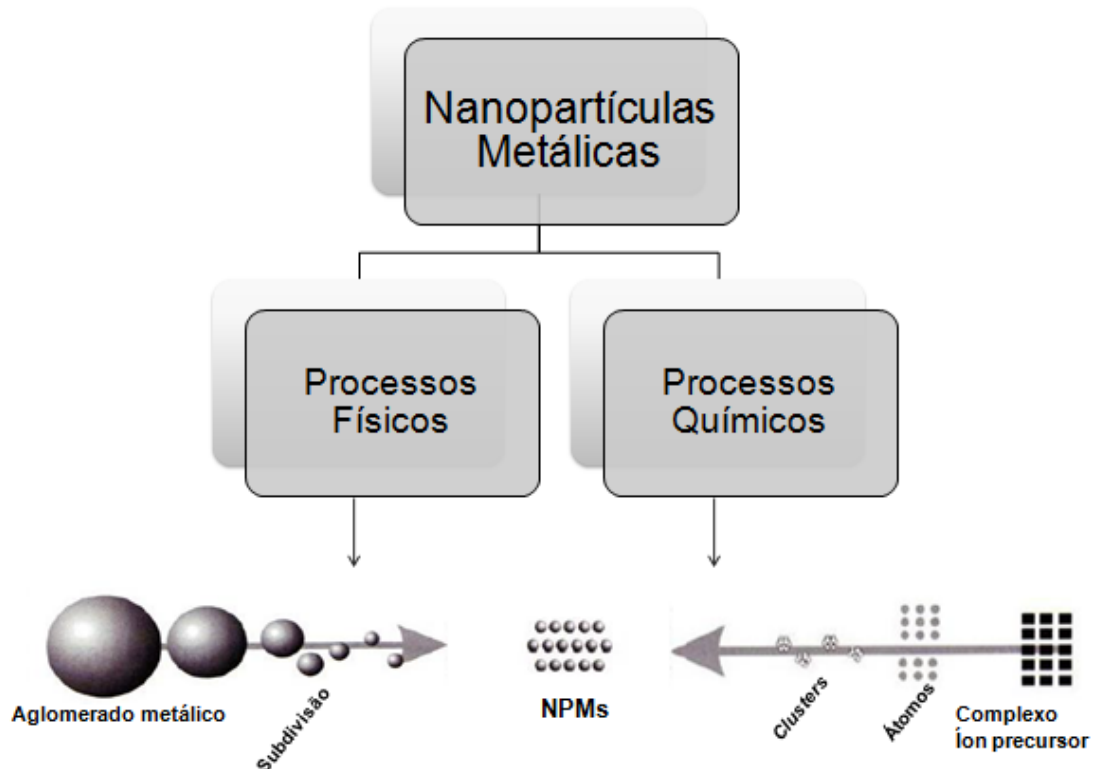
Na técnica de evaporação-condensação, as nanopartículas são obtidas através do que se chama rota de fase gasosa, onde tem-se um forno tubular horizontal, em que no centro, há um recipiente que tem uma fonte de metal, na qual é vaporizada por um gás de arraste, o que permite a síntese. O sistema desse forno tubular pode ser modificado para favorecer o rendimento e tamanho das NPMs (CHUGH *et al.*, 2018).

Embora possam ser controlados o rendimento, forma e tamanho das NPMs, o sistema tubular (forno tubular), ocupa muito espaço físico, podendo acarretar em um consumo excessivo de energia, elevando-se a temperatura devido ao aquecimento da fonte de metal, requerendo assim um tempo maior para atingir a estabilidade térmica operacional (IRAVANI *et al.*, 2014).

Na técnica de ablação a laser, as NPMs são sintetizadas a partir de uma fonte de metal, que é colocada em um meio líquido, esse meio líquido sofre uma irradiação com um laser pulsado, onde passa a conter apenas as nanopartículas da

fonte de metal base, o que elimina a presença de outros íons, compostos ou agentes redutores que não são de interesse na síntese. Parâmetros do laser podem ser modificados para a obtenção das nanopartículas com as características desejáveis para as aplicações pretendidas, essa técnica resulta em nanopartículas de alto grau de pureza, uma vez que, não faz uso de solventes e reagentes tóxicos (LEE; JUN, 2019).

Figura 1 - Processos de obtenção de nanopartículas metálicas (NPMs).



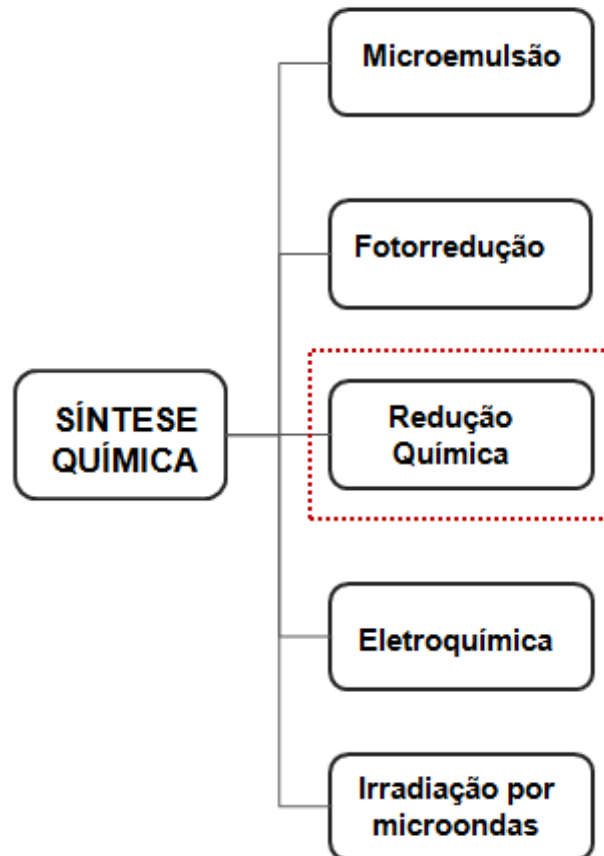
Fonte: adaptado de Elias (2017).

A obtenção de NPMs por métodos químicos consiste em uma das abordagens mais empregadas em escala industrial e acadêmica (AHMED *et al.*, 2016; BEYENE *et al.*, 2017).

A síntese de NPMs por métodos químicos, envolve um processo de redução de um cátion proveniente de um precursor metálico para um elemento de valência zero, através da transferência de elétrons, por exemplo, na síntese por métodos químicos de AgNPs, ocorre a redução de Ag^+ em Ag^0 . Além do precursor metálico, a síntese química faz uso de agentes redutores, porém os mesmos em sua maioria são solventes agressivos e por vezes tóxicos. Este método caracteriza-se como um dos métodos de síntese mais empregados, em função do menor custo de processo, das características físico-químicas das NPMs resultantes que facilitam sua aplicação e

da variedade de técnicas de obtenção, quando comparadas com métodos físicos de síntese (GOMES, 2019; ZHANG et al., 2016). As principais técnicas de síntese de NPMs por métodos químicos são apresentadas na Figura 2.

Figura 2 - Principais técnicas utilizadas na obtenção de NPMs por método químicos.



Fonte: adaptado de Gomes (2019).

A técnica por microemulsão, permite maior controle de tamanho e forma de NPMs, envolve um sistema contendo sal iônico (sal metálico) e outro contendo um agente redutor, quando ambos sistemas são colocados juntos, ocorre a colisão entre as emulsões, ocasionando uma mistura de reagentes, que promovem a redução dos íons de sal metálico para átomos neutros, que posteriormente forma as NPMs (HABIBULLAH; VIKTOROVA; RUMML, 2021).

Na técnica de fotorredução, a redução dos precursores metálicos ocorre sob iluminação. As principais fontes são a luz ultravioleta, luz solar e luz à laser, sendo a mais comumente utilizada a luz ultravioleta, em função disso, a técnica não requer o uso de equipamentos complexos, além de favorecer a formação de NPMs em diferentes superfícies (XU *et al.*, 2020).

No método eletroquímico aplica-se um potencial elétrico que promove a redução de íons metálicos para valência zero, com isso a nucleação e crescimento ocorrem sob um campo elétrico. Neste método as NPMs sintetizadas apresentam diferentes tamanhos (IRAVANI *et al.*, 2014; XU *et al.*, 2020).

No método de irradiação por microondas, ocorre o aquecimento rápido do precursor metálico, favorecendo a formação de núcleos contendo os íons metálicos. Por ocorrer rapidamente, apresenta como vantagem, a economia de tempo de síntese e pode ser usado em larga escala (XU *et al.*, 2020).

A técnica mais empregada dos métodos químicos de síntese é a redução química que ocorre na presença de um sal metálico, na qual é reduzido em átomos metálicos com valência zero. Esses átomos se agregam, formando aglomerados, o que denominam de embriões, que encontram-se em solução e estão envolvidos em um processo denominado de dissociação-condensação. Como novos átomos são gerados nesse sistema, o aglomerado ou embrião, apresenta um aumento de tamanho e se separa da solução, em um processo de nucleação, o resultado deste processo denomina-se como núcleo (Figura 3). Com a formação deste núcleo, os átomos que continuaram sendo gerados no sistema se agregam, formando partículas maiores, as NPMs (ELIAS, 2017; SIGNORI, 2015).

Figura 3 - Ilustração das fases de processos de formação das nanopartículas metálicas por redução química.



Fonte: adaptado de Habibullah; Viktorova; Ruml (2021).

Embora seja um método simples, reprodutível e de custo acessível, a síntese por redução química de íons utiliza reagentes agressivos e tem a formação de resíduos, que podem ser considerados tóxicos para a saúde humana e meio ambiente (ROATA, 2018).

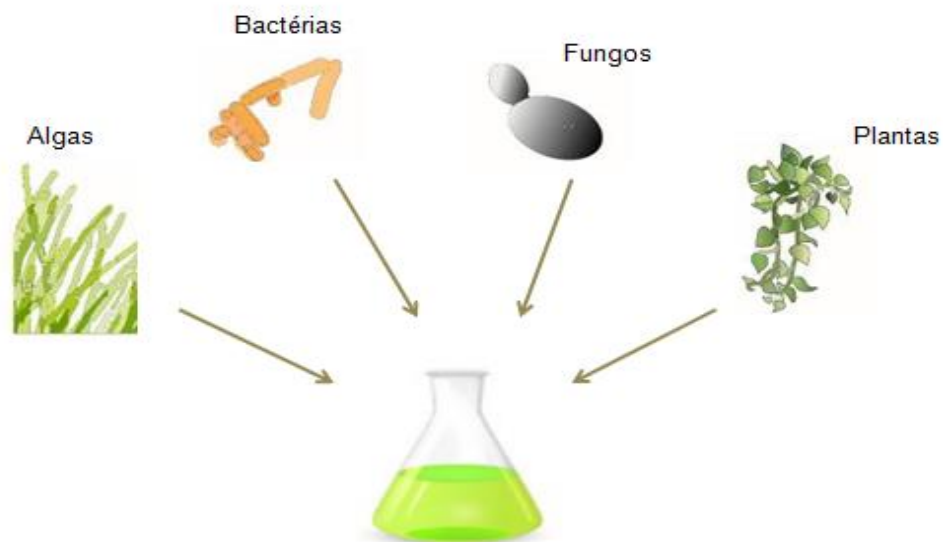
Visando a minimizar esses impactos, surgiu o que foi designado de síntese verde, métodos que utilizam recursos naturais, como microrganismos e plantas, para a obtenção de NPMs. A síntese por processos biológicos tem várias vantagens, como fácil execução, maior economia, menor toxicidade e menos agressivo ao meio

ambiente, sendo uma alternativa para as desvantagens dos métodos convencionais (MONDAL *et al.*, 2020).

A síntese verde de nanopartículas mediada por microrganismos ou plantas, se baseia na redução química dos íons metálicos, porém não requer um agente estabilizador externo, de modo que, os constituintes biológicos do sistema exercem a função de agentes redutores e estabilizantes para as nanopartículas metálicas, tornando um método viável economicamente e ecologicamente (CHINNASAMY; CHANDRASEKHARAN; BHATNAGAR, 2019).

Com a crescente preocupação na otimização de recursos e a demanda por processos, produtos e subprodutos menos agressivos ao ambiente, aliado à popularidade dos métodos verdes, surgiu a possibilidade do uso de diferentes fontes para a síntese verde, como organismos vivos e extratos celulares (Figura 4) (GURUNATHAN *et al.*, 2014; RÓNAVÁRI *et al.*, 2021). Entre as diferentes fontes naturais para obtenção de NPMs, as plantas e produtos vegetais, dentre eles os extratos vegetais estão facilmente disponíveis e consistem em uma das rotas mais convenientes (ESCÁRCEGA-GONZÁLEZ *et al.*, 2018).

Figura 4 - Principais fontes para a síntese verde de nanopartículas metálicas.



Fonte: adaptado de Habibullah; Viktorova; Ruml (2021).

3.4 Síntese verde mediada por plantas

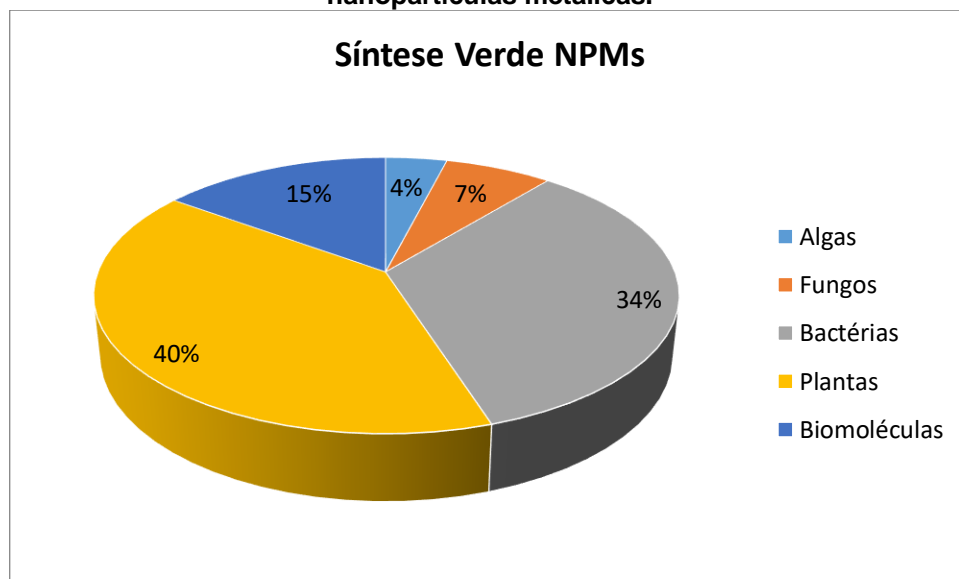
Os métodos físicos e químicos de obtenção de NPMs, por vezes, apresentam diversas desvantagens que podem comprometer a aplicabilidade tecnológica e biológica das nanopartículas resultantes (MOUSAVI *et al.*, 2018;

RAFIQUE *et al.*, 2017). Logo, a busca por uma rota alternativa simples, econômica, sem o emprego de reagentes tóxicos e que forneça produtos de qualidade, ganhou considerável atenção, surgindo dessa forma, a síntese verde, de modo a tornar-se um ramo-chave da nanotecnologia (MATHUR *et al.*, 2018). Neste ramo, as nanopartículas são sintetizadas usando extratos de plantas, fungos, bactérias, algas e vírus.

Nesse contexto, as plantas são excelentes opções para a síntese de NPMs, por apresentarem ampla disponibilidade e grande variedade de metabólitos redutores (OTUNOLA *et al.*, 2017), menor risco biológico e menor custo de isolamento, como no uso de microrganismos (MATHUR *et al.*, 2018).

De acordo com revisão bibliográfica realizada por Rana; Yadav; Jagadevan, (2020), em banco de dados *Scopus*, com base nos últimos 10 anos (período de 2010 a 2019), foi verificado um aumento exponencial de publicações, que relatam a síntese de nanopartículas mediadas por plantas, sendo verificado que em 2010 o número de artigos recuperados foi de 15 publicações e no ano de 2019 foram 149 publicações. Conforme observado ainda, o número de pesquisas que envolve a obtenção de NPMs, apresenta maior porcentagem para as sínteses realizadas a partir de plantas (Figura 5).

Figura 5 - Porcentagem de palavras-chave como mediadoras na síntese verde de nanopartículas metálicas.



Fonte: adaptado de Rana; Yadav; Jagadevan (2020).

Os autores atribuem essa diferença, nos números de pesquisas com plantas, em função da maior variabilidade de compostos presentes nas mesmas, o

que facilita as reações de síntese de nanopartículas metálicas.

Por apresentar uma abordagem promissora, a síntese verde mediada por plantas emprega o uso de extratos de diferentes partes da planta, como raízes, caule, cascas, folhas, flores, frutos e sementes, na biossíntese de nanopartículas metálicas, em especial as nanopartículas de prata, e como resultado, tem-se uma variedade no tamanho e forma dessas nanopartículas (RATAN *et al.*, 2020; HABIBULLAH; VIKTOROVA; RUMML, 2021). Esses extratos contêm uma gama de compostos orgânicos, como enzimas, alcalóides, terpenos, saponinas, flavonóides, taninos, compostos fenólicos, catequinas, grupos funcionais de ácidos carboxílicos, cetonas, álcoois, que são classificados como metabólitos que existem naturalmente nas plantas (AL-RUBAYE *et al.*, 2020; HABIBULLAH; VIKTOROVA; RUMML, 2021).

Os compostos e grupos funcionais presentes nos extratos, tais como flavonóides, alcalóides, taninos e saponinas atuam como agentes redutores na síntese, contribuindo para a redução de Ag^+ a Ag^0 , e simultaneamente, atuam como agentes estabilizadores na reação. Embora, seja o mecanismo de reação mais proposto, o mesmo ainda precisa ser melhor elucidado (KAABIPOUR; HEMMATI, 2021; XU *et al.*, 2020).

A síntese verde de nanopartículas metálicas, a partir de extratos vegetais, pode ser influenciada por diferentes parâmetros, como temperatura, tempo de síntese, pH, concentração de extrato e sal metálico. Além disso, a seleção da planta, e a parte a ser utilizada, bem como o processo extrativo dos compostos, torna-se fundamental na síntese (RAFIQUE *et al.*, 2017).

3.5 Produtos naturais

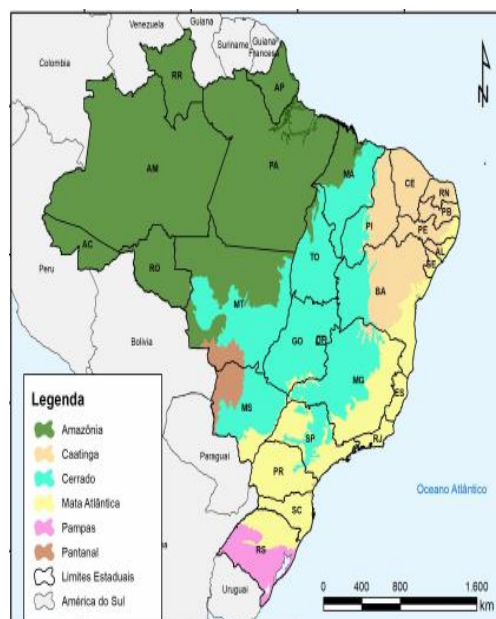
O uso de plantas e derivados vegetais para profilaxia e tratamento de doenças é datada desde a antiguidade por diversas civilizações (BHATTACHARYA, 2017). Pode-se atribuir a utilização de plantas com propriedades medicinais, ao conhecimento tradicional passado de geração em geração. O emprego na medicina popular brasileira, deve-se à mistura de culturas (BOLSON *et al.*, 2015).

O Brasil possui a maior extensão territorial da América do Sul, sendo classificado efetivamente como o quinto maior país do mundo (NEWMAN, 2017). A grandeza em área territorial abriga seis diferentes biomas (Figura 6), estes biomas contribuem para uma rica diversidade em termos de fauna e flora. Estima-se que cerca de 20 a 22% de toda biodiversidade mundial esteja concentrada no país, com

aproximadamente 46 mil espécies de algas, fungos e plantas identificadas e catalogadas (AMPARO *et al.*, 2021; GUIMAR, 2017).

A flora brasileira, consiste em uma importante fonte de compostos ativos, sendo fonte primária para descoberta de novos compostos. A investigação do potencial das plantas medicinais brasileiras possibilita uma nova alternativa para o tratamento de diversas doenças. Considerando o potencial terapêutico das plantas e produtos naturais, pesquisas tem sido realizadas, concentrando-se nas atividade promissoras de plantas medicinais (RIBEIRO *et al.*, 2018; SANTOS *et al.*, 2018).

Figura 6 - Mapa dos biomas brasileiros.



Fonte: Nascimento, Ribeiro (2017).

Nesse sentido, estudos com plantas buscam correlacionar a interação dos metabólitos secundários presentes nas plantas, com as atividades biológicas desempenhadas, como atividade antioxidante e antimicrobiana (AZEVEDO *et al.*, 2011; SANTOS *et al.*, 2018).

3.6 Família *Myrtaceae*

A família *Myrtaceae* apresenta distribuição pantropical, de modo que sua distribuição geográfica se concentra em regiões tropicais e subtropicais, tendo como principais centros de ocorrência e com maior diversidade de espécies, as regiões da

América do Sul e Austrália (FAMUYIDE *et al.*, 2019; FERREIRA *et al.*, 2020; LIMA; CADDAH; GOLDENBERG, 2015; STADNIK; OLIVEIRA; ROQUE, 2016).

Myrtaceae é considerada uma das famílias de plantas mais importantes da flora brasileira, com 23 gêneros e mais de 1000 espécies presentes em todo o território nacional, compreendendo diversos tipos de vegetação, sendo associada a uma das famílias com maior riqueza de espécies vegetais (SILVA; MAZINE, 2016; LIMA; CADDAH; GOLDENBERG, 2015; MORAIS; CONCEIÇÃO; NASCIMENTO, 2014).

Por englobar espécies de plantas lenhosas, que variam de arbustos a árvores altas, a família *Myrtaceae* não se destaca somente pela ampla distribuição de espécies, mas apresenta valor econômico, em função do uso da madeira para produção de papel, carvão e construção. Algumas espécies dessa família possuem frutas comestíveis, utilizadas na fabricação de sucos, geleias e doces, ou especiarias, sendo outras espécies usadas como decorativas (CASCAES *et al.*, 2015; MONTALVÁN *et al.*, 2019).

Além dos fatores que contribuem para o destaque dessa família, o seu uso na medicina popular para tratamento e profilaxia de doenças tem sido notório, por meio de pesquisas com as diversas espécies compreendidas na família *Myrtaceae*. As principais propriedades exploradas como efeitos terapêuticos são atividades antifúngica, antibacteriana, antioxidante, hipoglicêmica, antiinflamatórias e distúrbios gastrointestinais (FERREIRA *et al.*, 2020; RODRIGUES *et al.*, 2016; MONTALVÁN, *et al.*, 2019; FAMUYIDE *et al.*, 2019).

3.7 Gênero *Eugenia*

A família *Myrtaceae* apresenta ampla distribuição e dentre os mais diferentes gêneros e espécies de plantas dessa família, o gênero *Eugenia* se destaca. Possui mais de 500 espécies e aproximadamente 400 são encontradas no Brasil, ocorrendo em todos os estados e biomas nacionais, com maior ocorrência na Mata Atlântica, onde o gênero apresenta maior dominância (GIARETTA *et al.*, 2019; LAZARINI *et al.*, 2020; SIMÕES *et al.*, 2018).

As espécies do gênero *Eugenia* apresentam frutas comestíveis, possuindo relevância ecológica, uma vez que, os frutos são fontes de alimento. Além disso, o consumo das frutas *in natura*, o consumo de geleias, doces e licores a partir das frutas, aliado ao uso da madeira e de algumas espécies para fins ornamentais, torna

este gênero importante economicamente (LAZARINI *et al.*, 2020; VASCONCELOS *et al.*, 2018). As frutas do gênero apresentam alto valor nutricional, sendo amplamente recomendadas como fontes de minerais, vitaminas, compostos fenólicos, carotenóides, açúcares, fibras e outros compostos bioativos (ARAÚJO *et al.*, 2019).

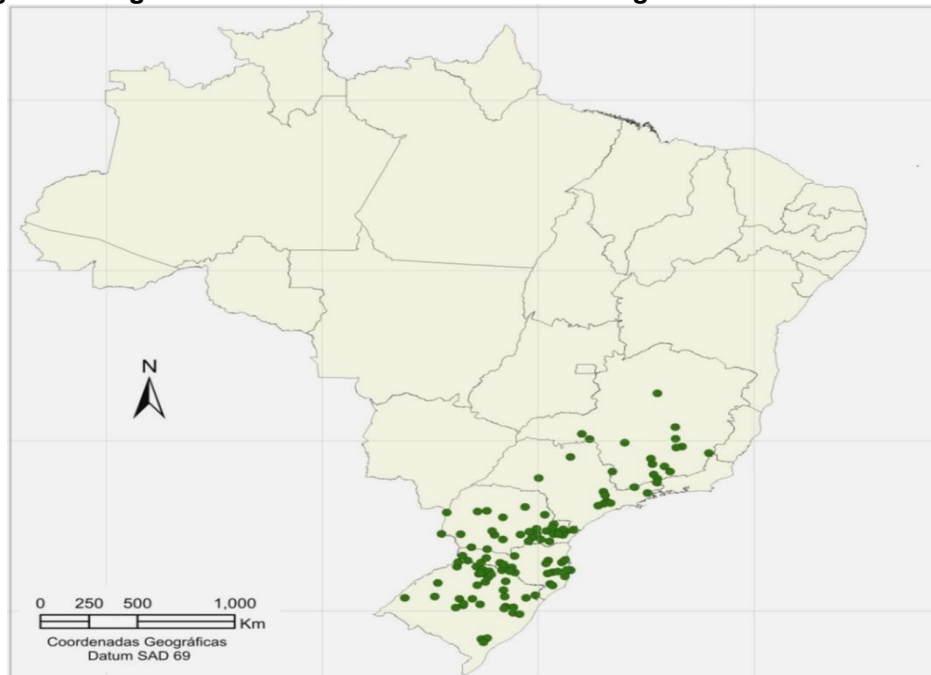
Além da importância econômica, o gênero está sendo estudado em diversos aspectos, fato evidenciado pelo número de pesquisas e publicações, que investigam o potencial farmacêutico, baseado em características nutricionais e propriedades farmacológicas, como atividade antioxidante, antimicrobiana, antiinflamatório e digestiva (PAULO FARIAS *et al.*, 2020; GIARETTA *et al.*, 2019; SARDI *et al.*, 2017).

No que tange o uso na medicina popular, são usadas principalmente em infusões, como agente diurético, antimicrobiano, hipotensor, hipoglicêmico, doenças estomacais e inflamatórias (COSTA *et al.*, 2016; COSTA *et al.*, 2020)

3.8 *Eugenia involucrata*

A espécie *Eugenia involucrata*, popularmente conhecida como "cerejeira-do-mato" e "cerejeira-do-Rio-Grande", é uma espécie arbórea nativa da região Sul do Brasil, ocorrendo nos estados de Minas Gerais ao Rio Grande do Sul, conforme apresentado na Figura 7, além das regiões brasileiras, a espécie também tem ocorrência em alguns países da América do Sul, como Argentina, Uruguai e Paraguai (CARVALHO, 2009).

Figura 7 - Regiões identificadas de ocorrência de *Eugenia involucrata* no Brasil.



Fonte: Carvalho (2009).

A espécie apresenta folhas simples com face superior verde escura e brilhosa, o caule escamante de cor cinza amarronzado e verde, com a produção de frutos comestíveis vermelho escuros (BARZOTTO *et al.*, 2019; DEGENHARDT; FRANZON; COSTA, 2007).

A cerejeira do mato apresenta importância ecológica, por se tratar de uma espécie empregada na recuperação de áreas degradadas, principalmente pelo fato dos frutos serem consumidos pela avifauna, além de contribuir atraindo agentes polinizadores. Também pode ser utilizada como planta ornamental pela beleza de suas flores (GUERRA *et al.*, 2016; WAGNER, 2017).

Os frutos além de serem consumidos por animais, são próprios para consumo humano, sendo apreciados in natura, ou utilizados para produção de doces, geleias, licores e sucos (CARVALHO, 2009; TORRES DE SOUZA *et al.*, 2015).

Na medicina popular suas folhas são usadas na forma de chás, principalmente com ação antidiarreica e digestivas (SAUSEN *et al.*, 2009), além de serem usados como hipoglicemiantes (TROJAN-RODRIGUES *et al.*, 2012).

Além dos aspectos econômicos e ecológicos, a espécie tem demonstrado potencial biológico, sendo que na literatura estudos investigando atividade biológicas dos extratos das folhas, frutos e sementes são encontrados. Nicácio *et al.*, (2017), avaliaram o potencial antioxidante da fruta de *E. involucrata*, na qual sementes e

cascas, apresentaram maior potencial antioxidante, porém a determinação de compostos fenólicos foi maior na polpa. Extratos das sementes também demonstraram atividade antitumoral e capacidade antioxidante (GIRARDELO *et al.*, 2020). TOLEDO *et al.*, (2020) identificaram 28 compostos do óleo essencial das folhas de *E. involucrata*, e avaliaram a atividade bacteriana, com resultados de inibição satisfatórios para bactérias gram-positivas.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

Nesta seção serão apresentados as metodologias utilizadas nesta pesquisa. Os métodos abrangem desde a coleta do material vegetal, processamento para obtenção dos extratos, análises quantitativas e qualitativas dos mesmos e o processo de síntese verde de AgNPs a partir dos extratos, bem como, os testes indicativos de formação de AgNPs.

4.1 Coleta e identificação do material vegetal

A coleta das folhas de *Eugenia involucrata* foi realizada no Parque das Aves do município de Toledo, região oeste do estado do Paraná, no mês de agosto de 2019. A localização geográfica da coleta contempla as informações S 24°43'34.529", W 53°44'41.189". A espécie já se encontrava devidamente identificada pela bióloga Lilian Q. Cardoso, e a amostra do material botânico (exsicata), já havia sido anteriormente depositada e registrada no herbário central da Pontifícia Universidade Católica do Paraná - Campus Curitiba, sob o registro HUCP 24563, pois a mesma planta foi utilizada em trabalho anterior (SATO *et al.*, 2018).

4.2 Preparo do extrato aquoso e etanólico

As folhas foram separadas e lavadas com água corrente, sem fricção e posteriormente foram submetidas à secagem em estufa de circulação de ar a 40°C por quatro dias. As folhas secas foram moídas em moinhos de facas (TECNAL, TE-650), até obtenção de pó fino.

A partir da amostra seca e moída, foram preparados extratos na proporção 1:10 (amostra vegetal: solvente), pelo método de turbólise por 10 minutos, usando como solvente, álcool etílico 99% (Qhemis) e água destilada. Os extratos obtidos, foram filtrados em papel filtro qualitativo.

4.3 Determinação do potencial hidrogeniônico

A aferição do potencial hidrogeniônico (pH) dos extratos foram realizados em triplicata, a temperatura de 25°C em pHmetro previamente calibrado da marca HANA® e modelo HI 2222.

4.4 Determinação de teor de constituintes extraíveis (resíduo seco)

A determinação do teor de constituintes extraíveis (resíduo seco) foi realizada conforme método da Farmacopéia Brasileira, (2010). Foram adicionados volumetricamente 10 mL de extratos em placas de petri, previamente dessecadas em estufa à 105°C, e pesadas. As placas contendo os extratos foram submetidas à aquecimento em estufa por 4 horas a 105°C e, posteriormente, foram deixadas em dessecador até atingir temperatura ambiente. As mesmas foram pesadas e realizou-se o cálculo de teor de constituintes extraíveis expresso em porcentagem (%) de resíduo seco em relação a massa do extrato.

4.5 Determinação do perfil fitoquímico por análise qualitativa

A determinação do perfil fitoquímico do extrato aquoso e etanólico foi realizada com base em procedimentos de reações colorimétricas e/ou formação de precipitado após adição de determinados reagentes e formação de espuma após agitação mecânica. Todas as reações foram realizadas em triplicata e os resultados expressos em reação positiva (+) para a presença do composto avaliado e reação negativa (-) para ausência do composto nos extratos.

4.5.1 Alcalóides

Para os compostos alcalóides foi aplicado metodologia conforme Filho e Castro (2018). Em béquer de 100 mL aqueceu-se em banho-maria a 90°C por 10 minutos, 3 mL de extrato e 2,5 mL de solução de ácido clorídrico 10% (m/v). A solução foi resfriada a temperatura ambiente de 25°C. E em 3 tubos de ensaio foram adicionados 1 mL da solução e posteriormente foram acrescentados nestes tubos os seguintes reativos:

- Tubo 1 - 0,5 mL de reativo Mayer. Reação positiva com formação de precipitado branco ou turvação da solução.
- Tubo 2 - 0,5 mL do reativo de Wagner. Reação positiva com formação de precipitado alaranjado.
- Tubo 3 - 0,5 mL do reativo de Libermann-Bouchard. Reação positiva com formação de precipitado alaranjado ao avermelhado.

4.5.2 Flavonóides

Para o teste de presença ou ausência da classe de flavonóides foi realizado o teste de Shinoda, conforme metodologia adotada por Sousa (2020). Onde em tubo de ensaio contendo 3 mL de extrato, foram adicionados uma pequena fração de fita de magnésio (aproximadamente 0,5 cm de diâmetro) e 1 mL de ácido clorídrico P.A. A solução exibe efervescência total no final da reação.

4.5.3 Polissacarídeos

Os compostos polissacarídeos foram avaliados conforme método proposto por Filho e Castro (2018). Onde 3 mL de extrato foram adicionados em tubo falcon contendo 5 mL de água destilada. A solução foi homogeneizada por inversão por aproximadamente 30 segundos, após foi adicionado 0,5 mL de solução de lugol 1% (m/v). Reação é positiva com visualização de coloração azul.

4.5.4 Saponinas

Para determinação de saponinas, foi adotado metodologia aplicada no trabalho de Sousa (2020). Em tubo falcon, foram adicionados 10 mL de água deionizada e 5 mL de extrato. Foi agitado vigorosamente em agitador do tipo vórtice por 2 minutos para formação de espuma. A reação apresenta-se positiva se a espuma formada permanecer após repouso por 15 minutos.

4.5.5 Taninos

O ensaio para taninos, foi realizado conforme metodologia proposta por Oliveira *et al.*, (2017), adaptada. Em tubo de ensaio contendo 2 mL de extrato adicionou-se 10 mL de água destilada, nos quais foram adicionadas 2 gotas de cloreto férrico 10%. A coloração azul indica presença de taninos hidrolisáveis, e coloração verde de taninos condensados.

4.5.6 Triterpenos e esteróides

A metodologia para avaliação destes compostos foi conforme método adaptado de Oliveira *et al.* (2017). Em tubos de ensaios contendo 2 mL de extrato, foram adicionados 5 mL de clorofórmio, em cada tubo procedeu as reações de Liebermann-Burchard e Salkowski. Os triterpenos desenvolvem coloração estável e os esteróides desenvolvem coloração mutável com o tempo (15 minutos).

4.6 Determinação de compostos fenólicos

A determinação de compostos fenólicos foi realizada pelo método espectrofotométrico de Folin-Ciocalteu, que envolve a redução do reagente por compostos fenólicos presentes na amostra vegetal. A metodologia adotada foi conforme metodologia descrita por Sato *et al.* (2018).

Em tubos de ensaios foram adicionados 200 μL da solução amostra, 1000 μL do reagente de Folin-Ciocalteu e após foram adicionados 800 μL de carbonato de sódio (7,5%). A mistura ficou incubada à temperatura de $\pm 25^\circ\text{C}$ por 1 hora e a leitura foi realizada em espectrofotômetro (FENTO, Cirrus 80), com comprimento de onda de 765 nm. Nestas mesmas condições, submeteu-se a solução padrão de ácido gálico nas concentrações de 20 a 70 μL , para obtenção da curva de calibração. Como branco, foi utilizada a solução empregada no preparo da curva, sem adição do ácido gálico. A quantidade de compostos fenólicos dos extratos foi determinada em $\mu\text{g}/\text{mL}$ e a determinação foi realizada em triplicata.

4.7 Análise de espectrofotometria na região do infravermelho com transformada de Fourier (FTIR) dos extratos

A análise de espectrofotometria na região do infravermelho foi realizada em espectrômetro Perkin Elmer[®], utilizando o acessório de reflexão total atenuada (ATR - *Attenuated Total Reflectance*), que possui sensor de diamante, na faixa espectral de 4000-650 cm^{-1} com resolução de 2 cm^{-1} e 32 scans.

4.8 Síntese de nanopartículas de prata

Diversos parâmetros podem interferir em reações de síntese verde de AgNPs, tais como composição e concentração dos extratos, temperatura, tempo de síntese e pH do meio reacional. Sendo assim, neste trabalho foram elencados

algumas variáveis que podem interferir na síntese de AgNPs, conforme apresentado na Tabela 1.

Tabela 1 - Condições avaliadas no processo de síntese verde de AgNPs a partir de extratos de folhas de *E. involucrata*.

Fator	Condição
Solvente extrator	Aquoso
	Etanólico
Concentração de extrato	0,5 mg/mL
	1,0 mg/mL
pH do meio reacional	Sem ajuste de pH
	pH 11

Fonte: Autoria própria (2022).

Os extratos das folhas de *E. involucrata* foram rotaevaporados, congelados e liofilizados para maior conservação do material. A partir do material liofilizado, os extratos foram ressuspensos em água destilada, filtrados e diluídos sucessivamente até obtenção das concentrações de 0,5 mg/mL e 1,0 mg/mL.

Para cada extrato, nas diferentes concentrações obtidas, foi determinado o potencial hidrogênionico (pH), com auxílio de pHmetro, previamente calibrado. Na sequência, foram separadas duas alíquotas de cada extrato, sendo que na primeira alíquotas apenas verificou-se o pH, isto é, sem realizar quaisquer ajuste do mesmo; e na segunda alíquota, o pH foi ajustado com solução de hidróxido de sódio (NaOH) 0,1 mol/L até obtenção de pH 11. Para evitar repetição de termos criou-se denominações das condições avaliadas, conforme apresentado na Tabela 2.

Tabela 2 - Denominações de identificação das condições dos extratos utilizados na síntese.

Condição	Denominação
Extrato Aquoso 0,5 mg/mL	EA1
Extrato Aquoso 1,0 mg/mL	EA2
Extrato Aquoso 0,5 mg/mL em pH 11	EA1*
Extrato Aquoso 1,0 mg/mL em pH 11	EA2*
Extrato Etanólico 0,5 mg/mL	EE1
Extrato Etanólico 1,0 mg/mL	EE2
Extrato Etanólico 0,5 mg/mL em pH 11	EE1*
Extrato Etanólico 1,0 mg/mL em pH 11	EE2*

Fonte: Autoria própria (2022).

Balashanmugam *et al.* (2016), avaliaram o impacto de diferentes concentrações de solução aquosa de AgNO_3 na síntese mediada por folhas de *C. roxburghii*, verificando que, concentrações baixas dessa solução, na faixa de 5×10^{-4} mol/L não ocorrem reação de alteração de cor e conseqüentemente não ocorre formação de AgNPs, diferentemente do que é observado ao aumentar-se a concentração de AgNO_3 , porém concentrações superiores a 1×10^{-3} mol/L resultam em formação de aglomerados no meio reacional, além de promover deslocamento de pico de ressonância plasmônica de superfície. Observação semelhante foi realizada por Moteriya; Chanda (2018), com extratos de caules de *Caesalpinia pulcherrima*. Diante de dados na literatura relacionado à otimização da concentração da solução aquosa de AgNO_3 empregada na síntese de AgNPs mediadas por plantas, optou-se por usar a concentração de 1×10^{-3} mol/L de solução aquosa de AgNO_3 nas reações de síntese.

Para a síntese de AgNPs foram adicionados em tubos de vidro, solução aquosa de nitrato de prata (AgNO_3) na concentração fixa de 1×10^{-3} mol/L e extrato, na proporção de 5:1 respectivamente. Os tubos foram tampados e a reação foi realizada sob temperatura controlada de $25^\circ\text{C} \pm 2^\circ\text{C}$ ao abrigo da luz. A reação de síntese foi evidenciada pela alteração de cor do meio reacional e monitorada por espectrofotometria UV-visível, em espectrofotômetro FENTO® (Cirrus 80).

4.9 Monitoramento da síntese de nanopartículas de prata

Para monitorar o progresso das reações de síntese foram realizadas varreduras na faixa de 300 a 800 nm, com intervalo de leitura de 1 nm, utilizando cubeta de quartzo com percurso óptico de 1 cm, em espectrofotômetro UV-visível (FENTO®, Cirrus 80). As reações foram monitoradas em diferentes tempos, dos quais incluíram 1 hora, referente ao tempo inicial e a cada 24 horas foram realizadas as leituras até o tempo final de 240 horas.

4.10 Caracterização das nanopartículas de prata

4.10.1 Espectrofotometria na região do infravermelho com transformada de Fourier (FTIR) das nanopartículas de prata

A análise de espectroscopia na região do infravermelho foi espectralmente Perkin Elmer®, utilizando o acessório de reflexão total atenuada (ATR - *Attenuated Total Reflectance*), que possui sensor de diamante, na faixa espectral de 4000-650 cm^{-1} com resolução de 2 cm^{-1} e 32 scans. Com o intuito de identificar possíveis grupos funcionais presentes nos extratos que atuaram diretamente na síntese de AgNPs.

4.10.2 Microscopia eletrônica de transmissão

A análise de Microscopia Eletrônica de Transmissão (MET) foi realizada segundo metodologia empregada no trabalho de Reolon (2019), em microscópio eletrônico de transmissão (JEM-1011), no laboratório Central de Microscopia Eletrônica (LCME-UFSC). As amostras foram preparadas por técnica de gotejamento, com volume de aplicação de 4 μL das suspensões em grades de cobre recobertas com filme de carbono de 200 mesh por oito vezes, posteriormente foi realizada a análise. A partir das imagens obtidas por microscopia eletrônica de transmissão, a medição do tamanho das AgNPs obtidas foi realizada, utilizando o software ImageJ.

4.11 Análise estatística dos dados

Os dados quantitativos da determinação de teor de constituintes extraíveis, média da determinação do potencial hidrogeniônico e determinação de compostos fenólicos foram realizados utilizando Microsoft Excel® 2007 e os gráficos apresentados nesta pesquisa foram plotados no programa OriginPro® 8.5.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Nesta seção, serão apresentados os resultados referentes aos extratos, a síntese de AgNPs e a caracterização realizada, bem como, a correlação com dados encontrados na literatura.

5.1 Determinação de teor de constituintes extraíveis (resíduo seco) e pH

As porcentagens de teor de constituintes extraíveis expressos em resíduo seco de extrato e os valores de pH obtidos encontram-se apresentados na Tabela 3.

Tabela 3 - Resultados das médias das triplicatas do teor de constituintes extraíveis expresso em porcentagem (%) de resíduo seco e valores médio das leituras em triplicata de pH para o extrato aquoso e etanólico.

Extrato	Resíduo seco (%)	PH
Aquoso	2,23 ± 0,23 ^a	5,16 ± 0,30 ^a
Etanólico	3,27 ± 1,02 ^a	4,17 ± 1,00 ^a

^a Desvio padrão relativo (%). Fonte: Autoria própria (2022).

Com base nos valores de pH obtidos, ambos os extratos apresentaram característica ácida, de modo que ao realizar um comparativo observa-se que há uma sutil diferença de acordo com o solvente extrator utilizado. Sendo o extrato etanólico ligeiramente mais ácido que o extrato aquoso. Provavelmente, os perfis ácidos exibidos pelos extratos derivam da quantidade de compostos ácidos extraíveis, tais como ácido elágico, ácido mandélico e ácido p - cumárico, nessa espécie (CIPRIANI *et al.*, 2020; INFANTE *et al.*, 2016; NICÁCIO *et al.*, 2017).

Observa-se ainda que o teor de constituintes extraíveis expressos em resíduo seco, foi maior empregando o etanol como solvente extrator. O maior teor de constituintes extraíveis no extrato etanólico atribui-se ao fato das características químicas dos compostos, bem como das características de polaridade do solvente extrator (COSTA; HOSCHEID, 2018; MOREIRA *et al.*, 2010; SANTOS, 2018).

5.2 Determinação do perfil fitoquímico por análise qualitativa

A avaliação do perfil fitoquímico qualitativo faz-se necessário para conhecimento das classes de metabólitos presentes nos extratos. A triagem fitoquímica tem como intuito identificar classes de metabólitos por ensaios colorimétricos e de precipitação (MARQUES *et al.*, 2017; RIBEIRO, 2020; ROSA *et al.*, 2016).

Na Tabela 4 estão apresentados os resultados qualitativos do perfil fitoquímico obtido nos extratos avaliados.

Tabela 4 - Resultados do perfil fitoquímico por análise qualitativa realizada para o extrato aquoso e etanólico das folhas de *E. involucrata*, para os fitocompostos alcalóides, esteróides, flavonóides, polissacarídeos, saponinas, taninos condensados e triterpenos.

Fitocompostos	Aquoso	Etanólico
Alcalóides	-	+
Esteróides	-	+
Flavonóides	+	+
Polissacarídeos	-	-
Saponinas	+	+
Taninos Condensados	+	+
Triterpenos	-	+

Reação positiva (+) negativa (-). Fonte: Autoria própria (2022).

A partir da análise fitoquímica, foi possível verificar que os extratos apresentam perfis semelhantes, com diferenças em algumas classes de compostos como alcalóides, esteróides e triterpenos.

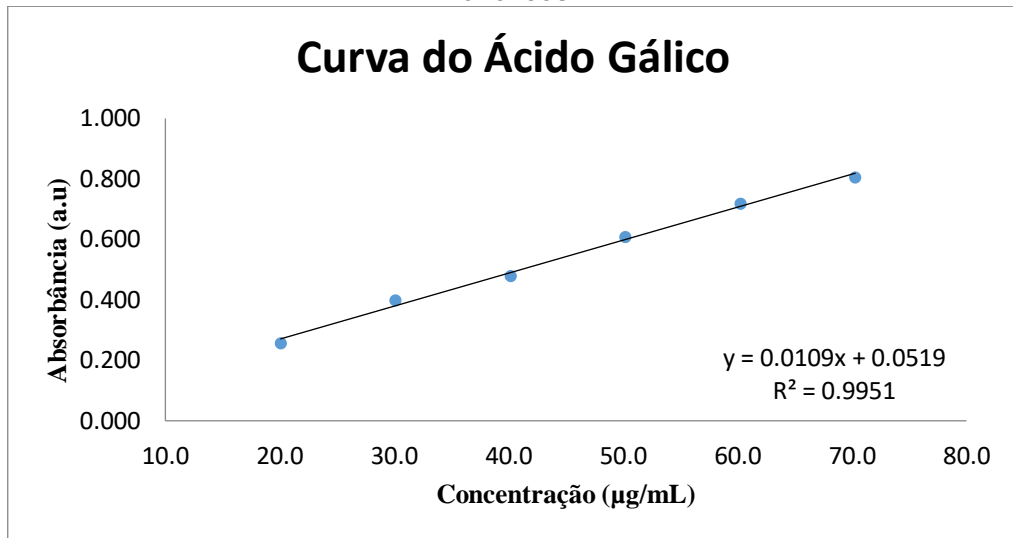
Flavonóides, saponinas e taninos condensados foram observados nos dois extratos, o que corrobora com o estudo realizado por Toledo *et al.* (2023) em que obtiveram estas três classes de compostos nos extratos etanólico e aquoso de folhas de *E. involucrata*.

Apesar de poucos estudos quanto à composição fitoquímica de extratos de folhas de *E. involucrata*, pesquisas realizadas com o gênero têm demonstrado que as classes comumente encontradas são de flavonóides, saponinas, taninos e triterpenos, como observados em estudos com folhas de *E. pyriformis* (CHAVASCO *et al.*, 2012), *E. dysenterica* (CECÍLIO *et al.*, 2014) e *E. florida* (BASTOS *et al.*, 2019).

5.3 Determinação de compostos fenólicos

A determinação de compostos fenólicos nos extratos aquoso e etanólico de folhas de *E. involucrata*, foi realizada por meio da equação da reta $y = 0,010x + 0,051$, obtida a partir da curva de calibração das soluções padrões de ácido gálico. A curva apresentou um coeficiente de correlação de $R^2 = 0,995$ (Figura 8), e os resultados foram expressos em mg equivalente de ácido gálico por grama de extrato (Tabela 5).

Figura 8 - Curva dos padrões de ácido gálico ($\mu\text{g/mL}$) usado na determinação de compostos fenólicos.



Fonte: Autoria própria (2022).

Tabela 5 - Média e desvio padrão relativo da determinação de compostos fenólicos expresso em mg equivalente de ácido gálico por grama de extrato de folhas de *E. involucrata* (mg/Eag/g).

Extrato	Compostos Fenólicos (mg/Eag/g)
Aquoso	228,2 \pm 1,60
Etanólico	192,5 \pm 0,12

Fonte: Autoria própria (2022).

Pode-se observar que o extrato aquoso obteve maior extração de compostos fenólicos quando comparado com o extrato etanólico, tal fato pode ser atribuído à polaridade dos compostos fenólicos, uma vez que, apresentam características mais polares. Moreira *et al.*, (2010) e Santos (2018) relatam em seus trabalhos que para maior extração de compostos fenólicos, uma série de fatores devem ser considerados, dentre estes fatores, a escolha do solvente extrator deve ser ponderada de acordo com as características dos compostos potencialmente extraíveis, sendo que para compostos fenólicos a escolha de solvente mais polar é preferível.

No presente estudo, os teores de compostos fenólicos quantificados pelo método reativo de Folin-Ciocalteu foram maiores aos observados em outros estudos com a espécie. Infante *et al.* (2016), em estudo com extrato em solução hidroalcoólica 80% empregando banho ultrassônico por 30 minutos, obtiveram teores de 70,19 \pm 1,88 mg equivalente de ácido gálico/g. Barzotto (2019), em pesquisa com extratos de folhas desta mesma espécie, observou resultados próximos ao relatado por Infante *et al.* (2016), ao empregar método de extração

exaustiva por 6 horas em soxhlet, obteve $61,11 \pm 0,06$ mg equivalente de ácido gálico/g e em métodos de extração com dióxido de carbono supercrítico em diferentes condições de sistema os resultados apresentados pelo autor abordaram na faixa de $58,68 \pm 0,15$ a $68,51 \pm 0,30$ mg equivalente de ácido gálico/g.

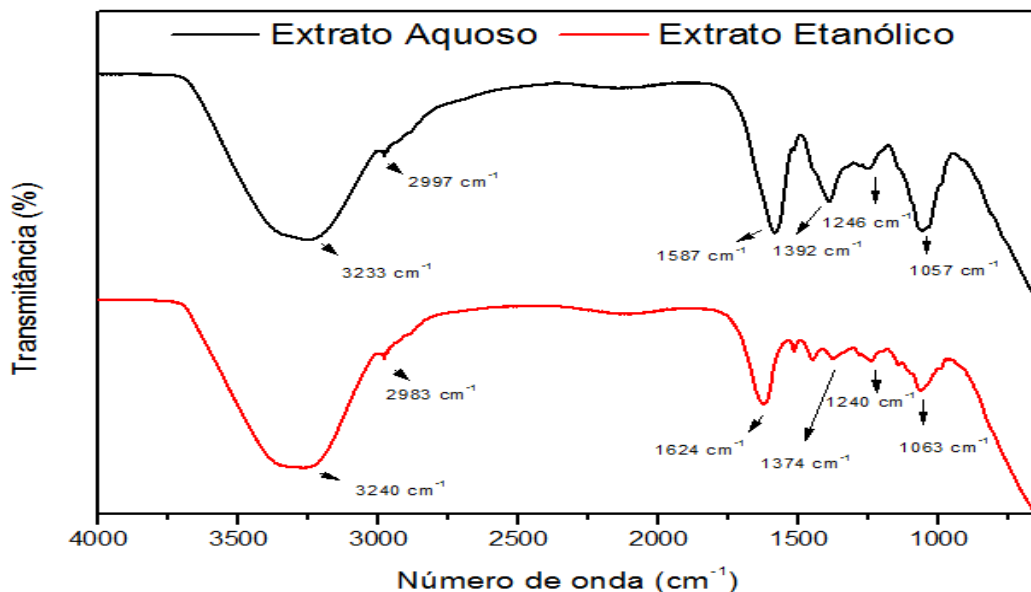
A extração desses compostos sofre influência dos diferentes métodos de extração, da parte da planta a ser extraída, da sazonalidade e da escolha do solvente extrator. No método de extração escolhido, a turbólise ou turbo-extração, o material vegetal fica submerso em um solvente, essa mistura é submetida a elevadas forças de cisalhamento e agitação, triturando e promovendo maior contato do pó vegetal e solvente. Por promover o esgotamento do material, essa técnica à frio resulta em altos rendimentos e extração de diversos compostos, dentre eles os compostos fenólicos (BONOMINI, 2013).

Tais características da escolha do método de extração a frio que permite maior contato do material vegetal e solvente, bem como o uso de água destilada e etanol como solventes extratores, permitiu obter resultados satisfatórios na determinação de compostos fenólicos.

5.4 Análise de espectrofotometria na região do infravermelho com transformada de Fourier (FTIR) dos extratos

Os resultados dos espectros obtidos na região do infravermelho referentes aos extratos das folhas de *E. involucrata* são apresentados na Figura 9.

Figura 9 - Espectros dos extratos obtidos na região do infravermelho (FTIR).



Fonte: Autoria própria (2022).

Conforme observado os extratos apresentam bandas que variam entre alta, média e baixa intensidade na região entre 3200 a 1050 cm^{-1} . Sendo que a banda de maior intensidade na região de 3233 - 3240 cm^{-1} é atribuída ao estiramento do grupamento hidroxila (-OH) e a banda de intensidade moderada na região de 1500 a 1625 cm^{-1} pode ser associada a água, uma vez que, a mesma é solvente utilizado para redispersar os extratos, mas também é importante ressaltar que bandas nessa região podem estar associada a compostos fenólicos. As características citadas corroboram com o observado por Costa (2016) e Grisi *et al.* (2020).

Na região de 2977 a 2983 cm^{-1} visualiza-se uma banda de baixa intensidade, que pode ser atribuída a grupamentos alquila (-CH) (SUN *et al.*, 2014). A região entre 1400 a 1300 cm^{-1} está associado a grupamentos aromáticos. Ainda, observa-se banda de baixa intensidade em ambos os extratos na região de 1200 cm^{-1} , associada a ácidos carboxílicos (-C=O) (FONSECA, 2022). Ademais também observa-se que há diferença na intensidade da banda na região de 1050 a 1070 cm^{-1} entre os extratos, banda nessa região é atribuída a estiramento de alcoóis secundários (-C-OH) (SARATALE *et al.*, 2018). Esses resultados revelam biomoléculas contendo grupamentos alquilas, carbonila, hidroxilas e compostos aromáticos, caracterizando estruturalmente compostos fenólicos.

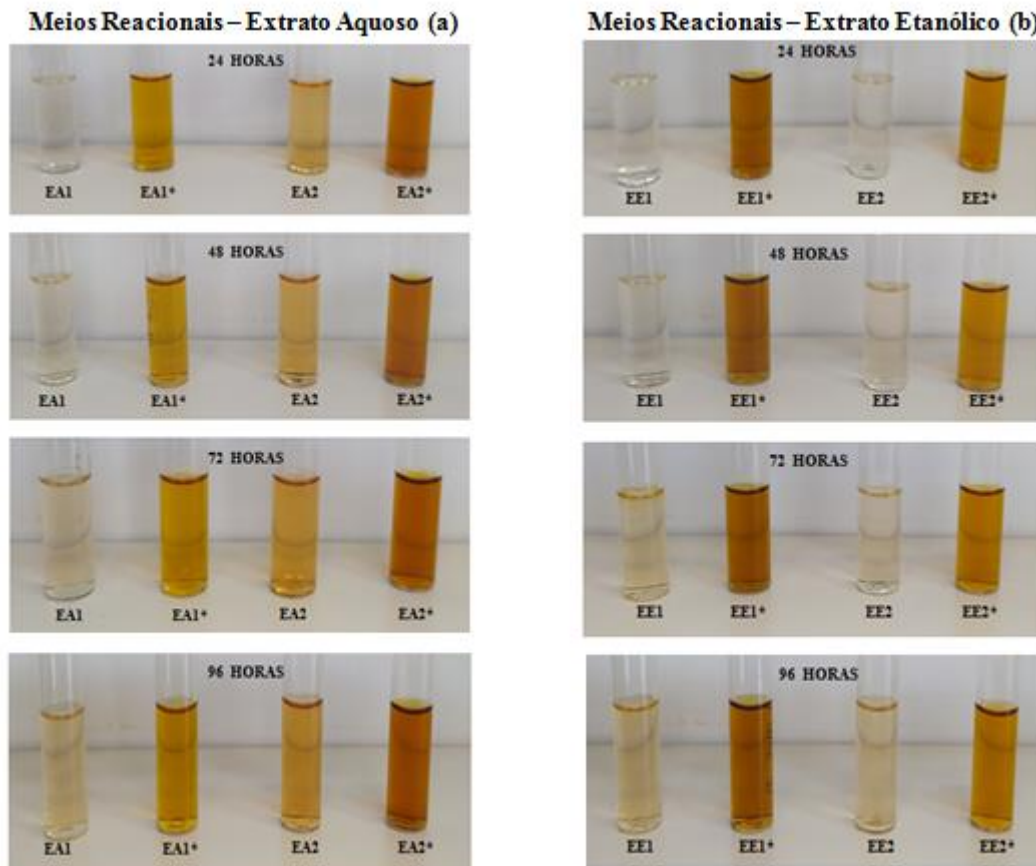
Os espectros de ambos os extratos se assemelham ao apresentado por Barzotto (2019), no extrato aquoso da infusão das folhas da espécie, onde atribuiu as bandas a compostos fenólicos.

5.5 Síntese de nanopartículas de prata

5.5.1 Efeitos visuais no meio reacional de síntese

Inicialmente, o potencial de formação de AgNPs a partir dos extratos, foi avaliado, com base em alteração de cor do meio reacional. A Figura 10, ilustra de forma resumida os efeitos observados quanto à coloração do meio reacional.

Figura 10 - Fotos dos meios reacionais contendo extrato aquoso (a) e extrato etanólico (b) em diferentes condições, avaliados em 4 tempos distintos (24, 48, 72 e 96 horas).



Fonte: Autoria própria (2022).

Nos meios reacionais em que não foram realizados ajuste de pH, independente do extrato (aquoso ou etanólico) e concentração (0,5 ou 1,0 mg/mL), verificou-se que a alteração de coloração ocorreu de forma progressiva, quando comparado com os meios reacionais em que foram utilizados extratos em pH 11.

Em meios reacionais empregando extrato aquoso 0,5 mg/mL e extrato etanólico nas duas concentrações analisadas sem ajuste de pH, observou-se que a alteração de coloração ocorreu de forma mais sutil e lenta, onde, apenas em 72 horas posterior a mistura, foi observada uma discreta mudança de cor. Diferentemente, no meio reacional com extrato aquoso 1,0 mg/mL sem ajuste de pH, a alteração de cor foi observada em 24 horas. Ainda, em relação aos meios reacionais com extrato etanólico, a mudança de coloração do meio reacional não apresentou diferenças visuais na intensidade da cor, independente da concentração.

Nos meios reacionais com extratos em pH 11, a alteração de cor ocorreu instantaneamente que indica o início da síntese de AgNPs. Além disso, não foi

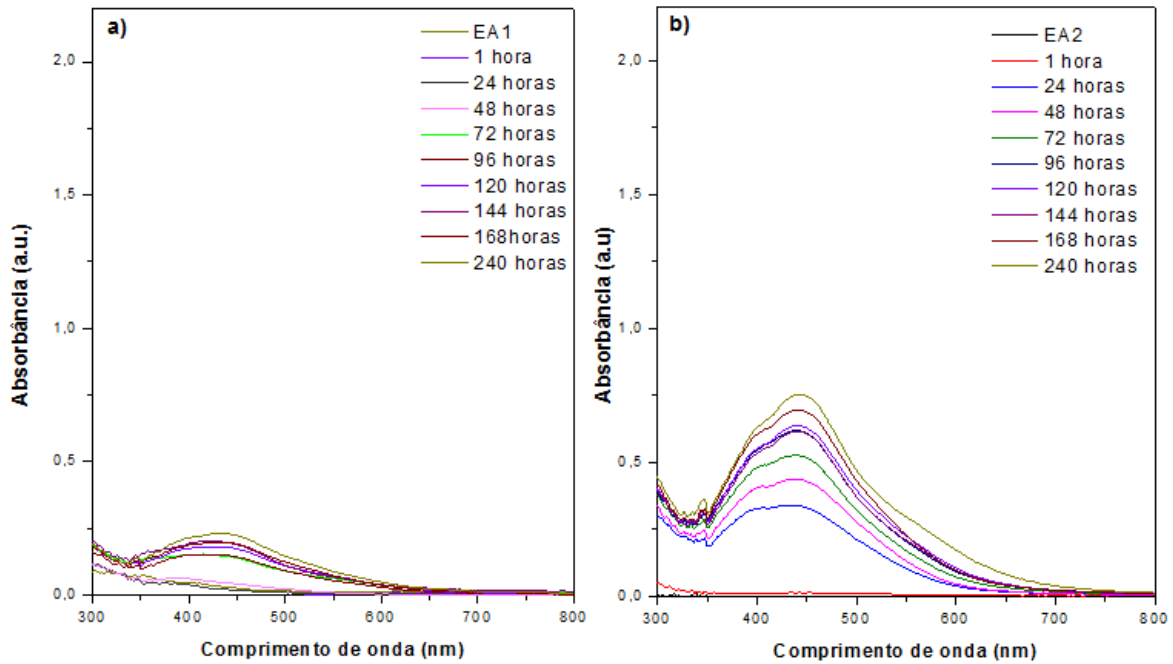
observado diferenças significativas em relação a coloração, seja no aspecto de intensidade ou alteração de cor.

A alteração de cor em misturas de extratos com solução aquosa de nitrato de prata, consiste em um dos indícios de formação de AgNPs por biossíntese (ALAHMAD *et al.*, 2021; ERDOGAN *et al.*, 2019). A mudança de cor e intensidade em função do tempo é devido a um fenômeno de excitação dos elétrons na superfície das NPs formadas, sendo denominado de ressonância plasmônica de superfície (SPR) (AHMED *et al.*, 2016; JOY PRABU; JOHNSON, 2015). Roy *et al.* (2017) observaram que ao adicionarem extrato de *Azadirachta indica* em solução de nitrato de prata ocorreu mudança de coloração do meio reacional, comprovando posteriormente a formação de AgNPs, por técnicas de caracterização. Tal fato, foi observado nos experimentos com extratos de *Garcinia mangostana* (PARK; AHN; PARK, 2017) e *Tragia involucrata*, *Cymbopogon citronella*, *Solanum verbascifolium* e *Tylophora ovata* (JOY PRABU; JOHNSON, 2015).

5.6 Monitoramento da síntese por espectrofotometria uv-visível

Pode-se visualizar na Figura 11 (a) que o surgimento de banda ocorre apenas após 72 horas, e mesmo transcorrido este período a intensidade é baixa e apresenta-se larga, na qual a banda começa a tomar forma, após 120 horas. O que valida com a alteração de cor do sistema, na qual só foi perceptível a visualização de mudança de cor posterior a 72 horas para a condição EA1. Ainda na Figura 11 (b), a partir de 24 horas houve a visualização de banda na região de 400 a 450 nm.

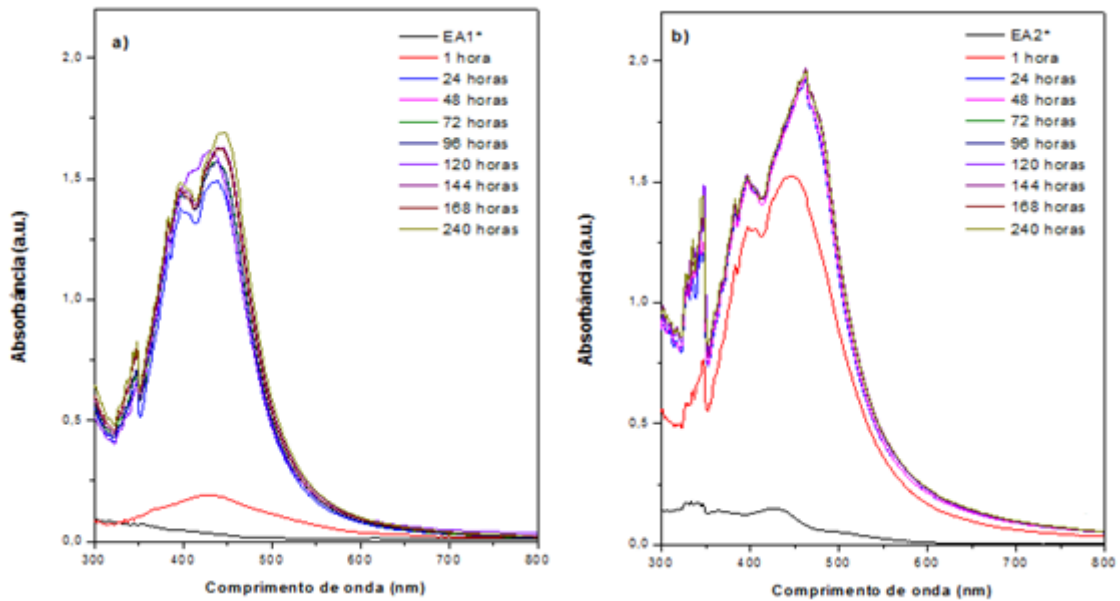
Figura 11 - Gráficos de absorvância versus comprimento de onda comparando as condições com extrato aquoso na concentração 0,5 mg/mL sem ajuste de pH - EA1 (a) e extrato aquoso na concentração 1,0 mg/mL sem ajuste de pH - EA2 (b).



Fonte: Autoria própria (2022).

De acordo com o observado na Figura 12 (a), após 1 hora de reação há o surgimento de uma banda na região de interesse (de 400 a 450 nm), obtendo um aumento drástico em 24 horas com sutis aumentos na absorvância entre 48 horas e 120 horas, estabilizando em 144 horas. Já no meio reacional com EA2*, onde se tem um aumento da concentração do extrato observa-se a formação da banda na região pretendida em 1 hora de reação, com aumento em 24 horas e consequente estabilização.

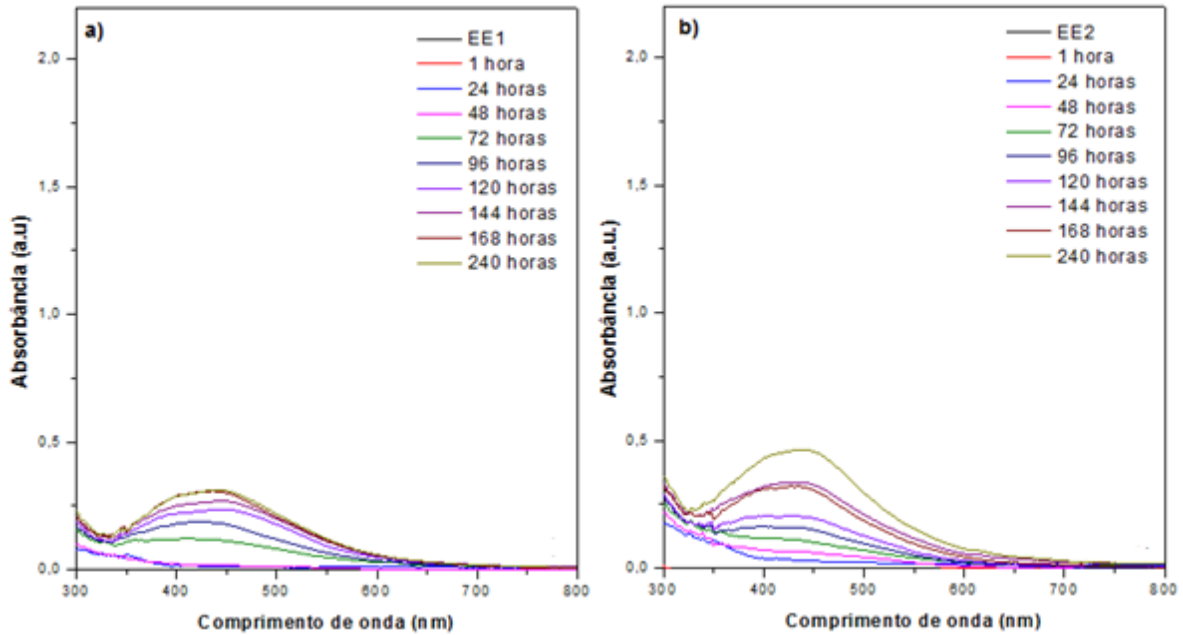
Figura 12 - Gráficos de absorvância versus comprimento de onda comparando as condições com extrato aquoso na concentração 0,5 mg/mL em pH 11 - EA1* (a) e extrato aquoso na concentração 1,0 mg/mL em pH 11 - EA2* (b).



Fonte: Autoria própria (2022).

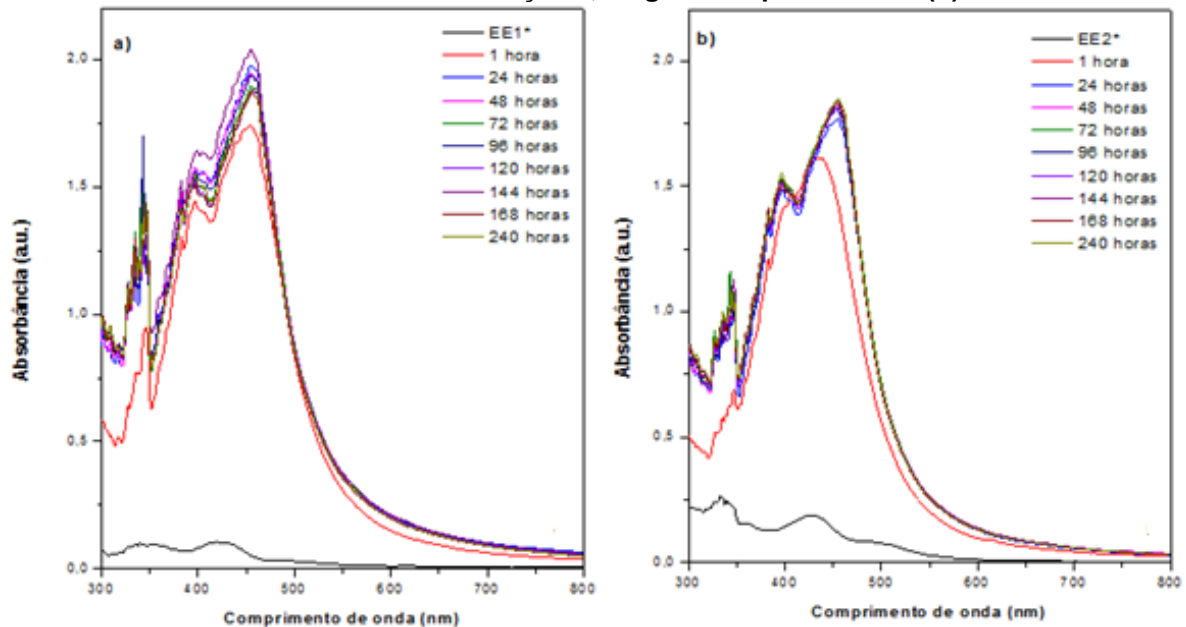
Na Figura 13 (a), observa-se que neste meio reacional, a formação de uma possível banda, ocorreu após 72 horas de reação, e ao longo do tempo avaliado pequenas alterações foram visualizadas quanto ao aumento da absorvância. Análogo ao observado no meio reacional de menor concentração de extrato etanólico, nessa condição também foi visualizada a formação de banda após 72 horas, porém percebe-se que em 240 horas houve um aumento na absorvância (Figura 14 (b)).

Figura 13 - Gráficos de absorvância versus comprimento de onda comparando as condições com extrato etanólico na concentração 0,5 mg/mL sem ajuste de pH - EE1 (a) e extrato etanólico na concentração 1,0 mg/mL sem ajuste de pH - EE2 (b).



Fonte: Autoria própria (2022).

Figura 14 - Gráficos de absorvância versus comprimento de onda comparando as condições condições com extrato etanólico na concentração 0,5 mg/mL em pH 11 - EE1* (a) e extrato etanólico na concentração 1,0 mg/mL em pH 11 - EE2* (b).



Fonte: Autoria própria (2022).

Nota-se em ambas condições analisadas na Figura 14, que após uma hora de reação é evidente uma banda bem pronunciada na região de formação de AgNPs, com aumento mínimo na intensidade de absorvância. Além disso, observa-se que diferentemente do visualizado em uma hora, ocorre um pequeno

deslocamento para comprimentos de onda maiores, tal fato é visualizado nas duas concentrações.

De acordo com os resultados apresentados observa-se que independente do solvente extrator utilizado para obter extratos das folhas de *E. involucrata* e da concentração de extrato, na qual não foi conferido ajuste de pH, onde as características são mais ácidas, foi verificado um alargamento na banda de ressonância plasmônica.

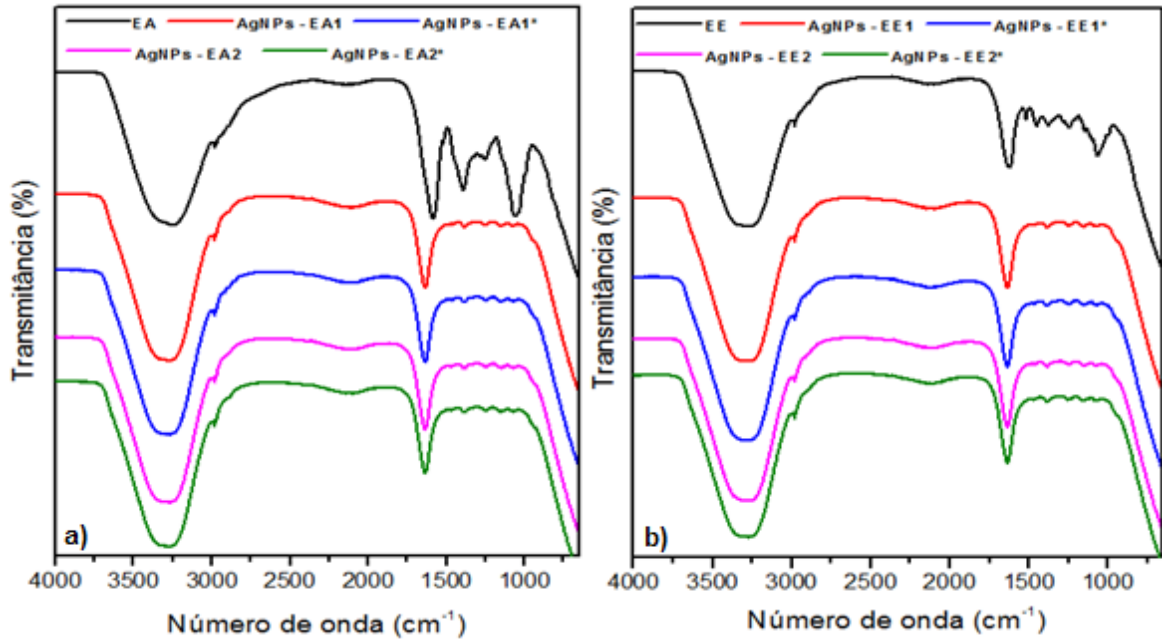
No meios reacionais que foram realizados ajustes de pH para 11, deixando o extrato alcalino para a síntese, verifica-se que as bandas foram mais estreitas, esses dados corroboram com o encontrado na literatura. Kocadag Kocazorbaz *et al.* (2021), observaram que em meios reacionais em que foram utilizados extrato de folhas de *Quercus coccifera* com pH ácido, apresentaram bandas mais largas, enquanto que conforme aumentaram o pH, tornando-o mais alcalino, mais estreita era a banda de absorbância. No trabalho de Eya'Ane Meva *et al.* (2016), com extrato aquoso de folhas de *Megaphrynium macrostachyum*, os pesquisadores perceberam que ao aumentarem o pH do meio reacional, maior era a intensidade de absorbância e mais simétrica era a banda, atribuíram que o aumento de absorbância e a simetria era oriundo do aumento na formação de AgNPs.

5.7 Caracterização das nanopartículas de prata

5.7.1 Espectrotometria na região do infravermelho com transformada de Fourier (FTIR)

A partir dos espectros obtidos na região do infravermelho (Figura 15), foi possível analisar a presença e/ou ausência de grupos funcionais que atuaram na síntese de nanopartículas de prata mediada pelos extratos das folhas de *E. involucrata*.

Figura 15 - Comparativo dos espectros de infravermelho dos extratos e das AgNPs obtidas por síntese verde, sendo (a) referente a condição com extrato aquoso e (b) referente a condição com extrato etanólico.



Fonte: Autoria própria (2022).

Analisando a Figura 15 (a) (extrato aquoso e as AgNPs) e (b) (extrato etanólico e AgNPs) observa-se que algumas bandas mantiveram-se semelhantes ao obtido pelos extratos, como as bandas nas regiões de 3000 e 1600 cm^{-1} , ressalta-se que assim como já mencionado, as bandas nessas regiões estão associadas ao conteúdo de água dos meios reacionais. As bandas nas regiões de 2977 e 2980 cm^{-1} encontrados nos extratos aquoso e etanólico, respectivamente, se mantiveram.

As AgNPs não apresentaram bandas na região de 1500 a 1000 cm^{-1} , pode-se inferir que os grupamentos presentes nos extratos, atuaram na formação das AgNPs. Neste comparativo, destaca-se que não foram visualizadas diferenças entre as AgNPs obtidas com extrato aquoso e etanólico, independente da concentração ou condição de pH.

Com base nos espectros de infravermelho, sugere-se que compostos ativos, como compostos fenólicos estiveram envolvidos na síntese, de modo que biomoléculas presente nos extratos foram significativos na redução dos íons Ag^+ em Ag^0 , além de auxiliarem na estabilização do sistema de síntese.

Estudos em que foram utilizados extratos de *Salvadora persica*, *Ocimum basilicum* e *Ocimum sanctum* como precursores para a síntese de nanopartículas de prata, destacaram que a redução de Ag^+ em Ag^0 , ou seja, a formação e estabilização das nanopartículas de prata, foram provenientes de compostos presentes nos

extratos analisados, sendo atribuídos aos compostos fenólicos e as proteínas um papel importante na síntese (ARSHAD *et al.*, 2021; MALAPERMAL *et al.*, 2017). Netala *et al.* (2016) analisaram espectros de infravermelho de nanopartículas de prata obtidas a partir de extrato de folhas de *Gymnema sylvestre* e revelaram que compostos como os polifenóis presentes no extrato foram fundamentais para a síntese, atuando como agentes redutores.

5.7.2 Microscopia eletrônica de transmissão (MET)

A morfologia e o tamanho das AgNPs obtidas foram avaliados por microscopia eletrônica de transmissão para todas as condições analisadas. Na Figura 16 estão apresentadas as imagens das AgNPs obtidas a partir do extrato aquoso e na Figura 17 as imagens apresentadas são referentes às AgNPs obtidas a partir do extrato etanólico.

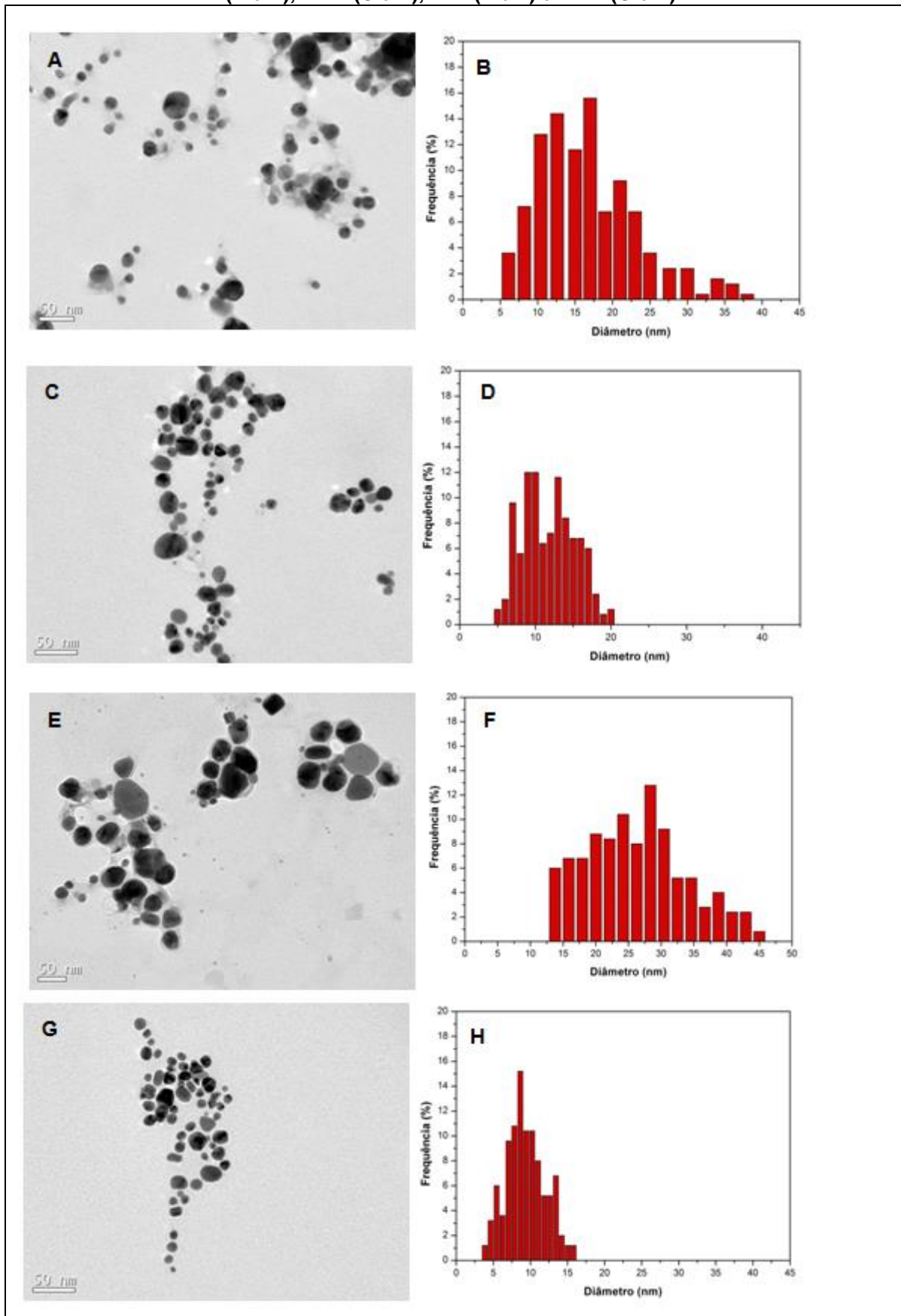
Os diâmetros médios obtidos por microscopia eletrônica de transmissão encontram-se apresentados na Tabela 6.

Tabela 6 - Diâmetro médio e morfologia das AgNPs obtidas por síntese verde.

Identificação	Diâmetro médio (nm)	Morfologia
AgNP - EA1	15,5 ± 6,5	Esférica
AgNP - EA2	25,2 ± 7,6	Esférica
AgNP - EA1*	11,5 ± 3,2	Esférica, Elíptica e Triangular
AgNP - EA2*	8,9 ± 2,6	Esférica e Elíptica
AgNP - EE1	20,4 ± 5,8	Esférica
AgNP - EE2	22,9 ± 6,3	Esférica
AgNP - EE1*	10,15 ± 4,8	Esférica
AgNP - EE2*	6,4 ± 2,8	Esférica

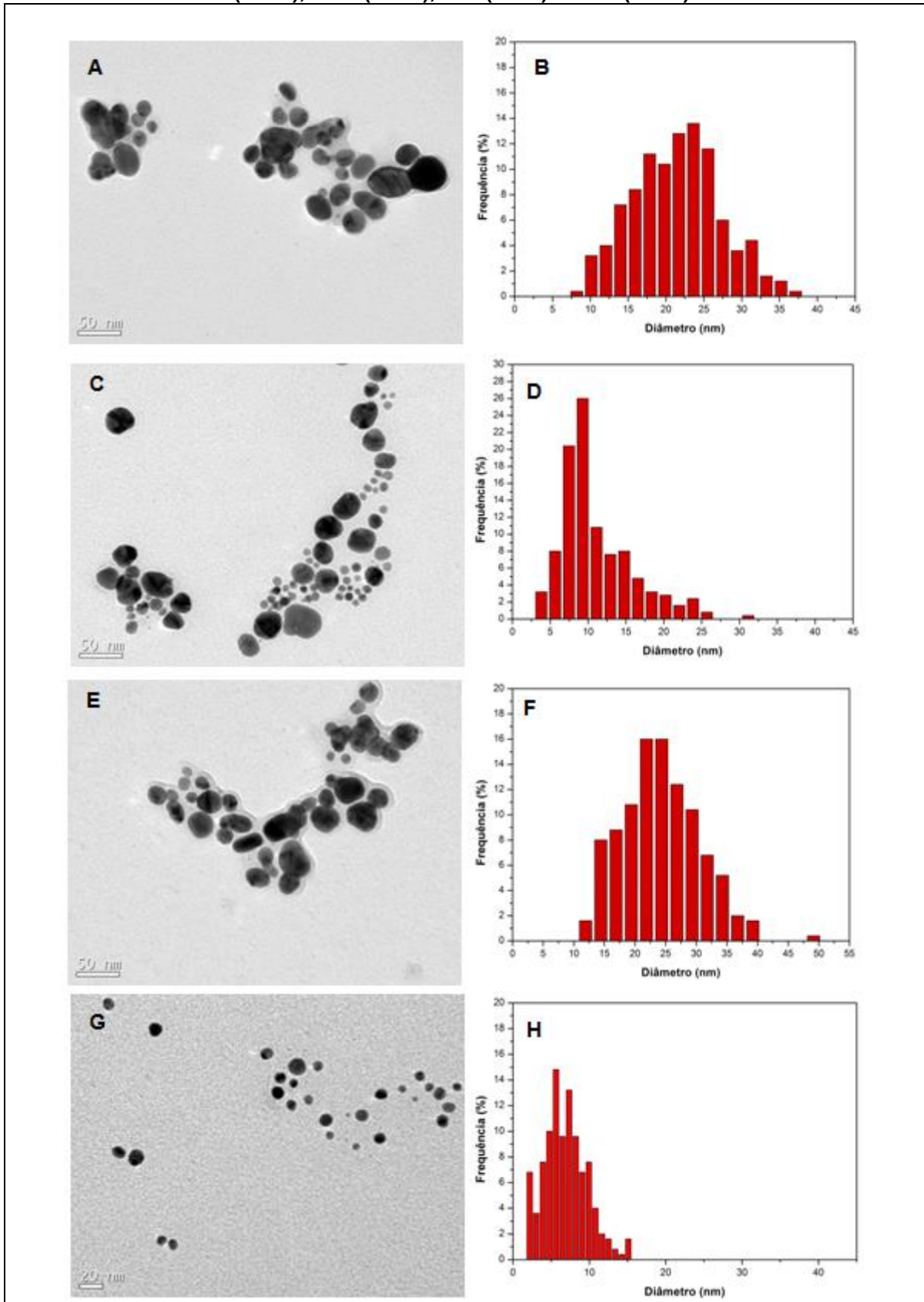
Fonte: Autoria própria (2022).

Figura 16 - Imagens representativas das AgNPs e histogramas obtidas a partir do EA1 (A e B), EA1* (C e D), EA2 (E e F) e EA2* (G e H).



Fonte: Autoria própria (2022).

Figura 17 - Imagens representativas das AgNPs e histogramas obtidas a partir do EE1 (A e B), EE1* (C e D), EE2 (E e F) e EE2* (G e H).



Fonte: Autoria própria (2022).

Conforme observado nas Figuras 16 e 17 e com base nos resultados apresentados na Tabela 6, observa-se que nas condições onde não foram realizados ajuste de pH (AgNP - EA1/ EA2/ EE1/ EE2), o tamanho médio obtido é maior, bem como, o desvio padrão relativo. Além disso nota-se que a distribuição e morfologia é mais heterogênea, quando comparados com as AgNPs obtidas com extratos em que o pH se encontrava alcalino.

Estas características validam o observado com os gráficos por espectrofotometria UV-Vis, onde a intensidade das bandas de absorbância na região de 400 a 450 são mais intensas e estreitas.

Khalil *et al.* (2014), em seu estudo com extrato aquoso de folhas de oliveira verificaram que ao promoverem aumento de pH do extrato, a síntese apresentou maior velocidade média de reação e partículas menores. Os mesmos conferiram essa observação, ao fato de que o pH pode atuar modulando o tamanho e forma das NPs, logo em pH mais alcalino a síntese é favorecida, pois o pH pode alterar as cargas elétricas das biomoléculas, de modo que atuam promovendo tamanhos menores e partículas simétricas.

Ndikau *et al.* (2017) avaliaram a interferência do pH de extratos de casca de *Citrullus lanatus* na síntese de AgNPs e perceberam que o pH exerceu papel primordial na síntese de AgNPs, uma vez que, ao longo do processo de síntese observaram que ao trabalharem com o aumento de pH, ocorreu uma mudança na visualização de banda em espectrofotometria UV-Vis, logo exerceria influência no tamanho das AgNPs, e posteriormente, foi constatado com microscopia eletrônica de transmissão que o tamanho médio obtido para síntese com extrato alcalino foi de $17,9 \pm 0,16$ nm.

As observações apresentadas pelos pesquisadores aqui referenciados corroboram com o observado neste estudo, onde o pH alcalino interferiu diretamente no tamanho das NPs obtidas.

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os extratos das folhas de *E. involucrata* empregando solventes diferentes como a água destilada e etanol demonstraram-se semelhantes nas características avaliadas como rendimento, pH, perfil fitoquímico, análise de espectrofotometria no infravermelho e na determinação de compostos fenólicos.

A síntese de AgNPs mediada por extratos de folhas de *E. involucrata* foram evidenciados pela alteração de coloração do meio reacional e pela presença de banda plasmônica característica de AgNPs na região do UV-Vis e caracterizado por espectrofotometria na região do infravermelho e por microscopia eletrônica de transmissão (MET). Na qual apresentaram diâmetros na faixa de 6,4 a 25,20 nm e morfologias que variaram entre elíptica, esférica e triangular. Ainda, foi possível observar que ambos extratos nas condições avaliadas, demonstraram-se mais promissores quando se emprega ajuste de pH, deixando os mesmos na condição alcalina a reação de síntese tende a ocorrer e estabilizar em um menor tempo, do que quando não se altera o pH do meio reacional.

Portanto infere-se que extratos aquoso e etanólico de folhas da espécie supracitada neste trabalho apresenta potencial de utilização e perspectivas na área da nanotecnologia, principalmente para avaliação do potencial biológico, tais como atividade antimicrobiana e antioxidante.

REFERÊNCIAS

AGÊNCIA DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. **Farmacopeia Brasileira**, 5ªed, 2010.

AGNIHOTRI, S.; MUKHERJI, S.; MUKHERJI, S. Size-controlled silver nanoparticles synthesized over the range 5-100 nm using the same protocol and their antibacterial efficacy. **RSC Advances**, v. 4, n. 8, p. 3974–3983, 2014.

AHMADI, S. *et al.* Green Synthesis of Magnetic Nanoparticles Using *Satureja hortensis* Essential Oil toward Superior Antibacterial/Fungal and Anticancer Performance. **BioMed Research International**, v. 2021, 2021.

AHMED, S. *et al.* A review on plants extract mediated synthesis of silver nanoparticles for antimicrobial applications: A green expertise. **Journal of Advanced Research**, v. 7, n. 1, p. 17–28, 2016a.

AHMED, S. *et al.* Green synthesis of silver nanoparticles using *Azadirachta indica* aqueous leaf extract. **Journal of Radiation Research and Applied Sciences**, v. 9, n. 1, p. 1–7, 2016b.

AL-RUBAYE, H. I. *et al.* Green Chemistry Synthesis of Modified Silver Nanoparticles. **Journal of Physics: Conference Series**, v. 1664, n. 1, p. 1–26, 2020.

ALAHMAD, A. *et al.* *Hypericum perforatum* L.-mediated green synthesis of silver nanoparticles exhibiting antioxidant and anticancer activities. **Nanomaterials**, v. 11, n. 2, p. 1–26, 2021.

ALBERNAZ, V. L. **Síntese verde de nanopartículas de prata com extrato aquoso de folhas de *Brosimum gaudichaudii*, caracterização físicoquímica, morfológica e suas aplicações no desenvolvimento de um nanobiossensor eletroquímico**. 2014. 121 f. Dissertação (Mestrado em Nanociência e Nanotecnologia) - Instituto de Ciência Biológicas, Universidade de Brasília, Brasília, 2014.

ALBERTON, M. D. *et al.* Determinação do perfil de compostos fenólicos de *Eugenia involucrata* DC (Myrtaceae) por HPLC-ESI-MS / MS. *In: XXIV SIMPÓSIO DE PLANTAS MEDICINAIS DO BRASIL*. 24., 2016, Belo Horizonte. **Anais [...]** Belo Horizonte: UFMG, 2016.

ALMATROUDI, A. Silver nanoparticles: Synthesis, characterisation and biomedical applications. **Open Life Sciences**, v. 15, n. 1, p. 819–839, 2020.

ALMEIDA, J.C.B; *et al.* Síntese e caracterização de nanopartículas de prata. *In: XXXVII CONGRESSO BRASILEIRO DE SISTEMAS PARTICULADOS*. 2., 2015, São Carlos. **Anais [...]** São Carlos: UFSCar, 2015. p. 2040-2048.

AMPARO, T. R. *et al.* Brazilian essential oils as source for the discovery of new anti-COVID-19 drug: a review guided by in silico study. **Phytochemistry Reviews**, v. 4, 2021.

ARAÚJO, F. F. *et al.* Wild Brazilian species of *Eugenia* genera (Myrtaceae) as an innovation hotspot for food and pharmacological purposes. **Food Research International**, v. 121, n. October 2018, p. 57–72, 2019.

ARSHAD, H. *et al.* *Salvadora persica* mediated synthesis of silver nanoparticles and their antimicrobial efficacy. **Scientific Reports**, v. 11, n. 1, p. 1–11, 2021.

AZEVEDO, R. R. DE S. *et al.* Potencial antioxidante e antibacteriano do extrato etanólico de plantas usadas como chás. **Revista Semente**, v. 6, n. 6, p. 240–249, 2011.

BALASHANMUGAM, P. *et al.* Phytogetic synthesis of silver nanoparticles, optimization and evaluation of in vitro antifungal activity against human and plant pathogens. **Microbiological Research**, v. 192, p. 52–64, 2016.

BARZOTTO, I. L. M. **Otimização de Extratos de *Eugenia involucrata* DC.** 2019. 160 f. Tese (Doutorado em Engenharias Biomédica) - Instituto de Pesquisa e Desenvolvimento, Universidade do Vale do Paraíba, São José dos Campos, 2019.

BARZOTTO, I. L. M. *et al.* Supercritical extraction of *Eugenia involucrata* leaves: Influence of operating conditions on yield and A-tocopherol content. **Journal of Supercritical Fluids**, v. 143, p. 55–63, 2019.

BASTOS, R.G Phytochemical composition, antioxidant and in vivo antidiabetic activities of the hydroethanolic extract of *Eugenia florida* DC. (*Myrtaceae*) leaves. **South African Journal of Botany**, v. 123, p. 317-332, 2019.

BEYENE, H. D. *et al.* Synthesis paradigm and applications of silver nanoparticles (AgNPs), a review. **Sustainable Materials and Technologies**, v. 13, n. August, p. 18–23, 2017.

BHATTACHARYA, S. Medicinal plants and natural products in amelioration of arsenic toxicity: A short review. **Pharmaceutical Biology**, v. 55, n. 1, p. 349–354, 2017.

BOLSON, M. *et al.* Ethno-medicinal study of plants used for treatment of human ailments, with residents of the surrounding region of forest fragments of Paraná, Brazil. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 161, p. 1–10, 2015.

BONOMINI, T. J. **Padronização de Metodologia para Extração do Fitoconstituente majoritário das flores de *Allamanda cathartica* L. (APOCYNACEAE).** 2013. p. 35. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas)

- Universidade do Vale do Itajaí, Itajaí, 2013.

CARVALHO, P. E. R. Comunicado Técnico - CEREJA DO MATO. **Embrapa**, p. 1–8, 2009.

CASCAES, M. M. *et al.* Constituents and pharmacological activities of Myrcia (Myrtaceae): A review of an aromatic and medicinal group of plants. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 16, n. 10, p. 23881–23904, 2015.

CECÍLIO, A.B. *et al.* Screening of Brazilian medicinal plants for antiviral activity against rotavirus. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 141, n. 3, p. 975 - 981, 2012.

CHAVASCO, J.M. *et al.* Evaluation of antimicrobial and cytotoxic activities of plant extracts from southern Minas Gerais cerrado. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 56, n. 1, p. 13-20, 2014.

CHINNASAMY, G.; CHANDRASEKHARAN, S.; BHATNAGAR, S. Biosynthesis of Silver Nanoparticles from Melia azedarach : Enhancement of Antibacterial , Wound Healing, Antidiabetic and Antioxidant Activities. **International Journal of Nanomedicine**, v. 14, p. 9823–9836, 2019.

CHUGH, H. *et al.* Role of gold and silver nanoparticles in cancer nano-medicine. **Artificial Cells, Nanomedicine and Biotechnology**, v. 46, n. sup1, p. 1210–1220, 2018.

COSTA, C. **Caracterização de alguns parâmetros de qualidade da polpa de fruta por FTIR-ATR**. 2016. 90 f. Dissertação (Mestre em Biotecnologia) - Universidade da Beira Interior, Covilhã, 2016.

COSTA, J. C. F. DA; HOSCHEID, J. Perfil fitoquímico e avaliação da atividade antimicrobiana de extratos aquoso e etanólico de folhas de Cecropia pachystachya. **Revista Fitos**, v. 12, n. 2, p. 175–185, 2018.

COSTA, J. S. *et al.* Essential oils from Brazilian eugenia and syzygium species and their biological activities. **Biomolecules**, v. 10, n. 8, p. 1–36, 2020.

COSTA, M. F. *et al.* Eugenia aurata and Eugenia punicifolia HBK inhibit inflammatory response by reducing neutrophil adhesion, degranulation and NET release. **BMC Complementary and Alternative Medicine**, v. 16, n. 1, p. 1–10, 2016.

DEGENHARDT, J.; FRANZON, R. C.; COSTA, R. R. Cerejeira-do-mato (Eugenia involucrata). **Embrapa**, p. 10–20, 2007.

DURÁN, N. *et al.* Nanotoxicologia de nanopartículas de prata: toxicidade em animais e humanos. **Química Nova**, v. 42, n. 2, p. 206–213, 2019.

ELIAS, W.C. **Estudos Metodológicos de Nanopartículas Catalíticas de Ag-PVP a**

partir da Análise Multivariada, Aplicadas à Catálise de Redução de Compostos Nitroaromáticos. 2012. 137 f. Dissertação (Mestre em Química) - Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2012.

ELIAS, W. C. **Síntese e Caracterização de Nanocubos de Pd e Pd @ In: Investigação da Sensibilidade à Estrutura e Composição em Reações de Homoacoplamento C-C do tipo Suzuki e Redução de Nitrato.** 2017. 140 f. Tese (Doutor em Química) - Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2017.

ESCÁRCEGA-GONZÁLEZ, C. E. et al. In vivo antimicrobial activity of silver nanoparticles produced via a green chemistry synthesis using *Acacia rigidula* as a reducing and capping agent. **International Journal of Nanomedicine**, v. 13, p. 2349–2363, 2018.

EYA'ANE MEVA, F. et al. Spectroscopic synthetic optimizations monitoring of silver nanoparticles formation from *Megaphrynium macrostachyum* leaf extract. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 26, n. 5, p. 640–646, 2016.

FAMUYIDE, I. M. et al. Antibacterial activity and mode of action of acetone leaf extracts of under-investigated *Syzygium* and *Eugeia* species on multi drug resistant porcine diarrhoeagenic *E. coli*. v. 9, p. 1–14, 2019.

FERNANDES PRATES, F. I. et al. Agravos provocados pela resistência bacteriana: um problema de saúde pública mundial. **Brazilian Journal of Surgery & Clinical Research**, v. 32, n. 2, p. 131–138, 2020.

FERREIRA, O. O. et al. First report on yield and chemical composition of essential oil extracted from *myrcia eximia* DC (Myrtaceae) from the Brazilian Amazon. **Molecules**, v. 25, n. 4, 2020.

FILHO, A.C.P.M; CASTRO, C.F.S. Prospecção fitoquímica preliminar dos frutos do jatobá-do-cerrado (*Hymenaea stigonocarpa* mart. ex hayne) e murici-bravo (*Byrsonima coccolobifolia* kunth). **Global Science Technology**, v. 11, n. 03, p. 241-255, 2018.

FONSECA, F.G. **Síntese verde, caracterização e atividade catalítica de nanopartículas de ouro produzidas por extrato de semente de *Eugenia uniflora* L.** 2022. 87 f. Dissertação (Mestre em Ciência e Engenharia de Materiais) - Universidade Federal do Pampa, Bagé, 2022.

FRANZEN, F. DE L. et al. Teor e rendimento de extratos de flores obtidos por diferentes métodos e períodos de extração. **Acta Iguazu**, v. 7, n. 1, p. 9–21, 2018.

GEETHA, A. R. et al. Optimization of green synthesis of silver nanoparticles from leaf extracts of *pimenta dioica* (Allspice). **The Scientific World Journal**, v. 2013, n. i, 2013.

GIARETTA, A. *et al.* Phylogenetic Placement of New Species with Fused Calyx Reveals Homoplastic Character in *Eugenia* (Myrtaceae). **Systematic Botany**, v. 44, n. 1, p. 66–73, 2019.

GIRARDELO, J. R. *et al.* Bioactive compounds, antioxidant capacity and antitumoral activity of ethanolic extracts from fruits and seeds of *Eugenia involucrata* DC. **Food Research International**, v. 137, n. July, p. 109615, 2020.

GOMES, D. M.D. **Otimização da síntese verde de nanopartículas de prata para incorporação em gel antimicrobiano**. 2019. 89 f. Dissertação (Mestre em Biotecnologia) - Universidade Federal do Amazonas, Manaus, 2019.

GRAÇA, R, R. **Licaria puchury-major (MART.) kosterm: biossíntese de nanopartículas de prata dos extratos vegetais com atividade antimicrobiana**. 2015. 116 f. Tese (Doutorado em Biotecnologia) - Universidade Federal do Amazonas, Manaus, 2015.

GRISI, C.V.B. *et al.* Potencial antioxidante e estabilidade do bioativo de jucá (*Libidibia ferrea*). **Research Society and Development**, v. 9, n. 7, p. 1-19, 2020.

GUDIKANDULA, K.; CHARYA MARINGANTI, S. Synthesis of silver nanoparticles by chemical and biological methods and their antimicrobial properties. **Journal of Experimental Nanoscience**, v. 11, n. 9, p. 714–721, 2016.

GUERRA, D. *et al.* Genetic and cytological diversity in cherry tree accessions (*Eugenia involucrata* DC) in Rio Grande do Sul. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, v. 16, n. 3, p. 219–225, 2016.

GURUNATHAN, S. *et al.* Enhanced antibacterial and anti-biofilm activities of silver nanoparticles against Gram-negative and Gram-positive bacteria. **Nanoscale Research Letters**, v. 9, n. 1, p. 1–17, 2014.

HABIBULLAH, G.; VIKTOROVA, J.; RUMML, T. Current Strategies for Noble Metal Nanoparticle Synthesis. **Nanoscale Research Letters**, v. 16, n. 1, 2021.

HAMIDA, R. S. *et al.* Lichens—A Potential Source for Nanoparticles Fabrication: A Review on Nanoparticles Biosynthesis and Their Prospective Applications. **Journal of Fungi**, v. 7, n. 4, p. 291, 2021.

INFANTE, J. **Composição fenólica e atividade antioxidante de polpa, casca, semente e folha de espécies frutíferas nativas do Brasil**. 2013. p. 14. Dissertação (Mestrado em Ciências e Tecnologia de Alimentos) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2013.

INFANTE, J. *et al.* Antioxidant and anti-inflammatory activities of unexplored Brazilian native fruits. **PLoS ONE**, v. 11, n. 4, 2016.

IRAVANI, S. *et al.* Synthesis of silver nanoparticles: Chemical, physical and biological methods. **Research in Pharmaceutical Sciences**, v. 9, n. 6, p. 385–406, 2014.

JOY PRABU, H.; JOHNSON, I. Plant-mediated biosynthesis and characterization of silver nanoparticles by leaf extracts of *Tragia involucrata*, *Cymbopogon citronella*, *Solanum verbascifolium* and *Tylophora ovata*. **Karbala International Journal of Modern Science**, v. 1, n. 4, p. 237–246, 2015.

KAABIPOUR, S.; HEMMATI, S. A review on the green and sustainable synthesis of silver nanoparticles and one-dimensional silver nanostructures. **Beilstein Journal of Nanotechnology**, v. 12, p. 102–136, 2021.

KHALIL, M. M. H. *et al.* Green synthesis of silver nanoparticles using olive leaf extract and its antibacterial activity. **Arabian Journal of Chemistry**, v. 7, n. 6, p. 1131–1139, 2014.

KOCADAG KOCAZORBAZ, E. *et al.* Kermes oak (*Quercus coccifera* L.) extract for a biogenic and eco-benign synthesis of silver nanoparticles with efficient biological activities. **Environmental Technology and Innovation**, v. 24, p. 102067, 2021.

LAURENTH, W.C.; INVERNIZZI, N. Educando a forma de trabalho em nanotecnologia no Brasil: demandas da indústria e oferta das universidades. **Acta Scientiarum**, v. 34, n. 2, p. 205-216, 2012

LAZARINI, J. G. *et al.* Anti-inflammatory and antioxidant potential, in vivo toxicity, and polyphenolic composition of *Eugenia selloi* B.D.Jacks. (pitangatuba), a Brazilian native fruit. **PLoS ONE**, v. 15, n. 6, p. 1–16, 2020.

LEE, S. H.; JUN, B. H. Silver nanoparticles: Synthesis and application for nanomedicine. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 20, n. 4, 2019.

LIMA, D. F.; CADDAH, M. K.; GOLDENBERG, R. A família Myrtaceae na Ilha do Mel, Paranaguá, Estado do Paraná, Brasil. **Hoehnea**, v. 42, n. 3, p. 497–519, 2015.

LÓPEZ-LORENTE, A.; VALCÁRCEL, M. The third way in analytical nanoscience and nanotechnology: Involvement of nanotools and nanoanalytes in the same analytical process. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, v. 75, p. 1-9, 2016.

MALAPERMAL, V. *et al.* Enhancing antidiabetic and antimicrobial performance of *Ocimum basilicum*, and *Ocimum sanctum* (L.) using silver nanoparticles. **Saudi Journal of Biological Sciences**, v. 24, n. 6, p. 1294–1305, 2017.

MARQUES, T. S. *et al.* Determinação do perfil fitoquímico e avaliação das atividades biológicas de extrato da espécie *Scleronema micranthum* da família Bombacaceae. **Revista Fitos**, v. 10, n. 4, p. 433–445, 2017.

MATHUR, P. *et al.* Pharmaceutical aspects of silver nanoparticles. **Artificial Cells**,

Nanomedicine and Biotechnology, v. 46, n. 1, p. 115–126, 2018.

MONDAL, A. H. *et al.* Biosynthesis of Silver Nanoparticles Using Culture Supernatant of *Shewanella* sp . ARY1 and Their Antibacterial Activity. **International Journal of Nanomedicine**, v.15, p. 8295–8310, 2020.

MONTALVÁN, M. *et al.* Chemical Composition, Enantiomeric Distribution, and Sensory Evaluation of the Essential Oils Distilled from the Ecuadorian Species *Myrcianthes myrsinoides* (Kunth) Grifo and *Myrcia mollis* (Kunth) DC. (Myrtaceae). **Plants**, v. 8, n. 511, p. 2-13, 2019.

MORAIS, L. M. F. DE; CONCEIÇÃO, G. M. DA; NASCIMENTO, J. DE M. Família Myrtaceae: Análise Morfológica E Distribuição Geográfica. **Agrarian academy**, v. 1, n. 1, p. 317–346, 2014.

MOREIRA, L. M. *et al.* Influence of different water-ethanol solvent systems on the spectroscopic and physico-chemical properties of the macrocyclic compounds pheophytin and chlorophyll α . **Quimica Nova**, v. 33, n. 2, p. 258–262, 2010.

MOTERIYA, P.; CHANDA, S. Journal of Genetic Engineering and Biotechnology Biosynthesis of silver nanoparticles formation from *Caesalpinia pulcherrima* stem metabolites and their broad spectrum biological activities. **Journal of Genetic Engineering and Biotechnology**, v. 16, n. 1, p. 105–113, 2018.

MOUSAVI, S. M. *et al.* Green synthesis of silver nanoparticles toward bio and medical applications: review study. **Artificial Cells, Nanomedicine and Biotechnology**, v. 46, n. 3, p. S855–S872, 2018.

NAJAH-MISSAOUI, W.; ARNOLD, R. D.; CUMMINGS, B. S. Safe nanoparticles: Are we there yet? **International Journal of Molecular Sciences**, v. 22, n. 1, p. 1–22, 2021.

NASCIMENTO, D. T. F; RIBEIRO, S. A. **Os biomas brasileiros e a defesa da vida**. Goiânia: Editora Kelps, 2017. *E-book*. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/323561115_Biomas_Brasileiros_e_Defesa_da_Vida. Acesso em 20 mar. 2021.

NAVEED, R. *et al.* Antimicrobial activity of the bioactive components of essential oils from Pakistani spices against *Salmonella* and other multi-drug resistant bacteria. **BMC Complementary and Alternative Medicine**, v. 13, n. 1, p. 1, 2013.

NDIKAU, M. *et al.* Green Synthesis and Characterization of Silver Nanoparticles Using *Citrullus lanatus* Fruit Rind Extract. **International Journal of Analytical Chemistry**, v. 2017, 2017.

NETALA, V. R. *et al.* Biogenic silver nanoparticles: efficient and effective antifungal

agents. **Applied Nanoscience (Switzerland)**, v. 6, n. 4, p. 475–484, 2016.

NEWMAN, D. J. The influence of Brazilian biodiversity on searching for human use pharmaceuticals. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 28, n. 3, p. 402–414, 2017.

NICÁCIO, A. E. *et al.* Antioxidant Activity and Determination of Phenolic Compounds from *Eugenia involucrata* DC. Fruits by UHPLC-MS/MS. **Food Analytical Methods**, v. 10, n. 8, p. 2718–2728, 2017.

OLIVEIRA, G. Z. S. **Síntese verde de nanopartículas de prata utilizando extrato aquosos e metabólito secundário (quercetina) das folhas de *Pterodon emarginatus* (sucupira branca) direcionadas para aplicações biomédicas e agrícolas.** 2018. 220 f. Tese (Doutorado em Nanociência e Nanotecnologia) - Universidade de Brasília, Brasília, 2018.

OLIVEIRA, R. *et al.* Prospecção fitoquímica do extrato etanólico de *Bauhinia forficata* L. e seu potencial candidacida. **200.129.173.132**, 2017.

PARK, J. S.; AHN, E. Y.; PARK, Y. Asymmetric dumbbell-shaped silver nanoparticles and spherical gold nanoparticles green-synthesized by mangosteen (*Garcinia mangostana*) pericarp waste extracts. **International Journal of Nanomedicine**, v. 12, p. 6895–6908, 2017.

PAULO FARIAS, D. *et al.* A critical review of some fruit trees from the Myrtaceae family as promising sources for food applications with functional claims. **Food Chemistry**, v. 306, n. September 2019, p. 125630, 2020.

PELLISSARI, G. P.; PIETRO, R. C. L. R.; MOREIRA, R. R. D. Atividade antibacteriana do óleo essencial de *Melampodium divaricatum* (Rich.) DC., Asteraceae. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 20, n. 1, p. 70–74, 2010.

RAFIQUE, M. *et al.* A review on green synthesis of silver nanoparticles and their applications. **Artificial Cells, Nanomedicine and Biotechnology**, v. 45, n. 7, p. 1272–1291, 2017.

RAI, M. Nanobiotecnologia verde: biossínteses de nanopartículas metálicas e suas aplicações como nanoantimicrobianos. **Ciência e Cultura**, v. 65, n. 3, p. 44–48, 2013.

RANA, A.; YADAV, K.; JAGADEVAN, S. A comprehensive review on green synthesis of nature-inspired metal nanoparticles: Mechanism, application and toxicity. **Journal of Cleaner Production**, v. 272, p. 122880, 2020.

RAOTA, C. S. **Síntese verde de nanopartículas de prata a partir do extrato do bagaço de *Vitis labrusca* (Cultivar Ives), caracterização e aplicação na**

desinfecção de efluentes industriais. 2018. 109 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia e Ciência dos Materiais) - Universidade de Caxias do Sul, Caxias do Sul, 2018.

REOLON, C. M. M. **Síntese de nanopartículas de prata estabilizadas por carboximetilcelulose e avaliação da atividade catalítica.** 2019. 62 f. Dissertação (Mestre em Química) - Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Toledo, 2019.

RIBEIRO, V. P. *et al.* Brazilian medicinal plants with corroborated anti-inflammatory activities: A review. **Pharmaceutical Biology**, v. 56, n. 1, p. 253–268, 2018.

RÓNAVÁRI, A. *et al.* Green Silver and Gold Nanoparticles: Biological Synthesis Approaches and Potentials for Biomedical Applications. **Molecules (Basel, Switzerland)**, v. 26, n. 4, p. 1–39, 2021.

ROSA, M. N. *et al.* Bioprospecting of natural compounds from Brazilian cerrado biome plants in human cervical cancer cell lines. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 22, n. 7, p. 1–13, 2021.

ROSA, R. C. A. *et al.* Triagem fitoquímica dos extratos aquosos de Bauhinia candicans, Foeniculum vulgare, Mentha pulegium e Morus nigra. **Conexão Ciência (Online)**, v. 11, n. 1, p. 44–51, 2016.

ROY, P. *et al.* Green synthesis of silver nanoparticles using azadirachta indica leaf extract and its antimicrobial study. **Applied Nanoscience (Switzerland)**, v. 7, n. 8, p. 843–850, 2017.

SANTOS, A. F. DOS *et al.* Análise da produção científica sobre plantas com potencial antioxidante, antimicrobiano e alelopático disponíveis na base Scielo. **Diversitas Journal**, v. 3, n. 2, p. 375, 2018.

SARATALE, R. G. *et al.* Exploiting antidiabetic activity of silver nanoparticles synthesized using Punica granatum leaves and anticancer potential against human liver cancer cells (HepG2). **Artificial Cells, Nanomedicine and Biotechnology**, v. 46, n. 1, p. 211–222, 2018.

SARDI, J. DE C. O. *et al.* Unexplored endemic fruit species from Brazil: Antibiofilm properties, insights into mode of action, and systemic toxicity of four Eugenia spp. **Microbial Pathogenesis**, v. 105, p. 280–287, 2017.

SATO, T. S. *et al.* Proposta de formulação contendo extrato de folhas de Eugenia involucrata e análise da atividade antimicrobiana. Proposal of a formulation containing leaves extract of Eugenia involucrata. **Revista Fitos**, v. 12, n. 1, p. 68–82, 2018.

SAUSEN, T. *et al.* Avaliação da atividade alelopática do extrato aquoso de folhas de

Eugenia involucrata DC. e *Acca sellowiana* (O. Berg) Burret. **Polibotânica**, n. 27, p. 145–158, 2009.

SIGNORI, A.M. **Nanocatalisadores metálicos de paládio e prata estabilizados com novos líquidos iônicos piridínicos para aplicações em reações de Heck e redução**. 2015. 221 f. Tese (Doutor em Química) - Universidade Federal de Santa Catarina Florianópolis, 2015.

SILVA, A. T.; MAZINE, F. F. A família Myrtaceae na Floresta Nacional de Ipanema, Iperó, São Paulo, Brasil. **Rodriguesia**, v. 67, n. 1, p. 203–223, 2016.

SILVEIRA, R. M. *et al.* Environmental variations drive polyploid evolution in neotropical *Eugenia* species (**Myrtaceae**). **Genetics and Molecular Res.**, v. 15, n. 4, p. 1–19, 2016.

SIMÕES, R. R. *et al.* *Eugenia brasiliensis* leaves extract attenuates visceral and somatic inflammatory pain in mice. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 217, p. 178–186, 2018.

STADNIK, A.; OLIVEIRA, M. I. U. DE; ROQUE, N. Levantamento florístico de Myrtaceae no município de Jacobina, Chapada Diamantina, Estado da Bahia, Brasil. **Hoehnea**, v. 43, n. 1, p. 87–97, 2016.

SUN, Q. *et al.* Green synthesis of silver nanoparticles using tea leaf extract and evaluation of their stability and antibacterial activity. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v. 444, p. 226–231, 2014.

TOLEDO, A. G. *et al.* Chemical composition, antimicrobial and antioxidant activity of the essential oil of leaves of *Eugenia involucrata* DC. **Bioscience Journal**, v. 36, n. 2, p. 568–577, 2020.

TOLEDO, A. G. *et al.* Antimicrobial, antioxidant activity and phytochemical prospection of *Eugenia involucrata* DC. Leaf extracts. **Brazilian Journal of Biology**, v. 83, p. 1–9, 2023.

TORRES DE SOUZA, P. L. *et al.* Produção e qualidade de mudas de *Eugenia involucrata* DC . em diferentes substratos. **Revista Biociências, Taubaté**, v. 21, n. 1, p. 100–108, 2015.

TROJAN-RODRIGUES, M. *et al.* Plants used as antidiabetics in popular medicine in Rio Grande do Sul, southern Brazil. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 139, n. 1, p. 155–163, 2012.

VALLI, M.; RUSSO, H. M.; BOLZANI, V. DA S. The potential contribution of the natural products from Brazilian biodiversity to bioeconomy. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 90, n. 1, p. 763–778, 2018.

VASCONCELOS, T. N. C. *et al.* Floral heterochrony promotes flexibility of reproductive strategies in the morphologically homogeneous genus *Eugenia* (Myrtaceae). **Annals of Botany**, v. 121, n. 1, p. 161–174, 2018.

WAGNER, J. G. **Pesquisa participativa sobre *Eugenia involucrata* DC para fins de conservação e melhoramento genético**. 2017. 90 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharel em Agronomia) - Universidade Federal de Santa Catarina, Curitibanos, 2017.

XU, L. *et al.* Silver nanoparticles: Synthesis, medical applications and biosafety. **Theranostics**, v. 10, n. 20, p. 8996–9031, 2020.

ZHANG, X. F. *et al.* Silver nanoparticles: Synthesis, characterization, properties, applications, and therapeutic approaches. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 17, n. 9, 2016.