



**Universidade Federal do Amazonas – UFAM**  
**Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação – PROPESP**  
**Instituto de Ciências Exatas e Tecnologia – ICET**  
**Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia para Recursos**  
**Amazônicos – PPGCTRA**



**Síntese de nanopartículas de prata mediada por extratos vegetais de**  
***Astrocaryum aculeatum* (tucumã)**

SIDNEY SOUZA DOS SANTOS

Itacoatiara – AM

2022

**SIDNEY SOUZA DOS SANTOS**

**Síntese de nanopartículas de prata mediada por extratos vegetais de *Astrocaryum aculeatum* (tucumã)**

Dissertação apresentada para o Programa de Pós-graduação em Ciência e Tecnologia para Recursos Amazônicos como pré-requisito para a obtenção do título de Mestre em **Ciência e Tecnologia para Recursos Amazônicos**.

Orientador: Prof. Dr. Gustavo Frigi Perotti

Coorientador: Prof. Dr. Luiz Pereira da Costa

Itacoatiara – AM  
2022

## *Dedicatória*



**Vanderlei Teixeira de Souza**

**★ 02/06/1965 † 17/01/2021**

*A senhora esteve comigo no início dessa caminhada, mas não pode estar na linha de chegada. No entanto, fecho os olhos e lhe imagino feliz pela minha conquista. Obrigado por fazer parte da minha vida tia, Te amo!*

*Dedico essa dissertação para você!*

## **Agradecimentos**

Agradeço ao meu orientador Prof. Dr. Gustavo Frigi Perotti pela sua dedicação, incentivo, acompanhamento e orientação, indispensáveis para realização desse trabalho.

À Profa. Dra. Vera Regina Leopoldo Constantino e ao técnico de laboratório Ricardo Alexandre Alves de Couto, do Instituto de Química da USP (IQ-USP), pela realização dos ensaios de espalhamento de luz e potencial Zeta.

À Dra. Ingrid Reis, do Centro de Biotecnologia da Amazônia (CBA) pelo auxílio com os ensaios microbiológicos.

A toda equipe de laboratório do LEMAv, Gabriela Simas, Carolyne e todos os outros que contribuíram para esse trabalho.

À minha querida mãe Rosineide Martins por toda ajuda, incentivo e por acreditar nos meus sonhos.

Aos meus familiares, principalmente minha vizinha Valquíria Teixeira de Souza, minha irmã, Samara Souza dos Santos por todo apoio e incentivo.

À minha querida namorada Maria Magalhães por sempre me incentivar e acreditar nos meus objetivos.

Aos meus amigos Dérick Arruda e Rafael Reis pela parceria em todos os momentos.

Ao Prof. Rafael Hinnah pela amizade e ajuda para ingressar nesse mestrado.

Ao Prof. Érico Hoshiba Takahashi pelo apoio e incentivo a fazer pesquisa científica.

A todos os professores do Instituto de Ciências Exatas e Tecnologia da UFAM que contribuíram para minha formação.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) e Fundação à Pesquisa do Estado do Amazonas (FAPEAM) pelo fomento à pesquisa e a bolsa concedida para a realização desse trabalho.

Meus sinceros agradecimentos a todos que contribuíram de alguma maneira direta ou indiretamente para a realização deste trabalho, obrigado a todos!

## Resumo

Considerando os diferentes métodos de preparação de nanopartículas de prata (AgNPs), a rota biológica se apresenta como uma alternativa interessante devido ao seu baixo impacto ambiental e ao uso de matérias-primas renováveis no processo. Os extratos vegetais têm mostrado resultados promissores na produção de AgNPs, além disso, existem uma grande diversidade de plantas na região amazônica cujo seus extratos (caule, fruto, semente e folha) podem ser usados como agentes biorredutores em rotas sintéticas alternativas. O presente estudo investigou a formação de AgNPs através da síntese mediada por extratos aquosos da polpa de tucumã (*Astrocaryum aculeatum*) em diferentes condições, avaliando o impacto da variação de condições experimentais na obtenção das dispersões das nanoestruturas. Baixas concentrações do extrato de tucumã (2 g de polpa em 200 mL de água) no meio reacional não foram suficientes para reduzir todos os íons de prata presentes durante o período de tempo investigado. Enquanto isso, concentrações elevadas de fitoquímicos (4 g de polpa em 200 mL de água) geraram uma competição entre os processos de biorredução e a complexação de cátions prata. As condições em meio alcalino exibiram bandas relacionadas à formação de AgNPs em menor tempo, formaram sinais mais nítidos, com maior intensidade e em menores comprimentos de onda, de acordo com a técnica espectroscópica UV-Vis, indicando a ocorrência de nanoestruturas menores e mais uniformes com relação a meios ácidos. Os resultados de DLS também exibiram uma tendência similar, indicando um menor tamanho médio das AgNPs em meio alcalino em relação as amostras obtidas em meios ácidos. Para a variação de temperatura, com o aumento da mesma houve uma intensificação do sinal da banda RPS. Entretanto, os resultados de DLS sugerem que o aumento da temperatura favorece a polidispersividade das AgNPs, diminuindo a metaestabilidade dos coloides produzidos. Foi detectada atividade antimicrobiana para a amostra em concentração média de extrato vegetal (3 g de polpa em 200 ml de água), meio alcalino na temperatura de 40 °C frente a *E. coli*. Os resultados sugerem que a formação de AgNPs é influenciada pelos parâmetros experimentais concentração de extrato vegetal, pH e temperatura. A amostra obtida empregando concentração média de extrato vegetal, pH 9 e na temperatura de 40 °C apresentou os melhores resultados para atender ao objetivo microbicida proposto neste estudo.

**Palavras chaves:** Nanotecnologia; síntese verde; recursos Amazônicos; atividade microbicida.

## Abstract

Considering the different methods of preparation of silver nanoparticles (AgNPs), the biological route is an interesting alternative due to its low environmental impact and the use of renewable raw materials in the process. Plant extracts have shown promising results in the production of AgNPs, in addition, there is a great diversity of plants in the Amazon region whose extracts (stem, fruit, seed and leaf) can be used as bioreducing agents in alternative synthetic routes. The present study investigated the formation of AgNPs through synthesis mediated by aqueous extracts of tucumã pulp (*Astrocaryum aculeatum*) under different conditions, evaluating the impact of changes in experimental conditions on the resulting aqueous dispersions of the nanostructures. Low concentrations of tucumã extract (2 g of pulp in 200 mL of water) in the reaction medium were not sufficient to reduce all silver ions present during the investigated time period. Meanwhile, high concentrations of phytochemicals (4 g of pulp in 200 mL of water) generated a competition between the bioreduction processes and the complexation of silver cations. The conditions in alkaline medium exhibited bands related to the formation of AgNPs in a shorter time, formed more nitid signals, with greater intensity and at shorter wavelengths, according to the UV-Vis spectroscopic technique, indicating the occurrence of smaller and more uniform nanostructures acid media. The DLS results also showed a similar trend, indicating a smaller average size of AgNPs in alkaline medium in relation to the samples obtained in acidic media. For the temperature variation, an increase in this parameter resulted on an intensification of the signal related to the SPR band. However, the results of DLS suggest that the increase in temperature favors the polydispersivity of AgNPs, decreasing the metastability of the produced colloids. Antimicrobial activity was detected for the sample with intermediate concentration of plant extract (3 g of pulp in 200 mL of water), alkaline medium at 40 °C temperature against *E. coli*. The results suggest that the formation of AgNPs is influenced by the experimental parameters concentration of plant extract, pH and temperature. The sample obtained using intermediate concentration of plant extract, at pH 9 and at a temperature of 40 °C is the most appropriate condition to meet the microbicidal objective proposed in this study.

**Keywords:** Nanotechnology; green synthesis; Amazonian resources; microbicidal activity.

## SIGLAS E ABREVIACÕES

$\pi$ – Orbital pi ligante	MFC – Concentração fungicida mínima
$\pi^*$ – Orbital pi antiligante	mL – Mililitro
-C=O – Função carbonila	mV – Milivolt
-SH – Tiol	n – Par de elétrons não-ligante
OH <sup>-</sup> – Íon hidróxido	NaOH – Hidróxido de sódio
°C – Grau Celsius	nm – Nanômetro
A.C. – Antes de Cristo	NPs – Nanopartículas
Ag <sup>+</sup> – Cátion prata	-OH – Função álcool
AgNO <sub>3</sub> – Nitrato de prata	PDI – Índice de polidispersividade
AgNPs – Nanopartículas de prata	ROS – Espécies reativas de oxigênio
AIDS – Síndrome de imunodeficiência adquirida	RNA – Ácido ribonucleico
AM – Amazonas	RPM – Revoluções por minuto
A <sub>max</sub> – Absorbância máxima	RPS – Ressonância de <i>plasmon</i> de superfície
C-OH – Função álcool	pH – Potencial hidrogeniônico
DLS – Espalhamento de luz dinâmico	u.a. – Unidade adimensional
DNA – Ácido desoxirribonucleico	UV – Ultravioleta
H <sup>+</sup> – Cátion hidrogênio	UV-Vis – Ultravioleta-visível
HNO <sub>3</sub> – Ácido nítrico	

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1</b> - Taça de Licurgo sob diferentes iluminações, (A) a luz refletida e (B) a luz transmitida. ....	15
<b>Figura 2</b> - Oscilação da Nuvem eletrônica em esferas metálicas. ....	16
<b>Figura 3</b> - Mercado e produção (em toneladas) de AgNPs. ....	17
<b>Figura 4</b> - Representação do processo de formação das AgNPs. ....	19
<b>Figura 5</b> - Imagem do fruto de tucumazeiro ( <i>Astrocaryum aculeatum</i> ). ....	20
<b>Figura 6</b> - Representação das membranas de bactérias Gram-positivas e Gram-negativas. ....	22
<b>Figura 7</b> - Representação esquemática de um tecido contendo nanopartícula de prata e sua atuação contra bactérias. ....	23
<b>Figura 8</b> - Imagens dos meios reacionais para a condição 1 de extrato de tucumã, em pH 7, temperatura ambiente e em diferentes períodos de tempo de reação: (A) 5 minutos, (B) 3 horas e (C) 3 dias. ....	30
<b>Figura 9</b> - Espectros eletrônicos UV-Vis do meio reacional para a condição 2 para o extrato de tucumã (A) e extrato mais a solução de nitrato de prata em diferentes períodos de tempo (B). ....	31
<b>Figura 10</b> - Espectros eletrônicos UV-Vis referente a mistura do sal de prata e o extrato vegetal para os meios reacionais contendo quantidades de extrato de tucumã nas condições 1 (A), 2 (B) e 3 (C), pH 9 do meio reacional e em temperatura ambiente. ...	33
<b>Figura 11</b> - Espectros eletrônicos UV-Vis para os meios reacionais nos valores de pH 5 (A), 7 (B) e 9 (C) empregando a condição 2 de extrato de tucumã e em temperatura ambiente. ....	35
<b>Figura 12</b> - Evolução do valor máximo de absorvância referente à banda RPS para os meios de reação da condição 1 (pHs 5, 7 e 9) (A), condição 2 (pH 5, 7 e 9) (B) e condição 3 (pH 5, 7 e 9) (C) em temperatura ambiente. ....	37
<b>Figura 13</b> - Proposição de mecanismo de redução da prata catiônica utilizando uma espécie genérica de composto fenólico. ....	39
<b>Figura 14</b> - Espectros eletrônicos UV-Vis para os meios reacionais nos valores de: pH 7, 40 °C (A); pH 7, 50 °C (B); pH 9, 40 °C (C); pH 9, 50 °C (D) empregando a condição 2 de extrato de tucumã. ....	41

<b>Figura 15</b> - Evolução do valor máximo de absorvância referente à banda RPS para os meios de reação da condição 1 (pHs 5, 7 e 9) (A), condição 2 (pH 5, 7 e 9) (B) e condição 3 (pH 5, 7 e 9) (C) em temperatura ambiente.....	42
<b>Figura 16</b> - Espalhamento de luz dinâmico para as amostras em concentração de extrato médio de extrato vegetal, meio alcalino nas temperaturas de 30, 40 e 50 °C.....	43
<b>Figura 17</b> - Ensaio antimicrobiano frente a bactéria <i>E. coli</i> . .....	45

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1</b> - Equipamentos e materiais utilizados nos ensaios de produção e caracterização das AgNPs.....	28
<b>Tabela 2</b> - Reagentes utilizados nos ensaios de produção e caracterização das AgNPs.....	28
<b>Tabela 3</b> - Diâmetro médio das AgNPs em função do pH e temperatura.....	47

## SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO .....	12
2	REFERENCIAL TEÓRICO .....	14
2.1	Nanopartículas de prata.....	14
2.2	Síntese biológica .....	18
2.3	O tucumã ( <i>Astrocaryum aculeatum</i> ).....	19
2.4	Efeito biocida em sistemas biológicos (bactérias, fungos e leveduras) .....	21
2.4.1	Bactérias.....	21
2.3.2	Fungos e Leveduras .....	24
3	OBJETIVOS.....	26
3.1	Objetivos específicos .....	26
4	MATERIAIS E MÉTODOS .....	27
4.1	Equipamentos e materiais de laboratório .....	27
4.2	Reagentes .....	27
4.3	Métodos.....	27
4.3.1	Obtenção do extrato aquoso da polpa de tucumã.....	27
4.3.2	Obtenção das nanopartículas de prata.....	28
4.3.3	Caracterização das nanopartículas produzidas.....	28
4.3.4	Espalhamento de luz dinâmico .....	28
4.3.5	Ensaio microbiológicos .....	29
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	29
5.1	Produção de AgNPs .....	29
5.2	Efeito da concentração de extrato vegetal .....	32
5.3	Efeito do pH.....	34
5.4	Efeito da concentração de extrato vegetal e pH.....	36
5.5	Efeito da temperatura.....	39
5.6	Análise por espalhamento de luz dinâmico (DLS) e potencial Zeta.....	42

5.7	Atividade microbica da nanopartículas.....	45
6	CONCLUSÕES.....	46
7	REFERÊNCIAS.....	48

## 1 INTRODUÇÃO

A nanotecnologia abrange o estudo com base no desenvolvimento, na caracterização e no emprego de estruturas, de dispositivos e de sistemas que possuam ao menos uma de suas dimensões na escala de 1 a 100 nm (TARAM *et al.*, 2021). Dentre os diferentes materiais que constituem essa classe, as nanopartículas, em especial formadas por metais nobres, são utilizadas em diversas aplicações industriais e farmacêuticas devido as suas propriedades físicas, químicas e biológicas. Já dentre esses metais, a prata tem atraído a atenção principalmente devido a sua alta afinidade e adesão às membranas celulares de sistemas biológicos (BAGHAIENEZHAD; BOROGHANI; ANABESTANI, 2020; JAVED *et al.*, 2020). As nanopartículas de prata (AgNPs) são conhecidas pelo seu efeito inibitório contra patógenos, atuando contra a proliferação de microrganismos e contribuindo no processo anti-inflamatório (BAGHAIENEZHAD; BOROGHANI, ANABESTANI 2020; BHUYAR *et al.*, 2020).

O uso descontrolado dos antibióticos resultou na adaptação e desenvolvimento de resistência bacteriana, causando falhas no tratamento e prolongamento do tempo de hospitalização, o que aumenta o custo do tratamento e eleva a mortalidade (ANTUNES *et al.*, 2013; SINGH *et al.*, 2020). O sistema bacteriano pode adquirir resistências por vários mecanismos e pode ser transferida para outras bactérias por três principais mecanismos de recombinação genética: tradução, conjugação e transformação. Com o cenário de resistência bacteriana, as AgNPs têm atraído o interesse devido às suas potenciais aplicações biomédicas (DISSEMOND *et al.*, 2020; LEHTINEN *et al.*, 2017).

As AgNPs apresentam um amplo efeito biocida e baixa propensão de induzir resistência microbiana, causando o rompimento da membrana celular e a perturbação dos mecanismos de síntese de proteínas no sistema bacteriano (NAM *et al.*, 2016; SALAS-OROZCO *et al.*, 2019). Os íons  $Ag^+$  apresentam uma alta afinidade por proteínas, enzimas, DNA, RNA, e tais interações interferem em processos celulares microbianos (WEI *et al.*, 2015). Essa característica microbicida está relacionada com sua superfície de contato das AgNPs com o sistema biológico, ou seja, depende da forma e tamanho desses nanomateriais (DISSEMOND *et al.*, 2020).

Existem duas abordagens para obtenção dessas nanoestruturas, sendo a primeira conhecida como “de cima pra baixo” (*top-down*) que consiste na fragmentação de matérias maiores (macroescala). A segunda abordagem é a “de baixo pra cima” (*bottom-up*) e se caracteriza na produção de nanoestruturas a partir de precursores em escala ainda

menor, como por exemplo, átomos e moléculas. Cada abordagem possui diferentes metodologias para a obtenção de nanoestruturas, como por exemplo na abordagem *bottom-up* existem duas rotas (química convencional e biológica) para a síntese de nanopartículas (NPs) e que utilizadas tanto em escala industrial como na área acadêmica (KHAN; SAEED; KHAN 2017).

A rota química convencional é o procedimento economicamente mais viável para a produção das NPs. Nesse processo são utilizados o sal metálico precursor e um agente redutor/estabilizador, no qual são comumente usados o citrato de sódio e o borohidreto de sódio (SUM, 2010). Entretanto, alguns desses agentes redutores podem gerar subprodutos potencialmente tóxicos que limitam sua aplicação na área biomédica. Por outro lado, a rota biológica vem ganhando considerável importância nos últimos anos. Com o cenário sustentável em alta, prioriza-se o desenvolvimento de novas tecnologias que gerem baixo impacto ambiental (KARIM *et al.*, 2019).

A síntese verde é um termo usado para a síntese ecologicamente mais correta das NPs. Ela utiliza organismos biológicos ou parte deles (órgãos, tecidos, células ou biomoléculas) como substituintes de reagentes químicos potencialmente tóxicos nas reações (KARIM *et al.*, 2019; SINGH *et al.*, 2016). O extrato vegetal de plantas tem tido resultados promissores em sínteses de AgNPs, além disso, existe uma grande quantidade de espécies de plantas, cujo seus extratos oriundos de diferentes porções (caule, fruto, semente e folha) podem ser usados como agentes biorredutores em rotas de síntese denominadas de biológicas (TEIMURI-MOFRAD *et al.*, 2017).

A grande diversidade de plantas encontradas na Amazônia, que muitas vezes são inexploradas ou que apresentam baixa exploração tecnológica, apresentam em seus extratos biomoléculas que podem ser usadas como agentes biorredutores durante as rotas de síntese de nanopartículas metálicas (LIMA *et al.*, 2019). Estudos na área da saúde tem sido o foco de várias pesquisas envolvendo aplicações para biossíntese de AgNPs (CHUGH *et al.*, 2018). Um grande número de extratos de plantas relatadas na literatura é utilizado para a síntese das AgNPs. Plantas amazônicas também estão tendo destaque, como por exemplo, o açaí (*Euterpe oleraceae*), cupuaçu (*Theobroma grandiflorum*), murici (*Byrsonima crassifolia*) e taperebá (*Spondias mombin*), realçando as potencialidades do bioma amazônico no contexto tecnológico (LIMA *et al.*, 2019).

O tucumã (*A. aculeatum*) é um fruto conhecido na região amazônica e amplamente utilizado na culinária local (FERREIRA; CASTRO; GENTIL 2010). Além da área alimentícia, o tucumã também oferece benefícios à saúde através da sua ampla

variedade fitoquímica, como por exemplo os carotenoides e flavonoides que possuem características antioxidante (SANTOS *et al.*, 2018). Análises adicionais demonstram que o fruto também apresenta uma das mais altas concentrações de compostos fenólicos e flavonoides, o que lhe confere um alto potencial antioxidante. Essas espécies possuem como característica química a capacidade de bloquear efeitos adversos causados pela existência de radicais livres em sistemas biológicos e também podem atuar como mediadores no processo de redução dos íons prata para a produção das nanopartículas metálicas (CARNEIRO *et al.*, 2017; SAGRILLO *et al.*, 2015).

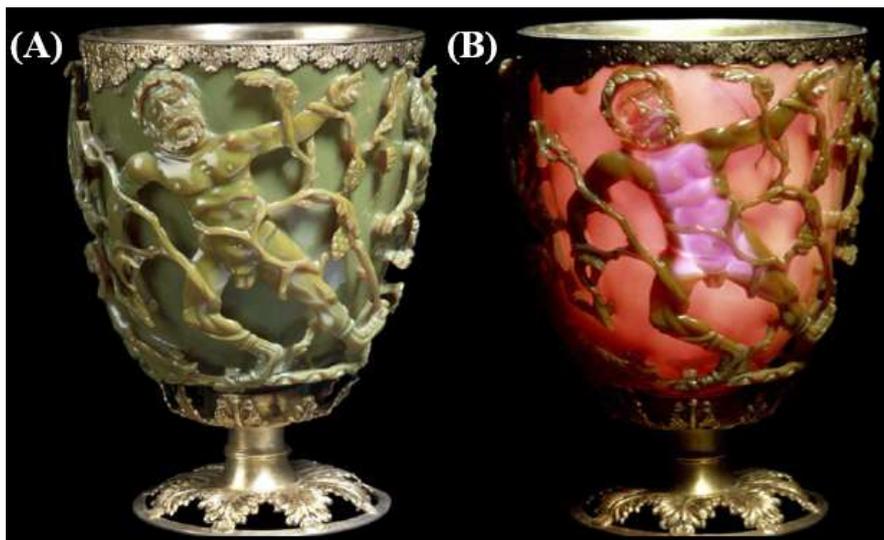
## **2 REFERENCIAL TEÓRICO**

### **2.1 Nanopartículas de prata**

A nanociência é a ciência que manipula a matéria na escala nanométrica ( $10^{-9}$  m), utilizando-se de princípios da física, química e da biotecnologia. Ela tem como principal objetivo sintetizar novos materiais que possuam propriedades novas e/ou melhoradas, modificar e manipular superfícies e elaborar nanoestruturas uni, bi e tridimensionais (BRAUN; SCHUBERT; ZSINDELY, 1997). A nanotecnologia é, portanto, um campo multidisciplinar que visa o controle da matéria nos níveis atômico e molecular (NASROLLAHZADEH *et al.*, 2019).

A humanidade já dominava métodos rudimentares para a produção de nanopartículas metálicas há alguns milênios, embora a nanotecnologia tenha sido definida e aprimorada mais recentemente. Há evidências de que povos antigos se utilizavam de nanoestruturas para produzir distorções coloridas em vidro e em cerâmicas. Um exemplo desse efeito é o vidro da famosa taça de Licurgo (*Lycurgus cup*) produzido em Roma no século IV A.C (Figura 1) e gerado pela combinação de nanopartículas de ouro e prata, causando efeitos coloridos quando observada com iluminação pelo interior ou pelo exterior da taça (MIZIUR-MOŹDZIOCH, 2017). Outras culturas antigas usavam nanopartículas de ouro e prata para diversos fins, como por exemplo o Egito e Índia. Entretanto, a China foi a primeira a propor a cura de doenças a partir do seu uso (HUAIZHI; YUANTAO, 2001).

**Figura 1** - Taça de Licurgo sob diferentes iluminações, (A) a luz refletida e (B) a luz transmitida.

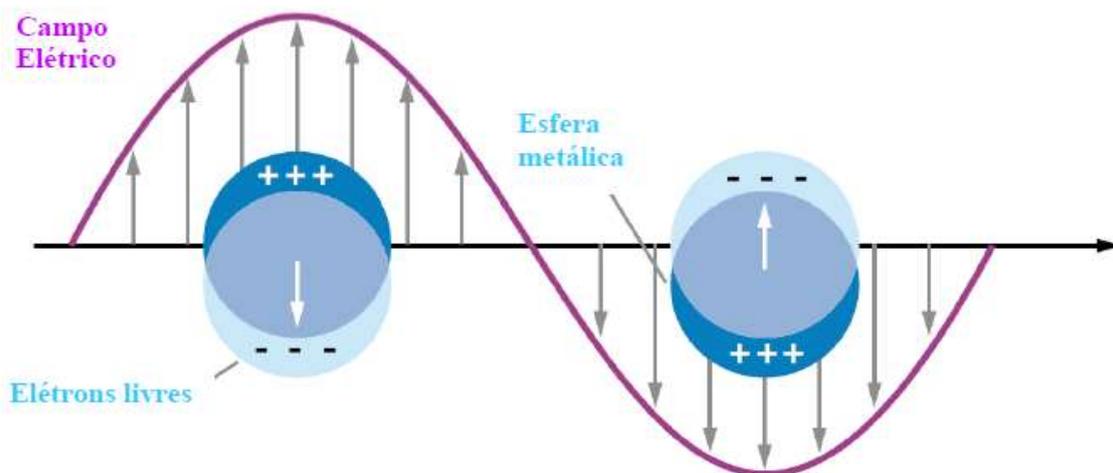


**Fonte:** MIZIUR-MOŹDZIOCH (2017).

Na nanoescala, as propriedades químicas e físicas dessas estruturas são altamente dependentes de fatores geométricos, como tamanho e forma. Fazendo o controle preciso desses fatores permite-se não só observar as propriedades únicas das nanoestruturas, mas também ajustar suas propriedades químicas e físicas como desejado (BHUI *et al.*, 2009). Algumas nanopartículas metálicas, como as AgNPs, apresentam como característica uma intensa banda de absorção evidenciada pela técnica espectrofotométrica de absorção molecular na região do ultravioleta e visível (UV-Vis), devido ao fenômeno denominado de ressonância de *plasmon* de superfície (RPS), que não é visualizada para o mesmo material em escalas maiores (SANTOS *et al.*, 2016).

O fenômeno RPS é caracterizado por ondas que se propagam em toda extensão da superfície do metal. Durante a interação, os elétrons da banda de condução respondem coletivamente por oscilações em ressonância com a onda luminosa, como observado na Figura 2 (JIANG *et al.*, 2017). A interação ressonante entre a superfície carregada oscilante e o campo eletromagnético da luz constitui a RPS, originando suas propriedades únicas, como por exemplo sua alta sensibilidade a mudança de índice de refração na superfície do metal. A prata apresenta propriedades que possibilitam essa propagação da onda plasmônica de superfície (AMIRJANI; FATMEHSARI, 2018). Nesse contexto, a espectroscopia UV-Vis é uma das técnicas mais baratas e eficientes para avaliar a ocorrência das NPs por meio dos valores de máximo e de largura meia altura da banda RPS (JIANG *et al.*, 2017; AMIRJANI; FATMEHSARI, 2018).

**Figura 2** - Oscilação da Nuvem eletrônica em esferas metálicas.



**Fonte:** DA COSTA (2011).

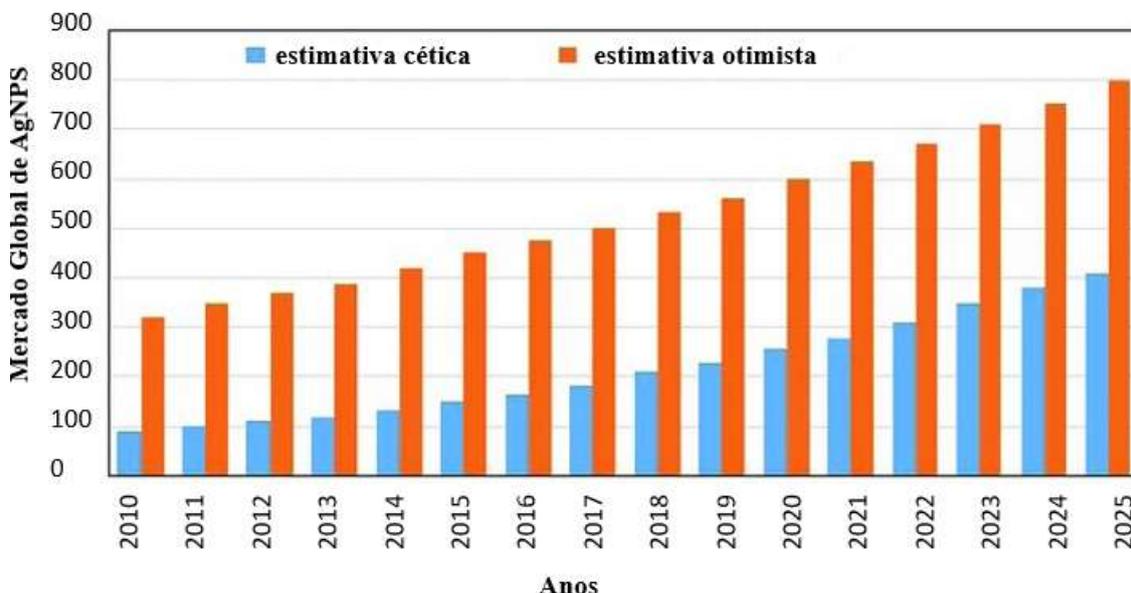
A prata tem sido usada por milhares de anos como um metal valioso em diversas aplicações como joias, ferramentas, moedas, materiais fotográficos e explosivos (JAIN *et al.*, 2007). Nos séculos XVII e XVIII, o nitrato de prata ( $\text{AgNO}_3$ ) foi utilizado no tratamento de úlcera e sua atividade antimicrobiana foi estabelecida no século XIX, sendo especialmente empregado no tratamento de queimaduras. No entanto, após a descoberta dos antibióticos em 1940, o uso para fins medicinais de sais de prata diminuiu (ABDALLA; DADALTI, 2003). Embora o nitrato de prata tenha efeitos promissores no tratamento de queimadura e algumas infecções, há efeitos colaterais comumente descritos a longo prazo. O quadro clínico mais comum causado pela exposição excessiva aos íons prata é a argíria. Essa doença é causada pelo uso e exposição de quantidades excessivas de compostos de prata, capaz de colorir permanente o tecido epitelial (pele) na cor azulada ou acinzentada (HADRUP; SHARMA; LOESCHNER, 2018). Outro efeito adverso está relacionado com a absorção da prata através das membranas mucosas. Uma vez absorvida, a prata pode ser depositada na pele, fígado, baço, rim, córnea e tecidos musculares (VILA; MARCOS; HERNÁNDEZ, 2017). Logo, há a necessidade de estudos que investiguem a estabilização dessas estruturas a base de prata com o intuito de torná-las menos nociva à saúde humana.

Diversos estudos relatam aplicabilidade das AgNPs em variados campos, como na medicina, através da construção de novos dispositivos para detecção de biomoléculas e superfícies inibidoras de crescimento bacteriano (biossensores de alta eficiência,

imagem e diagnóstico e atividade microbicida) (YUN *et al.*, 2019). Na área farmacêutica, podem ser usadas na administração de medicamentos, na terapia contra o câncer (sistemas de entrega de fármacos) e cosméticos (MATHUR *et al.*, 2018). Já na indústria alimentícia e têxtil podem ser usadas no armazenamento de alimentos, em embalagens e processamentos, aumentando seu tempo de prateleira (materiais com propriedades antimicrobianas) (VERMA; MAHESHWARI, 2019). Por fim, no setor de energia, por ser um metal condutor, possui uma boa eficiência para aplicação em coletores de energia solar (NAM *et al.*, 2016; VERMA; MAHESHWARI, 2019; WEI *et al.*, 2015).

Houve um aumento exponencial do consumo de produtos contendo nanomateriais no período de 2010-2015. O uso crescente de AgNPs na indústria fez com sua produção crescesse exponencialmente, sendo que tal crescimento pode chegar a movimentar o mercado global cerca de 3 bilhões de dólares nos próximos anos (INSHAKOVA; INSHAKOV, 2017). A Figura 3 apresenta uma tendência do mercado global baseado no uso de AgNPs em dois possíveis cenários (estimativa cética e otimista). Para suprir essa possível grande demanda comercial de NPs metálicas e ao mesmo tempo amenizar o impacto ambiental, surgem novos métodos ecologicamente corretos de produção desses materiais.

**Figura 3** - Mercado e produção (em toneladas) de AgNPs.



**Fonte:** Adaptado de PULIT-PROCIAK; BANACH, 2016.

## 2.2 Síntese biológica

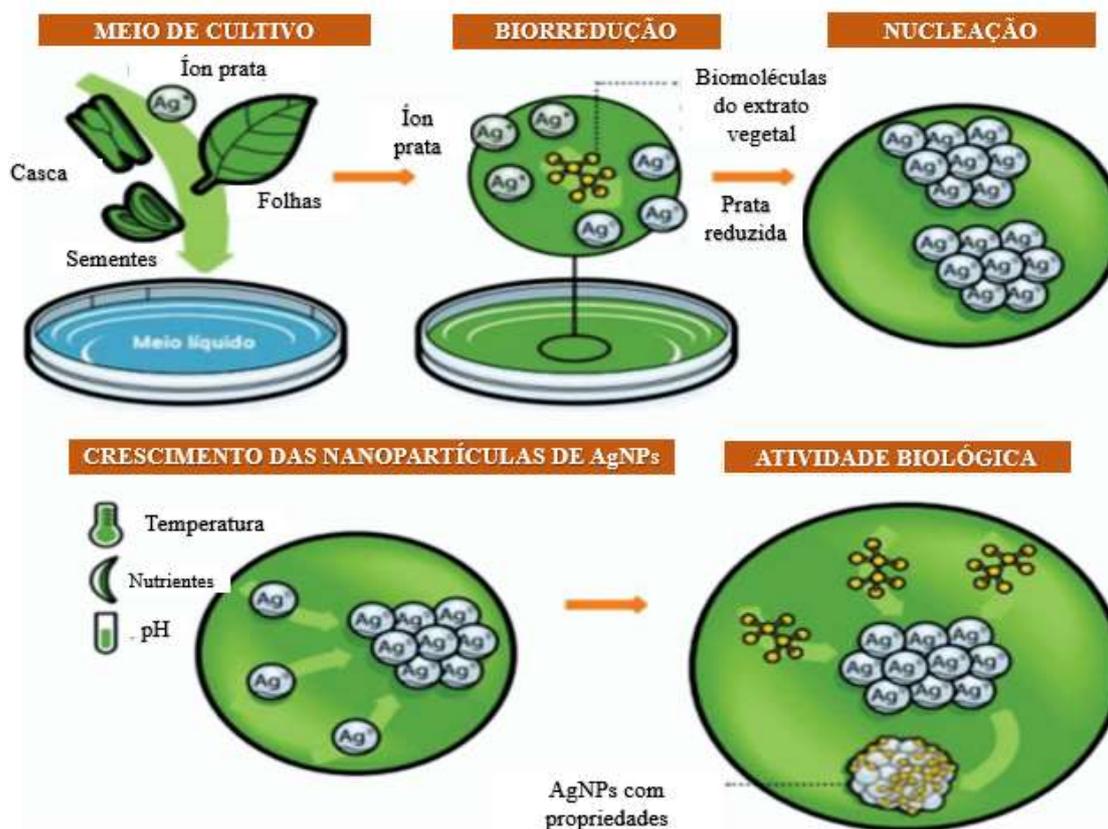
Quando se aplica os conceitos da Química Verde, o desafio sintético se concentra na obtenção de uma estrutura alvo com uma metodologia que agrida o minimamente o meio ambiente (DE MARCOS *et al.*, 2019). Nesse contexto ambientalmente mais amigável, os extratos vegetais tem um grande destaque na produção de AgNPs devido ao método ser econômico e mais sustentável. O extrato de plantas possui uma variedade de componentes fitoquímicos que são indispensáveis na redução da prata na rota verde (RAI, 2013).

A redução e estabilização desses íons de prata são intermediadas pela combinação de biomoléculas presentes no extrato vegetal, como aminoácido, proteínas e polissacarídeos, além de metabólitos secundários como flavonoides, ácidos tânicos e terpenoides (SINGH *et al.*, 2016). A presença desses componentes redutores e estabilizantes influencia as características das AgNPs. Diferentes concentrações de biomoléculas e metabólitos secundários dão origem a diferentes formas dessas nanopartículas, e tais formas estão diretamente ligadas às suas potenciais aplicações (KUMAR *et al.*, 2017; MEVA *et al.*, 2019).

Uma representação da produção das AgNPs mediadas por biomoléculas está exemplificada na Figura 4. Inicialmente o extrato vegetal e um sal precursor de prata são colocados em meio aquoso onde ocorre o processo químico de biorredução. Esse processo é mediado por diferentes compostos fitoquímicos que transformam o íon prata em prata metálica através de uma reação de oxirredução. Posteriormente, os átomos de prata recém reduzidos começam a se agregar, formando as primeiras nanopartículas de prata em suspensão (BONATTO; SILVA, 2014).

Na sequência, mais íons prata são reduzidos e estes se agregam ao redor das nanopartículas previamente formadas. Tais etapas podem ser controlada através de diferentes fatores, como temperatura, pH e concentração dos reagentes (SINGH *et al.*, 2018). Por fim, parte das biomoléculas do extrato vegetal se aderem à superfície das nanopartículas, evitando o crescimento e aglomeração das nanoestruturas, permitindo a formação de dispersões aquosas metaestáveis (coloides) (EBRAHIMINEZHAD *et al.*, 2017).

**Figura 4** - Representação do processo de formação das AgNPs.



**Fonte:** Adaptado de BONATTO; SILVA (2014).

### 2.3 O tucumã (*Astrocaryum aculeatum*)

Existem atualmente duas espécies popularmente conhecidas como tucumã, cujos frutos são comestíveis e comercializados especialmente na região Norte do Brasil. A espécie *Astrocaryum vulgare* tem seus frutos comercializados principalmente na região de Belém e a espécie *Astrocaryum aculeatum*, também conhecida como tucumã-açu, possui demanda consolidada e crescente de seu fruto na Amazônia central, tendo como principal mercado a cidade de Manaus (SANTOS *et al.*, 2018). O tucumanzeiro (*A. aculeatum*) é uma planta que de fácil manejo, tolera solo ácido e pobre em nutrientes. Tais condições são características das regiões onde é encontrada, como por exemplo: Acre, Amapá, Amazonas, Pará e Rondônia (FERREIRA; CASTRO; GENTIL, 2010). Seu fruto é apreciado na região devido ao seu sabor exótico, amanteigado e levemente adocicado. Apresenta uma polpa de coloração que varia do amarelo ao laranja, não suculenta e fibrosa (FERREIRA; FLOR; ANDRADE, 2015).

Como observado na Figura 5, o fruto tem como características em sua fase madura cor amarela e tons avermelhados e é proveniente de uma palmeira da família das

*Arecaceae* que possui de 10 a 25 m de altura e 15 a 30 cm de diâmetro. O tucumazeiro apresenta em seu caule espinhos escuros, folhas ascendentes e é amplamente distribuído na região, apresentando uma grande biodiversidade do gênero *Astrocaryum* (GENTIL; FERREIRA, 2005; LIMA; MENDONÇA; BARBOSA, 2006). A planta tem sido usada desde a época dos Ameríndios até os dias de hoje pelos povos amazônicos. A palmeira é aproveitada quase que por completa para diferentes finalidades, desde construção até artesanato (SHANLEY; SERRA; MEDINA, 2010). A polpa do fruto é comestível e muito apreciada como recheio de sanduíches na culinária regional e possui um alto valor nutritivo. O tucumã tem sido explorado em atividades farmacológicas, como por exemplo, a atividade anti-hiperglicemiante, o efeito citoprotetor, a atividade lectínica, a atividade antimicrobiana, a atividade antioxidante e atividade anti-inflamatória (OLIVEIRA; MOURA; SILVA, 2018).

**Figura 5** - Imagem do fruto de tucumazeiro (*Astrocaryum aculeatum*).



**Fonte:** <https://www.frutiferas.com.br/tucuma>. Acessado em 07/04/2021.

O tucumã tem diversas propriedades nutricionais, como fonte de calorias, fibras, provitamina A (betacaroteno) e outros carotenoides, compostos fenólicos, flavonoides e lipídeos, especialmente o ácido oleico (AZEVEDO *et al.*, 2017). Estudos demonstram que o fruto possui uma alta concentração de composto fenólicos, flavonoides entre outras biomoléculas, o que lhe proporciona um alto potencial antioxidante (SACRILLO *et al.*, 2015; SANTOS *et al.*, 2018). Além disso, a espécie possui como características químicas a capacidade de bloquear efeitos adversos causados pela existência de radicais livres,

podendo também atuar como mediadores no processo de redução dos íons prata (SANTOS *et al.*, 2018).

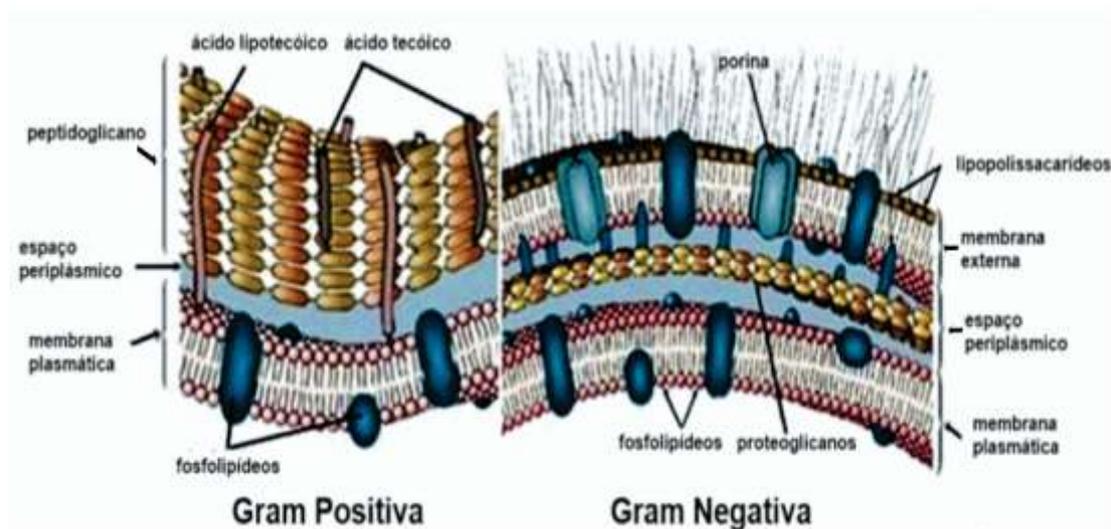
## **2.4 Efeito biocida em sistemas biológicos (bactérias, fungos e leveduras)**

### **2.4.1 Bactérias**

As bactérias são microrganismos pertencentes ao grupo procariótico e são capazes de se reproduzir por fissão binária, replicando simultaneamente seu DNA e dessa maneira, cada célula filha terá o mesmo genoma da célula mãe (CARR, 2017). Possuem uma estrutura muito parecida com os eucariontes, uma vez que possuem membrana celular e ribossomos que contêm informações genéticas (ALJOHNY, 2015). Esses organismos vivos são parte integral e inseparável da vida na Terra, pois estão diretamente ligadas à ciclo de nutrientes, como por exemplo o do nitrogênio. Elas são encontradas tanto no meio ambiente quanto em simbiose com outros seres vivos e habitam diferentes porções desses seres mais complexos, como por exemplo na superfície da pele e mucosas e no intestino dos homens e animais (WALKER, 2002). Muitas delas são inofensivas e outras são benéficas para o hospedeiro, desenvolvendo o mutualismo entre espécies (homem, animal, planta), fazendo a troca de nutrientes e aumentando a proteção contra patógenos e doenças, limitando assim a habilidade de colonização por bactérias nocivas (SANTOS, 2004).

As bactérias são divididas nos grupos Gram-positivas e Gram-negativas, sendo tal classificação obtida após um processo químico de contato entre a cultura de bactérias de interesse e um reagente específico em um ensaio denominado de coloração de Gram (CARR, 2017). Nesse teste, as bactérias que apresentam ao final do ensaio a coloração azul são chamadas de Gram-positivas, enquanto as que adquirem a cor vermelha são chamadas de Gram-negativas. A diferença de coloração é devida às características particulares da parede celular das mesmas (MISBA; ZAIDI; KHAN, 2017). Quatro outros componentes envolvem as bactérias externamente: peptidoglicano, lipoproteínas, membrana externa e lipopolissacarídeos. Nas bactérias Gram-positivas, que possuem uma parede celular de menor complexidade que as bactérias Gram-negativas, a camada de peptidoglicano é responsável por 40 % de toda a massa celular da bactéria, deixando sua parede celular mais espessa e rígida que a outra classe de bactérias (WALKER, 2002), como representado na Figura 6.

**Figura 6** - Representação das membranas de bactérias Gram-positivas e Gram-negativas.



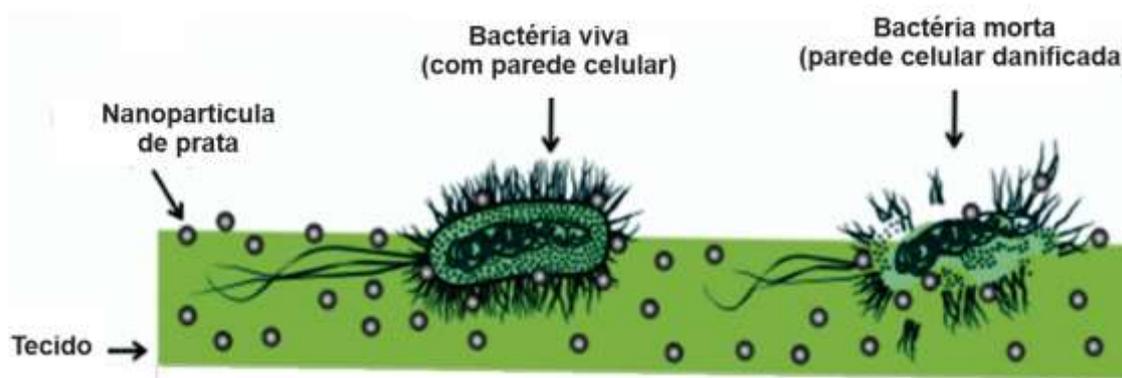
**Fonte:** Adaptado de <https://biomedicinaglorios.wixsite.com/gloriosabiomedicina/single-post/2017/05/22/coloração-de-gram>. Acessado em 07/04/2021.

Os dois grupos de bactérias podem causar diferentes tipos de infecção e diferentes antibióticos são eficazes contra elas. As bactérias Gram-positivas estão envolvidas por uma por uma cápsula protetora, sendo que essa cobertura inibe a atuação dos glóbulos brancos do sangue (responsáveis pela defesa do organismo) (SILVA *et al.*, 2017). Sobre a cápsula, as bactérias Gram-positivas possuem uma membrana externa que as protege contra certos antibióticos. Já as bactérias Gram-negativas, quando perturbadas, suas membranas podem liberar substâncias tóxicas chamadas de endotoxinas, que podem contribuir para o agravamento dos sintomas durante infecções (TAFUR; TORRES; VILLEGAS, 2011).

No cenário atual há um grande esforço de pesquisadores à procura de agentes antibacterianos para o tratamento de uma variedade de doenças infecciosas causadas por bactérias patogênicas. O uso descontrolado de antibióticos resultou no aumento da resistência microbiana a medicamentos (também conhecidos como superbactérias), acarretando em uma diminuição significativa da eficácia do tratamento com antibióticos tradicionais (SINGH *et al.*, 2020). Com isso, há uma demanda crescente na busca de novos antibióticos que possam atuar contra esses patógenos resistentes às drogas atuais. Nesse contexto, a prata tem se destacado em várias pesquisas na literatura, uma vez que possui uma extraordinária eficácia contra vários microrganismos (NAM *et al.*, 2016; SINGH *et al.*, 2020; WEI *et al.*, 2015). Suas propriedades microbianas e alta estabilidade

térmica oferecem várias opções de aplicações. Dentre essas, há um uso em cosméticos para a fabricação de cremes de pele e tecidos com propriedades bactericidas, como exemplificado na Figura 7.

**Figura 7** - Representação esquemática de um tecido contendo nanopartícula de prata e sua atuação contra bactérias.



**Fonte:** Adaptado de GOMES; COSTA; MOHALLEM, 2016.

Diversos fatores influenciam a ação antimicrobiana das AgNPs, como por exemplo, tamanho, forma, cristalinidade, química de superfície e agentes protetores. Fatores ambientais também influenciam, tais como pH, força iônica e a presença de ligantes, cátions divalentes e macromoléculas (NAM *et al.*, 2016; WEI *et al.*, 2015). Alguns estudos mostram que há diversos mecanismos com os quais as AgNPs são capazes de inibir o crescimento bacteriano. Segundo esses trabalhos há quatro possíveis mecanismos de ação: (1) interação com a membrana da célula do microrganismo, (2) formação de íons  $\text{Ag}^+$ , (3) interação das AgNPs com biomoléculas que contêm enxofre ou fósforo, tais como proteínas e DNA e (4) formação de buracos (*pits*) na membrana celular. Outros estudos sugerem outros mecanismos, como por exemplo, a geração de espécies reativas de oxigênio (ROS) e danificação da membrana celular ocasionada pelos íons  $\text{Ag}^+$  liberados pelas AgNPs (KALWAR; SHAN, 2018; KODURU *et al.*, 2018).

As interações eletrostáticas entre as cargas negativas da superfície bacteriana e os cátions prata carregados positivamente parecem ser fundamentais para a atividade antimicrobiana das AgNPs. Acredita-se que a interação da prata com macromoléculas, tais como enzimas, faz com que o DNA perca sua capacidade de replicação (KODURU *et al.*, 2018). Resultados também mostraram que os íons  $\text{Ag}^+$  se ligam a grupos de proteínas funcionais, principalmente as que apresentam o grupo tiol (-SH), resultando na desnaturação e inativação das mesmas. Estudos relatam maiores efeitos bactericidas sobre

bactérias Gram-negativas do que sobre bactérias Gram-positivas em razão da diferença estrutural da parede celular dessas bactérias (KALWAR; SHAN, 2018; KODURU *et al.*, 2018).

A morfologia da célula desempenha um papel fundamental no efeito das nanopartículas em seu sistema. Para as bactérias Gram-negativas, que possuem uma fina membrana celular de peptidoglicano, a ruptura de sua membrana pelo contato com as AgNPs é facilitada. Por outro lado, as Gram-positivas possuem a parede celular mais espessa, que consiste em várias camadas de peptidoglicano, sendo que essa espessa camada fornece melhor integridade da membrana celular e dificulta a ruptura celular. Sendo assim, o efeito primário das AgNPs em bactérias Gram-negativas é através da ruptura da parede celular da bactéria, enquanto nas Gram-positivas o efeito é bacteriostático e está associado a ao impedimento do crescimento celular da bactéria e perturbação de outras rotas metabólicas (LÓPEZ-ESPARZA *et al.*, 2016; PRASAD *et al.*, 2017).

### **2.3.2 Fungos e Leveduras**

Assim como as bactérias, os fungos estão presentes em todos os ambientes na natureza e estima-se que existam aproximadamente 1,5 milhões de espécies distintas (NENOFF *et al.*, 2014). A micologia, ramo da ciência que se dedicada ao estudo desses microrganismos, desdobrou-se em múltiplas especialidades com reflexo em vários ramos de conhecimento e aplicações, desenvolvendo bens e serviços como produtos químicos e farmacêuticos, comestíveis, laticínios, bebidas alcoólicas de todos os tipos e da área biomédica (MADIGAN; MARTINKO; PARKER, 2016; TORTORA; FUNKE; CASE, 2016).

Os fungos são organismos eucarióticos (possuem membrana nuclear individualizada) e heterotróficos (seres que não são capazes de produzir seu próprio alimento), obtendo sua alimentação a partir de matéria orgânica inanimada ou nutrindo-se como parasita de hospedeiros vivos (NENOFF *et al.*, 2014). Atualmente os fungos constituem o reino Fungi, sendo este reino dividido em 4 filos (*Chytridiomycota*, *Zygomycota*, *Basidiomycota* e *Ascomycota*) (TORTORA; FUNKE; CASE, 2016). Estes microrganismos influenciam a vida do homem participando de processos desejáveis ou prejudiciais. De modo geral, os fungos incluem os bolores (ou mofos) e as leveduras. Os bolores são filamentosos e pluricelulares e as leveduras se apresentam sob a forma unicelular (MADIGAN; MARTINKO; PARKER, 2016).

Os fungos apresentam na constituição de sua membrana celular o esterol, equivalente ao colesterol encontrado na membrana celular de animais. Nos fungos, esta classe esterol se apresenta na forma da molécula ergosterol, encontrado exclusivamente nesses microrganismos (TORTORA; FUNKE; CASE 2016). Isto tem implicações práticas importantes para a saúde humana, pois permitiu que fossem desenvolvidas drogas que atuam exclusivamente sobre o ergosterol para combater fungos em animais, sem que haja nenhum efeito sobre a membrana animal. Logo, a ação de drogas específicas para leveduras se situa na desintegração do ergosterol, rompendo a membrana plasmática do fungo, sem causar efeitos colaterais graves ao hospedeiro (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2012; TORTORA; FUNKE; CASE, 2016). A resistência a alguns fungicidas do grupo dos inibidores de biossíntese do ergosterol se tornou um obstáculo no tratamento de pacientes com AIDS que apresentam infecção fúngica (MOREIRA *et al.*, 2017).

Os mecanismos de ação das nanopartículas de prata nos fungos foram pouco elucidados pelo fato da maioria das pesquisas disponíveis trabalharem preferencialmente com bactérias. O principal mecanismo de ação das AgNPs encontrado é devido a sua interação com a membrana celular e posterior penetração das mesmas no interior celular. Em seguida, as nanopartículas dificultam o processo de respiração celular, impedindo a divisão da célula e levando a sua morte (BOCATE *et al.*, 2019). Também devido ao pequeno tamanho das nanoestruturas, essas podem se ligar à superfície da célula sem danificar a parede celular, impedindo-a de continuar com seus processos metabólicos, causando em seguida a morte celular (SALAS-OROZCO *et al.*, 2019).

Outros estudos relatam que as nanopartículas de prata inibem o crescimento dos fungos da mesma forma que nas bactérias, inibindo o crescimento através da deterioração da parede celular e penetração no interior da célula, prejudicando o funcionamento normal das organelas incluindo as mitocôndrias e ribossomos (BOCATE *et al.*, 2019). Em um estudo com o fungo *Candida albicans* foi demonstrado a ruptura de sua membrana pelas AgNPs, causando um aumento da permeabilidade celular, levando ao transporte anormal através da membrana plasmática e conseqüentemente, à morte celular (ROBLES-MARTÍNEZ *et al.*, 2020).

Alguns fungos podem causar grande prejuízo ambiental, prejudicando florestas e paisagens. Na Coreia, uma espécie de fungo do gênero *Raffaelea sp.* tornou-se um grande problema ambiental para os carvalhos (NGUYEN *et al.*, 2020). O fungo é capaz de invadir o tecido condutor em diversas espécies de árvores, provocando a cavitação, descoloração, dessecação e disfunção dos vasos do xilema, bloqueando assim o fluxo de

água. Após esse fungo se estabelecer nos vasos condutores das plantas, sua erradicação possui baixa probabilidade de sucesso. Poucos fungicidas têm sido eficazes na cura dessas doenças e as poucas opções possuem uso limitado devido ao alto custo (KAMATA *et al.*, 2002; MAYFIELD *et al.*, 2008).

Nesse cenário, Akther e Hemalatha (2019), avaliaram o efeito biocida das nanopartículas de prata no controle *in vitro* contra a espécie *Raffaelea sp.*, onde foi observado que o crescimento do fungo foi significativamente inibido em função da aplicação das nanoestruturas de prata. Além da inibição, observou-se também efeitos prejudiciais com a germinação dos conídios. O estudo também mostrou o efeito das AgNPs contra outro fungo, a *Candida spp.*, obtendo resultados comparáveis ou até melhor que muitos fungicidas tradicionais, como a tericina B (concentração fungicida mínima (MFC) em torno de 1 mg L<sup>-1</sup>) itraconazol e voriconazol (MFC em torno de 8 mg L<sup>-1</sup>) ou caspofungina (MFC em torno de 1 mg L<sup>-1</sup>).

### **3 OBJETIVOS**

O objetivo geral do presente trabalho é obter nanopartículas de prata a partir da síntese mediada por extratos aquosos da polpa de tucumã (*Astrocaryum aculeatum*) em diferentes condições de síntese e verificar a atividade microbicida dos coloides metálicos produzidos.

#### **3.1 Objetivos específicos**

- Obter os extratos aquosos da polpa de tucumã em diferentes condições de concentração;
- Caracterizar os extratos vegetais através da espectroscopia eletrônica UV-Vis;
- Sintetizar AgNPs utilizando extratos aquoso da polpa do tucumã (*Astrocaryum aculeatum*) como agentes redutores e estabilizantes;
- Verificar a influência de parâmetros de reação, como concentração do extrato vegetal, temperatura e pH do meio de reação na estabilidade dos coloides produzidos através da espectroscopia eletrônica no UV-Vis;
- Investigar o tamanho e estabilidade das AgNPs através da técnica de espalhamento de luz dinâmico (DLS) e potencial Zeta;
- Avaliar a atividade *in vitro* das AgNPs nos seguintes sistemas biológicos: bactérias (Gram-positivas e Gram-negativas) e fungos.

## 4 MATERIAIS E MÉTODOS

### 4.1 Equipamentos e materiais de laboratório

**Tabela 1** - Equipamentos e materiais utilizados nos ensaios de produção e caracterização das AgNPs.

Equipamentos	Materiais de laboratório
Espectrofotômetro Visível Quimis 798DRM	Balão volumétrico de 100 mL
Espectrofotômetro UV-Vis Bel UV-M51	Béqueres de 30, 50 e 100 mL
Balança Analítica Shimadzu AUY220	Placas de Petri estéreis de poliestireno
Centrifuga 80-2B Centribio	Pipeta volumétrica de 25 mL
Liquidificador Black&Decker LE45OFBR	Pipeta graduada de 2 e 5 mL
Autoclave	Tubos de ensaio
Freezer Flex Brastemp BVR28MB	Microrganismos: <i>Escherichia coli</i> ;
pHmetro Hanna HI8424	<i>Staphylococcus aureus</i> e <i>Candida spp.</i>
Estufa SPLabor 400/4	
Agitador magnético Cienlab CE-1540/A;	

### 4.2 Reagentes

**Tabela 2** - Reagentes utilizados nos ensaios de produção e caracterização das AgNPs.

REAGENTE	FORMULA QUÍMICA	PROCEDÊNCIA
Ácido nítrico P.A.	HNO <sub>3</sub>	Vetec
Hidróxido de Sódio P.A.	NaOH	Synth
Nitrato de Prata P.A.	AgNO <sub>3</sub>	Laderquímica
Ágar Mueller-Hinton	-	Kasvi

### 4.3 Métodos

#### 4.3.1 Obtenção do extrato aquoso da polpa de tucumã

O fruto foi adquirido *in natura* no mercado municipal Gesta Filho (-3°08'47.4"S 58°26'57.0"W) na cidade de Itacoatiara-AM. O tucumã, após ser descascado manualmente com auxílio de uma faca, teve o seu mesocarpo separado da semente. Posteriormente, em almofarizes distintos, 2,00, 3,00 e 4,00 g do mesocarpo foram macerados com uma pequena quantidade de água destilada por 5 minutos. Em seguida, ocorreu a transferência para dois recipientes distintos e deixados em contato com um

volume total de 200 mL de água destilada por 24 horas na geladeira. Posteriormente, a mistura foi centrifugada a 4.000 RPM por 10 minutos e a fração líquida foi coletada, ficando armazenada por até 7 dias sob refrigeração ou até 1 mês congelada até ser utilizada. Os extratos aquosos de tucumã foram denominados de **condição 1** (1,00 g de polpa em 100 mL de água), **condição 2** (1,50 g de polpa em 100 mL de água) e **condição 3** (2,00 g de polpa em 100 mL de água).

#### **4.3.2 Obtenção das nanopartículas de prata**

Após a preparação do extrato de tucumã, 5 mL de alíquotas desses extratos nas condições 1-3 foram combinadas com 50 mL de solução de 0,1 mmol L<sup>-1</sup> de nitrato de prata, de forma a totalizar em cada recipiente de reação 55 mL de volume de mistura. Logo após a mistura, o pH da solução de reação teve ajuste para os valores de 5, 7 e 9 com auxílio de soluções 0,05 mol L<sup>-1</sup> de HNO<sub>3</sub> ou NaOH. Cada mistura foi inicialmente mantida a temperatura ambiente em um béquer revestido com papel alumínio e sob agitação constante, com o agitador magnético durante as primeiras 24 horas de reação, sendo posteriormente deixadas na bancada em repouso em temperatura ambiente (30 °C).

#### **4.3.3 Caracterização das nanopartículas produzidas**

A formação das partículas foi investigada a partir da espectroscopia eletrônica UV-Vis. Entre intervalos de tempo regulares, alíquotas da mistura entre AgNO<sub>3</sub> e solução de extrato vegetal foram retiradas para a leitura no espectrofotômetro UV-Vis. Os tempos inicialmente estipulados para a coleta das alíquotas foram de 30 em 30 minutos para as primeiras 4 horas e depois em 8 e 24 horas. Posteriormente, as medições foram feitas a cada 24 horas para determinação de sua estabilidade até o período de 21 dias. Em ensaios subsequentes, empregou-se variações nos valores de temperatura (30, 40 e 50 °C) das misturas reacionais após a otimização dos parâmetros de pH e concentração dos reagentes previamente investigados.

#### **4.3.4 Espalhamento de luz dinâmico**

As amostras contendo AgNPs foram diluídas em água ultrapura, separadamente. Em seguida utilizou-se o equipamento Zetasizer NanoZS - Malvern Instruments para a determinação do diâmetro hidrodinâmico e o índice de polidispersividade (PDI).

Para análise de DLS o ângulo aplicado foi de 173° utilizando um laser de hélio-neônio (4 mW) operando em 633 nm de comprimento de onda. Foram feitas três réplicas de cada amostra em modo automático a 25°C. Já para o potencial Zeta foram feitas três aquisições em modo manual utilizando uma célula de eletroforese capilar apropriada em cada réplica.

#### **4.3.5 Ensaios microbiológicos**

Os ensaios microbiológicos foram realizados empregando três microrganismos distintos, sendo estes *E. coli*, *S. aureus* e *Candida spp.*. Na primeira etapa, as placas de Petri ficaram autoclavadas durante 20 minutos a 121 °C. O meio de cultura foi preparado empregando 36 g de ágar para 1 L de água destilada, com posterior transferência dessa mistura para placas estéreis e acondicionadas na estufa a 37 °C. Na sequência ocorreu o cultivo das respectivas bactérias, na qual foi realizada a sua inoculação por 24 horas na estufa a 37 °C. Logo em seguida, na terceira etapa foram vertidas as bactérias no meio de cultura, tendo sido realizada a diluição da solução inicial contendo as bactérias até o valor de 0,03 de absorbância. Na etapa final introduziu-se de forma organizada alíquotas das nanopartículas obtidas por diferentes condições experimentais, extratos da polpa, solução de nitrato de prata (controle negativo) e antibiótico de referência (controle positivo) nas devidas placas de Petri, que foram incubadas por 24 horas a 37 °C. Todos os experimentos tiveram realizações em triplicata.

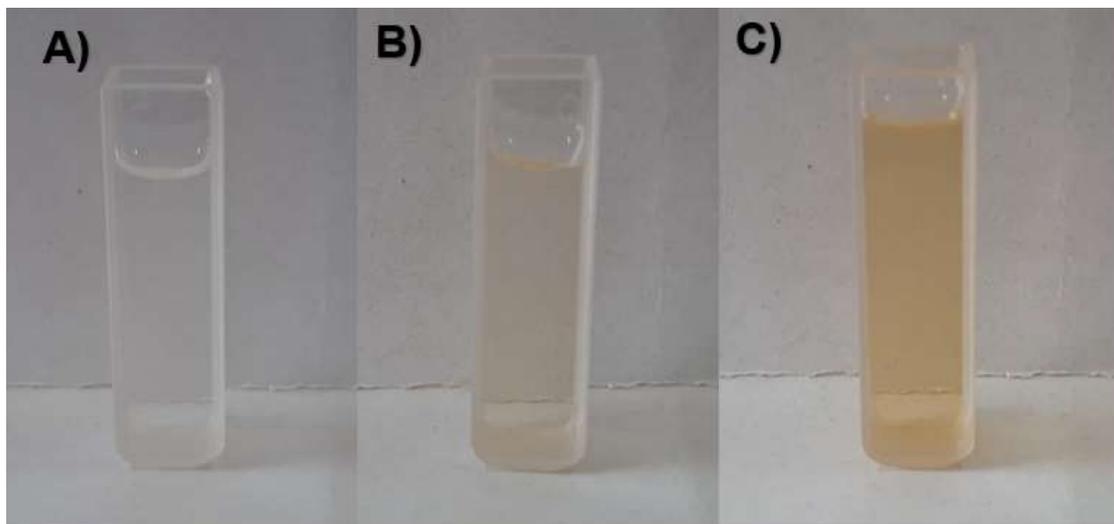
## **5 RESULTADOS E DISCUSSÃO**

### **5.1 Produção de AgNPs**

Após a mistura da solução contendo o AgNO<sub>3</sub> e o extrato aquoso da polpa do tucumã em diferentes condições de concentração foi observado uma mudança de cor no meio reacional, passando de incolor para o castanho claro e progressivamente, o meio reacional adquiriu coloração mais intensa com o aumento do tempo de reação, conforme ilustrado na Figura 8. Essa mudança progressiva da coloração é oriunda do processo de interação da luz com o sistema nanoparticulado de prata que resulta na oscilação coletiva dos elétrons da banda de condução desses átomos metálicos, sendo tal fenômeno conhecido como ressonância de *plasmon* de superfície (RPS) (WANG *et al.*, 2018). A coloração castanha é tipicamente encontrada em dispersões de nanopartículas de prata (CARSON *et al.*, 2020; JAIN; MEHATA, 2017) e um aumento na intensidade da

coloração na mistura está relacionada com um aumento na concentração de nanopartículas dispersas no meio reacional, de acordo com a Lei de Beer-Lambert (JAIN; MEHATA, 2017; PASTORIZA-SANTOS; LIZ-MARZÁN 1999).

**Figura 8** - Imagens dos meios reacionais para a condição 1 de extrato de tucumã, em pH 7, temperatura ambiente e em diferentes períodos de tempo de reação: (A) 5 minutos, (B) 3 horas e (C) 3 dias.

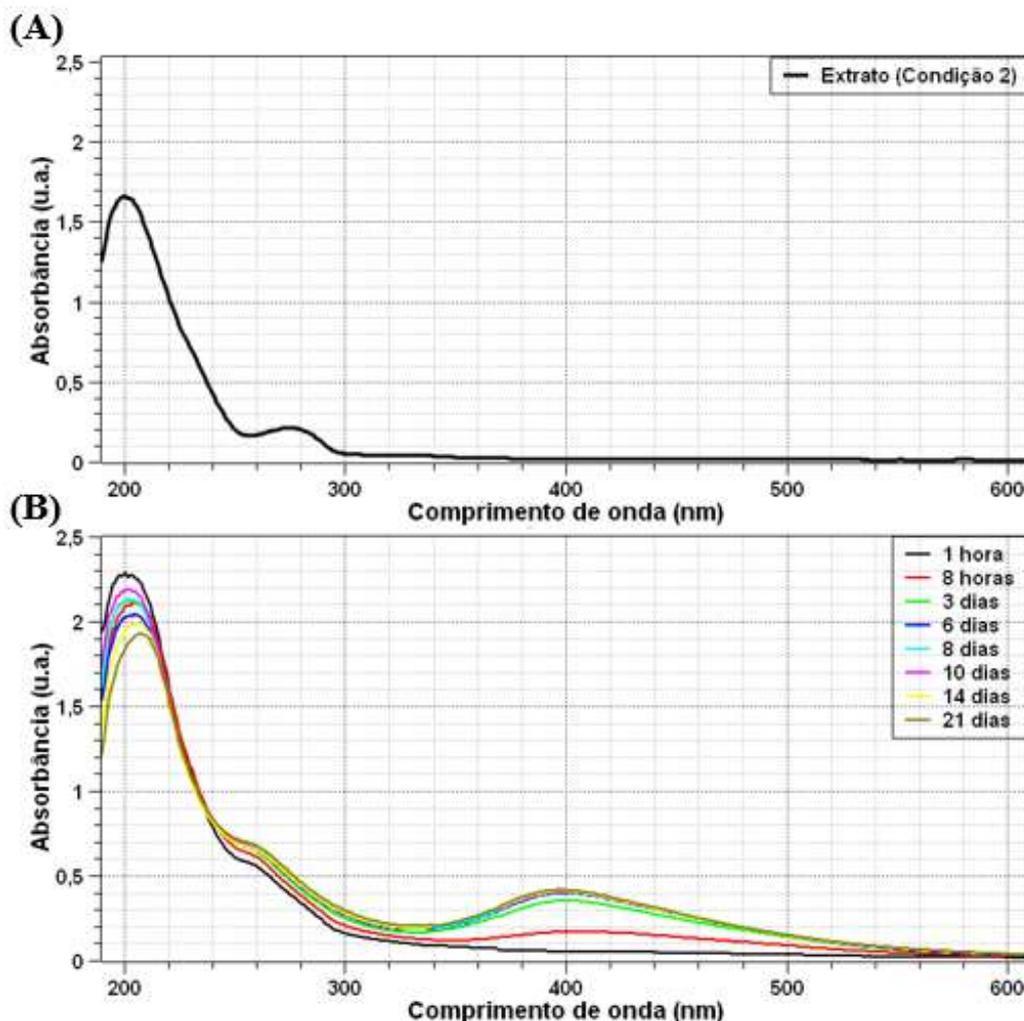


**Fonte:** o autor.

Na Figura 9A observa-se o espectro eletrônico UV-Vis do extrato aquoso do tucumã na condição 2 de diluição. Nele é possível identificar a presença de duas bandas, sendo a primeira situada próximo a 280 nm, relacionada a transição eletrônica  $n \rightarrow \pi^*$  e a segunda na região próximo a 200 nm, que está relacionada a transição eletrônica  $\pi \rightarrow \pi^*$  (PAVIA *et al.*, 2010). A Figura 9B apresenta os espectros eletrônicos UV-Vis da mistura entre o extrato de tucumã e a solução de  $\text{AgNO}_3$  em função do tempo de reação, especificamente para a condição 2 do extrato vegetal e utilizando meio reacional ajustado para o pH 7.

Esses gráficos exibem as principais bandas observadas no intervalo de comprimento de onda analisado para todas as outras condições de diluição de extrato e de pH empregados em temperatura ambiente. Nesses espectros são observados a presença de duas bandas que aumentam as suas intensidades com o progresso da reação, sendo a primeira situada na região entre 250 e 300 nm e a segunda entre 320 a 550 nm.

**Figura 9** - Espectros eletrônicos UV-Vis do meio reacional para a condição 2 para o extrato de tucumã (A) e extrato mais a solução de nitrato de prata em diferentes períodos de tempo (B).



**Fonte:** o autor.

A primeira banda encontrada apresenta o máximo de absorvância situado próximo a 250 nm e está relacionada com a transição eletrônica do tipo  $n \rightarrow \pi^*$  (PAVIA *et al.*, 2010), especialmente envolvendo os átomos de carbono e oxigênio em carbonilas ( $-C=O$ ). Conforme reportado por Santos *et al.* (2018), a polpa de tucumã apresenta elevadas concentrações de compostos fenólicos e flavonoides, que possuem certa quantidade de grupos carbonilas em suas estruturas. Com o progresso das reações para formação das AgNPs envolvendo tais biomoléculas ocorre a transformação de suas funções inicialmente da forma de álcoois para cetonas (carbonilas) nesses fitoquímicos (MITTAL *et al.*, 2014; RAO; PARIÁ, 2013). Logo, a quantidade de transições  $n \rightarrow \pi^*$  aumenta significativamente com o progresso da reação, sendo que os prováveis

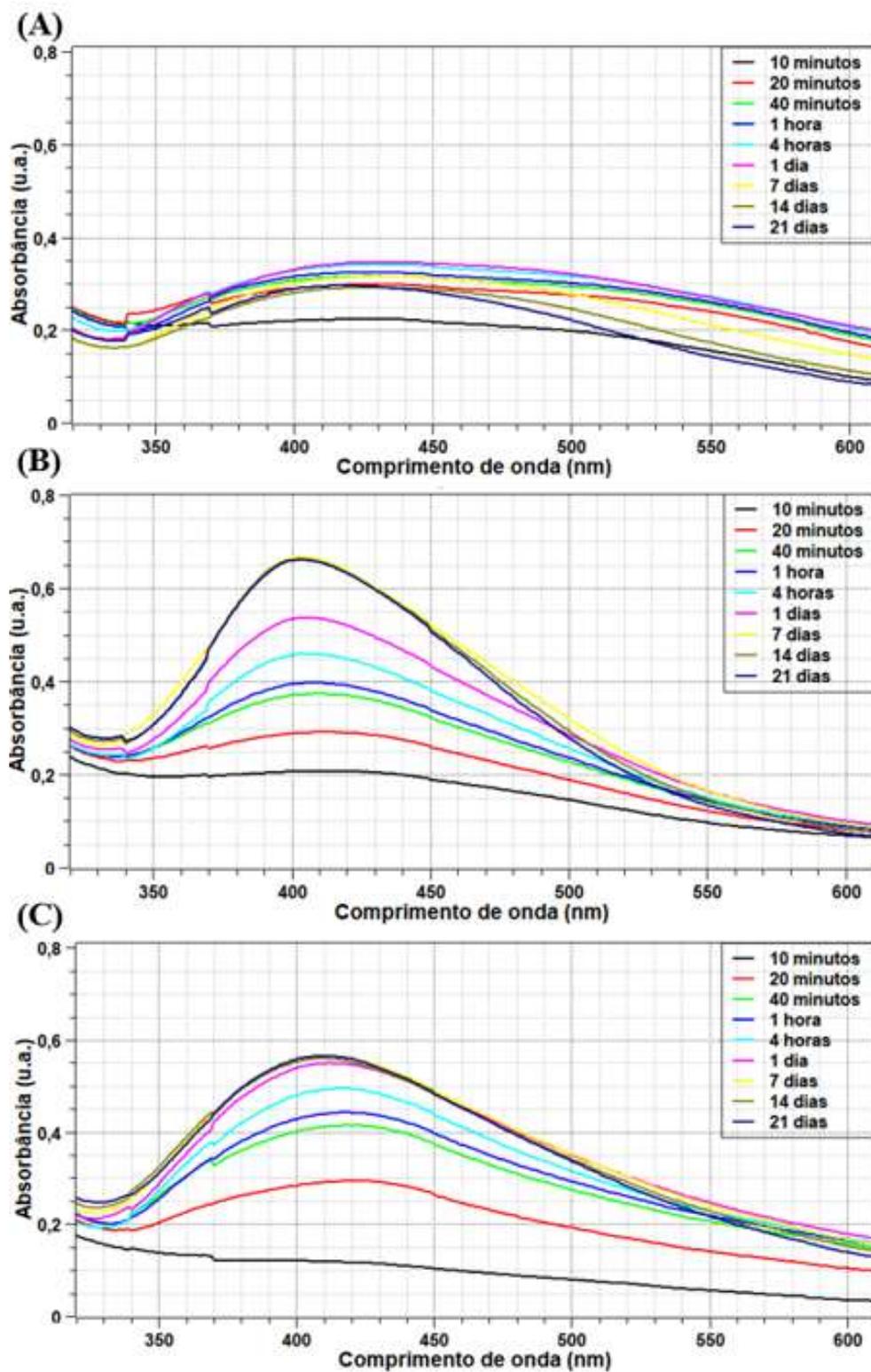
mecanismos que envolvem essas biomoléculas no processo de redução da prata catiônica serão discutidos subsequentemente. A segunda banda encontrada apresenta o máximo de absorvância próximo a 400 nm e está relacionada à banda RPS das AgNPs formadas (JAIN; MEHATA, 2017; MAGHSOODLOO *et al.*, 2020). Também pode-se observar o aumento progressivo no valor de absorvância dessa banda durante 21 dias de acompanhamento do progresso da reação, indicando que nessa condição, a reação para a formação das AgNPs não é instantânea.

## **5.2 Efeito da concentração de extrato vegetal**

A Figura 10 exibe os espectros eletrônicos UV-Vis dos meios de reação contendo quantidades de extrato vegetal nas condições 1 (A), 2 (B) e 3 (C), com pH 9 no meio reacional e em temperatura ambiente (30 °C) na região de comprimento de onda que contém a banda RPS das AgNPs (350 – 550 nm). Nos espectros da condição 1, observa-se a presença de um sinal largo associado à banda RPS e que com o progresso da reação se torna ainda mais largo. Para os períodos de tempo mais longos, esse sinal alargado é aparentemente constituído pela sobreposição de duas bandas largas, uma centrada em 425 nm e outra em 500 nm.

Esse resultado indica que as nanopartículas formadas nestas condições apresentam elevado fator de polidispersividade e/ou não possuem uniformidade quanto à sua forma (JAIN; MEHATA, 2017). Ainda foi verificado que o máximo de absorvância registrado para a condição 1 ocorreu após 1 dia de início da reação e que nos períodos subsequentes foi observado uma leve redução nesse parâmetro, indicando possível instabilidade das AgNPs formadas nessas condições em períodos de tempo mais longos. Tal fato pode estar relacionado com a menor concentração de fitoquímicos no meio reacional, o que pode ter prejudicado o processo de estabilização das nanoestruturas formadas (HEKMATI *et al.*, 2020; JAIN; MEHATA, 2017). Adicionalmente, deve-se considerar que essa diminuição na absorvância em tempos de reação mais longos pode estar relacionada com a existência de efeitos adsorptivos do recipiente de reação (parede de vidro) com as AgNPs formadas (DA COSTA *et al.*, 2011).

**Figura 10** - Espectros eletrônicos UV-Vis referente a mistura do sal de prata e o extrato vegetal para os meios reacionais contendo quantidades de extrato de tucumã nas condições 1 (A), 2 (B) e 3 (C), pH 9 do meio reacional e em temperatura ambiente.



Fonte: o autor.

Nas condições 2 e 3, onde a concentração do extrato de tucumã é maior do que na condição 1, as bandas RPS das AgNPs apresentam maiores valores de absorvância (efeito hiperacrômico) após 40 minutos de reação, indicando que a concentração de fitoquímicos na condição 1 não foi suficiente para reduzir todos os cátions prata presentes no meio reacional. Adicionalmente, de acordo com a lei de Beer-Lambert (PAVIA *et al.*, 2010), maiores concentrações de AgNPs no meio reacional foram encontradas nas condições 2 e 3 em relação à condição 1.

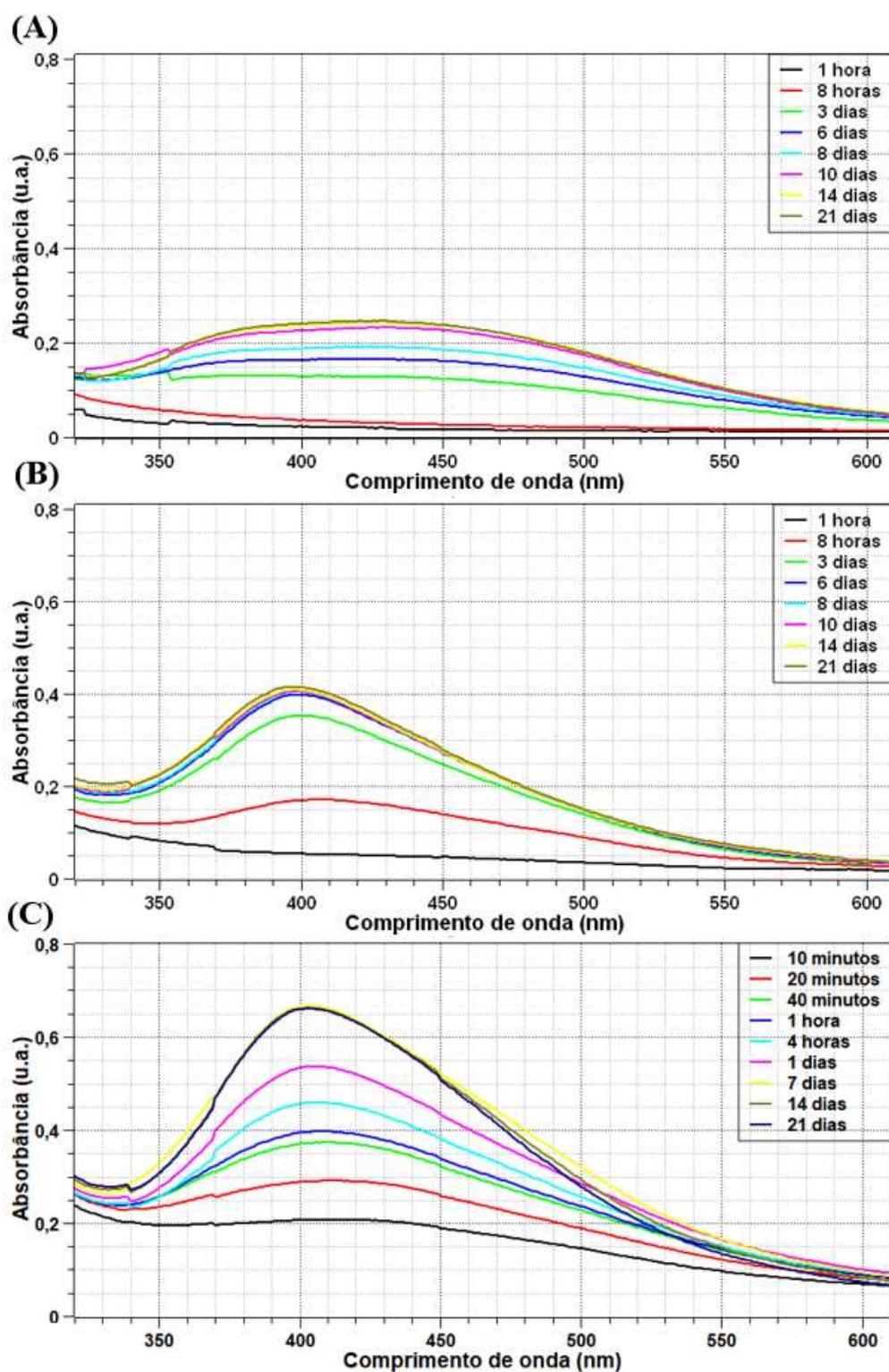
Ao aumentar a concentração do extrato em meio reacional houve um aumento na intensidade da banda, indicando a formação de uma maior quantidade de AgNPs. Entretanto, observa-se que o valor de absorvância máximo encontrado para a condição 2 (0,63 u.a.) é superior à encontrada na condição 3 (0,58 u.a.). Tal fato sugere que possa haver, em certa extensão, uma competição entre a redução dos íons metálicos e sua complexação como reportado para flavonoides quando a concentração de fitoquímicos é aumentada em meios aquosos contendo íons metálicos (SOUZA; GIOVANI, 2004).

Outra diferença observada com o aumento da concentração no extrato vegetal é a redução na definição da banda RPS das AgNPs e o deslocamento batocrômico (*red shift*) de sua posição de máximo após 7 dias de 400 nm (condição 2) para 410 nm (condição 3), indicando a formação de estruturas maiores e mais polidispersas com a variação desse parâmetro. Isso sugere que possivelmente após esse período as AgNPs têm uma menor estabilidade, o que pode contribuir para a posterior agregação dessas nanoestruturas (JAIN; MEHATA, 2017).

### **5.3 Efeito do pH**

A influência do pH na produção das AgNPs também foi investigada pela espectroscopia UV-Vis através do acompanhamento da banda RPS das AgNPs, como mostra a Figura 11 (A-C). Para a condição 2 de extrato vegetal, em meio reacional com pH 5 (A), observou-se o com maior nitidez a banda RPS localizada entre 320 a 550 nm após três dias de reação, em pH 7 (B) após 8 horas e em pH 9 (C) após 20 minutos de reação. O valor de absorvância máxima encontrado para o pH 5 foi de 0,27 u.a. enquanto que para pH 7 foi de 0,42 u.a. e em pH 9, 0,67 u.a..

**Figura 11** - Espectros eletrônicos UV-Vis para os meios reacionais nos valores de pH 5 (A), 7 (B) e 9 (C) empregando a condição 2 de extrato de tucumã e em temperatura ambiente.



Fonte: o autor.

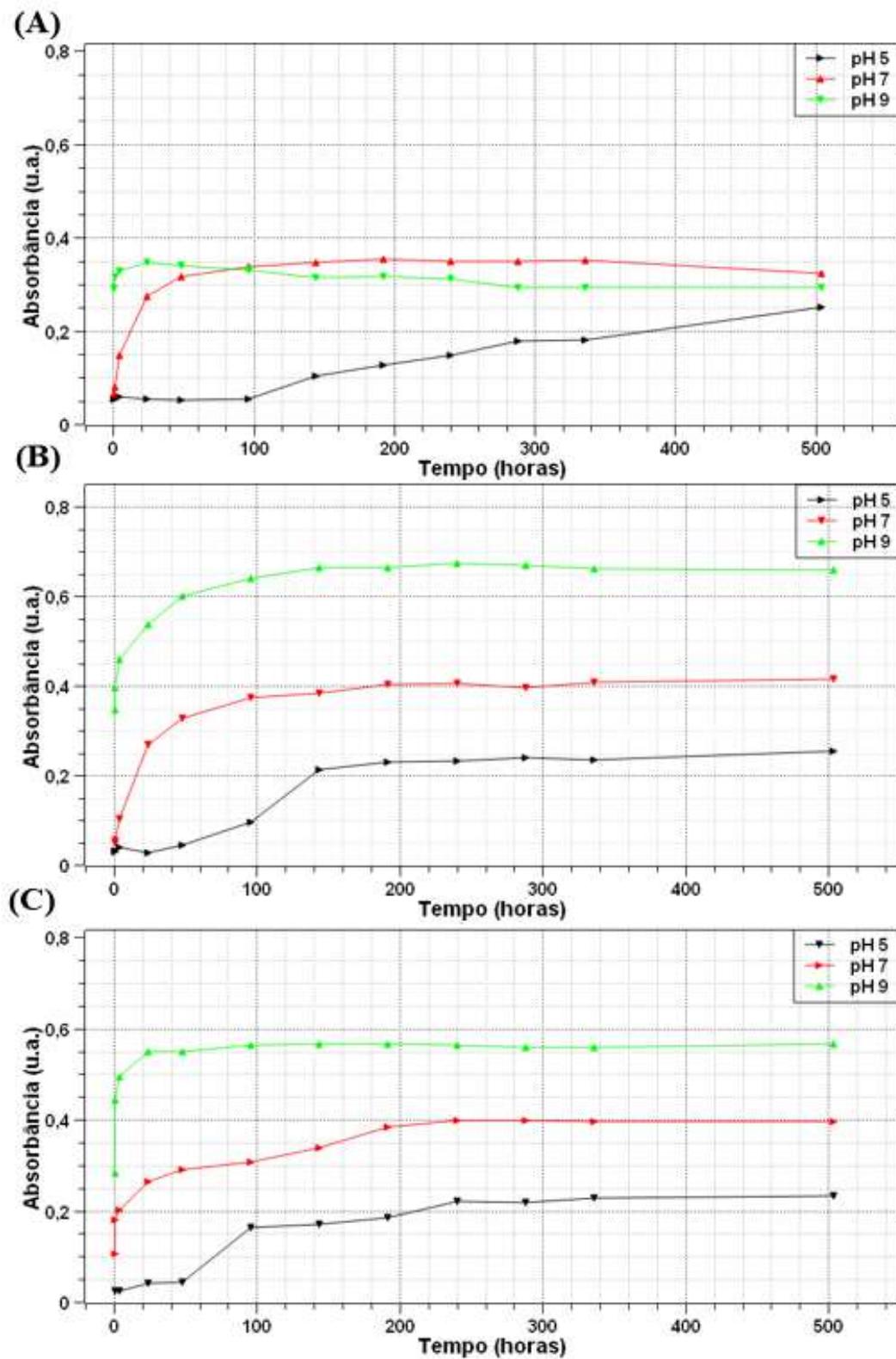
Os resultados obtidos mostraram que o aumento do pH resultou no estreitamento gradual da banda *plasmon* das AgNPs e o aumento de sua intensidade. Tais resultados também foram observados previamente por outros autores em estudos com outros extratos vegetais, demonstrando que o pH tem uma grande influência na forma e velocidade de aumento desse sinal (DADA *et al.*, 2019; JAIN; MEHATA, 2017).

Em meio ácido, alguns trabalhos mostram que a reação favorece a agregação das NPs, resultando em partículas maiores, o que justifica o alargamento da curva (DADA *et al.*, 2019; MANOSALVA *et al.*, 2019). Já em meio alcalino, a reação tende a favorecer a nucleação, gerando AgNPs de menor diâmetro e mais uniformes, o que resulta no estreitamento da banda RPS observada em pH 9 em comparação com a observada em pH 7. Logo, o aumento da intensidade da banda RPS ocasionado pela alteração do pH do meio reacional indica a maior capacidade de redução e estabilização das AgNPs formadas pela intermediação dos fitoquímicos contidos no extrato da polpa do tucumã. Isso sugere que uma grande quantidade de átomos de prata foi reduzida rapidamente em meio reacional de pH 9, originando nanoestruturas de tamanhos menores (SINGH *et al.*, 2020; MOSAVINIYA *et al.*, 2019) e com isso, causando as mudanças observadas nos espectros eletrônicos da Figura 11.

#### **5.4 Efeito da concentração de extrato vegetal e pH**

A Figura 12 (A-C) mostra a evolução do valor máximo de absorbância referente à banda RPS para os meios de reação contendo diferentes concentrações de extrato vegetal e valores de pH em temperatura ambiente. Observou-se que todas as condições de extrato vegetal com o meio alcalino houve a formação de uma maior quantidade de AgNPs em um menor período de tempo em relação as amostras com o meio reacional de pH 5 e 7, conforme explicado previamente. Para as três condições de concentração de extrato vegetal em pH 5, os resultados obtidos de máxima absorbância foram similares (aproximadamente 0,25 u.a), além de apresentarem uma evolução da banda mais lenta quando comparada aos demais valores de pH. Tais resultados sugerem que a presença de uma menor quantidade de átomos de prata reduzidos inicialmente (gêrmens para crescimento das AgNPs, também denominado como etapa de nucleação) favorece o crescimento das estruturas formadas, tornando-as maiores e mais polidispersas entre si (DADA *et al.*, 2019; MOSAVINIYA *et al* 2019).

**Figura 12** - Evolução do valor máximo de absorvância referente à banda RPS para os meios de reação da condição 1 (pHs 5, 7 e 9) (A), condição 2 (pH 5, 7 e 9) (B) e condição 3 (pH 5, 7 e 9) (C) em temperatura ambiente.



Fonte: o autor.

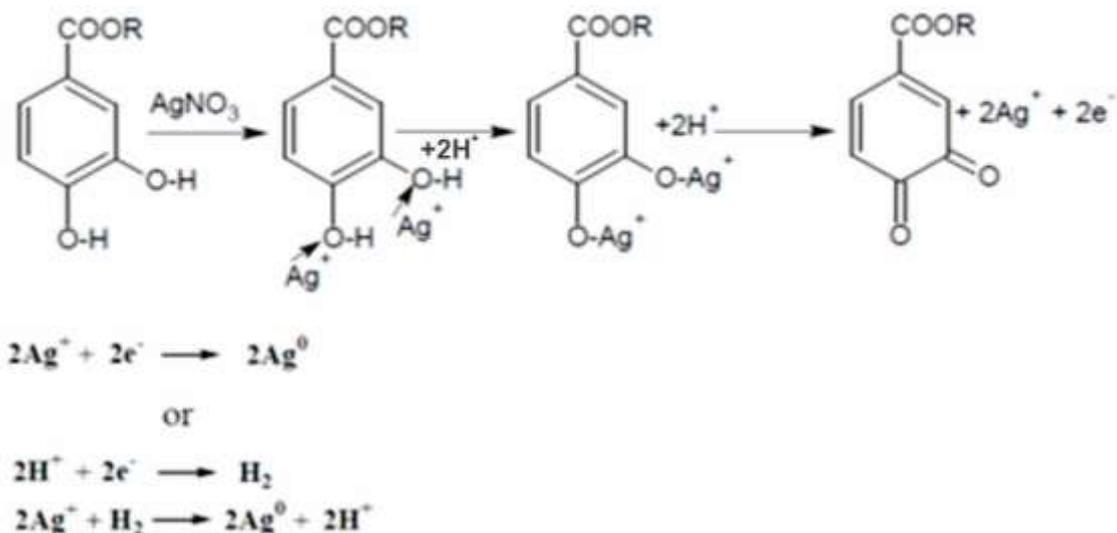
Observa-se ainda que a concentração do extrato vegetal influencia na quantidade e taxa de formação das AgNPs formadas, isto é, concentrações mais altas de tucumã no meio reacional (condição 2 e 3 - Figuras 12B e 12C) produziram sinais associados à banda RPS com maior intensidade e em menor intervalo de tempo em comparação condição 1 para os mesmos valores de pH.

Especificamente para a condição 1 (Figura 12A) é possível observar um comportamento decrescente quanto às absorvâncias máximas associadas às bandas RPS das AgNPs em meios reacionais de pH 9 e 7 em comparação ao meio reacional de pH 5. Pelo fato da reação em meio básico gerar uma maior quantidade AgNPs em um curto intervalo de tempo e haver uma menor quantidade de fitoquímicos no meio reacional na condição 1 para se ligarem à superfície das nanopartículas, o sistema coloidal apresenta uma redução na estabilidade e as mesmas se agregam após certo tempo, resultado semelhantes foram encontrados nos trabalhos de Jain e Mehata (2017) empregando concentrações baixas de extrato vegetal da folha de *Ocimum sanctum* (Tulsi). Já a redução de intensidade no máximo de absorvância para tempos de reação mais longos pode estar relacionada também a presença de processos adsorptivos das AgNPs com a parede do meio de reação (DA COSTA *et al.*, 2011).

Trabalhos recentes sugerem alguns mecanismos de reação entre fitoquímicos de extratos vegetais e a prata catiônica para a redução do metal (KHOSHNAMVAND; HUO; LIU, 2019; MEVA *et al.*, 2019). Os principais mecanismos de formação das nanopartículas podem ser resumidos nas etapas de redução dos íons de prata (1), agrupamento/nucleação (2), crescimento das nanopartículas (3) e estabilização da superfície das AgNPs (4) (SILVA, 2014). Alguns autores sugerem que os grupos -OH presentes em compostos fenólicos, como no caso de taninos e flavonoides, podem ser responsáveis pelo início do processo de redução dos íons de prata. Nesta linha de raciocínio, o oxigênio é capaz de inicialmente compartilhar um par de elétrons não-ligantes com os cátions prata, o que permite a sequência de reações que resulta na redução desse íon, como exibido na Figura 13 (ESLAMI *et al.*, 2010; RAO; PARIJA, 2013; UIVAROSI *et al.*, 2019).

Observa-se ainda na Figura 13 que dois grupos hidroxilas associadas ao anel aromático podem participar da reação de redução. Esse é um mecanismo que representa os inúmeros outros que podem acontecer no meio reacional em virtude da grande diversidade de fitoquímicos presentes em extratos vegetais.

**Figura 13** - Proposição de mecanismo de redução da prata catiônica utilizando uma espécie genérica de composto fenólico.



**Fonte:** RAO; PARIA (2013).

Possivelmente ocorre uma transformação dos compostos fenólicos da forma enol (menos estável) para ceto (mais estável) após a interação inicial entre o oxigênio da função enol com o cátion prata. Dessa forma, há uma mudança na configuração molecular do composto fenólico inicial que libera 1 elétron para cada transformação da função álcool (C-OH) em carbonila (C=O). Com isso, o elétron liberado por esse composto é transferido para a prata catiônica através de duas reações possíveis de ocorrerem, que resultam no mesmo produto formado: a prata reduzida.

## 5.5 Efeito da temperatura

A temperatura teve um efeito expressivo no tamanho e no tempo de formação das nanopartículas. Na Figura 14 (A-D) são exibidos os espectros eletrônicos dos meios reacionais com a variação do pH e temperatura, empregando a condição 2 de extrato vegetal. Investigou-se o efeito do pH 7 e 9 nas temperaturas de 40 e 50 °C e como já anteriormente explicado, em pH elevado houve uma maior formação de AgNPs. Complementarmente, a temperatura elevada fez com que o sinal de absorvância se intensificasse ainda mais em relação as amostras de temperatura e pH inferiores.

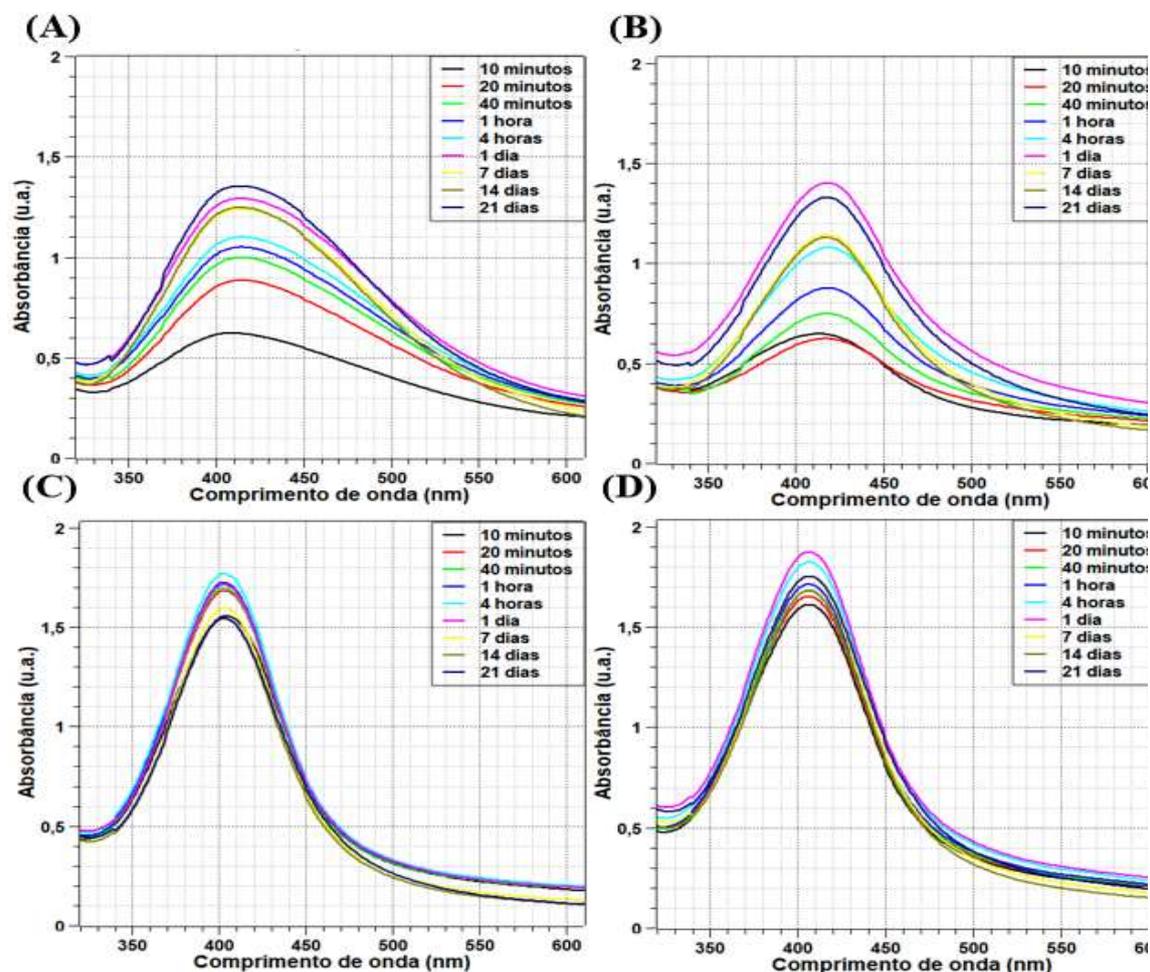
Os espectros (A) e (B) exibem a evolução das AgNPs com o meio de reação em pH 7 nas temperaturas de 40 e 50 °C, cujos valores de absorvância máxima encontrados foram de 1,29 e 1,40 a.u., respectivamente. Nos primeiros minutos de reação é possível

observar a presença de um sinal largo associado à banda RPS, no qual, com o progresso da reação estreita-se e também se intensifica. Os espectros (C) e (D) apontam a evolução das AgNPs em pH 9 no meio reacional e em temperaturas de 40 e 50 °C com valores de absorvância máxima encontrados de 1,77, e 1,87 a.u., respectivamente. É notado uma maior intensidade das bandas em meio alcalino, reforçando os resultados anteriores, ao qual observou-se o efeito do pH no aumento e no estreitamento da banda RPS. O mesmo resultado também foi descrito por outros autores empregando outros extratos vegetais (DADA *et al.*, 2019; MANOSALVA *et al.*, 2019; JAIN; MEHATA, 2017).

Os resultados sugerem que a temperatura tem uma influência direta na reação de formação das AgNPs. Isso supostamente está relacionado com o aumento da velocidade das partículas (átomos ou moléculas) que a mesma concede, ou seja, quanto maior a temperatura, maior será a energia cinética do sistema e conseqüentemente, maior a probabilidade de uma colisão entre as espécies reagentes superar a barreira de potencial e haver a formação de produtos (HAMEDDI *et al.*, 2017; LIU *et al.*, 2020).

As amostras obtiveram os valores de suas absorvâncias máximas após 1 dia de reação, com exceção da condição Figura 14A (pH 7, 40 °C) que apresentou o valor máximo de absorvância após 21 dias de reação, possivelmente associado a menor taxa de formação de AgNPs em meio neutro com relação ao meio alcalino (DADA *et al.*, 2019; JAIN; MEHATA, 2017). Outra discrepância ocorreu com o valor máximo registrado para a banda RPS na condição mostrada na Figura 14C (pH 9, 40 °C) que teve sua máxima em apenas 4 horas de reação. Os resultados sugerem que o aumento da temperatura resultou em uma maior capacidade de redução da prata. Sobre a características morfodimensionais das AgNPs, as condições em pH 7 (A e B) tiveram um deslocamento batocrômico (*red shift*) logo nos primeiros minutos de reação. Porém, entre as amostras produzidas em meio alcalino (C e D) não é possível observar nenhum deslocamento em função da temperatura, sugerindo uma maior uniformidade quanto ao tamanho e/ou forma dessas AgNPs formadas em pH 9 e em diferentes temperaturas (MOSAVINIYA *et al.*, 2019; SINGH *et al.*, 2020).

**Figura 14** - Espectros eletrônicos UV-Vis para os meios reacionais nos valores de: pH 7, 40 °C (A); pH 7, 50 °C (B); pH 9, 40 °C (C); pH 9, 50 °C (D) empregando a condição 2 de extrato de tucumã.

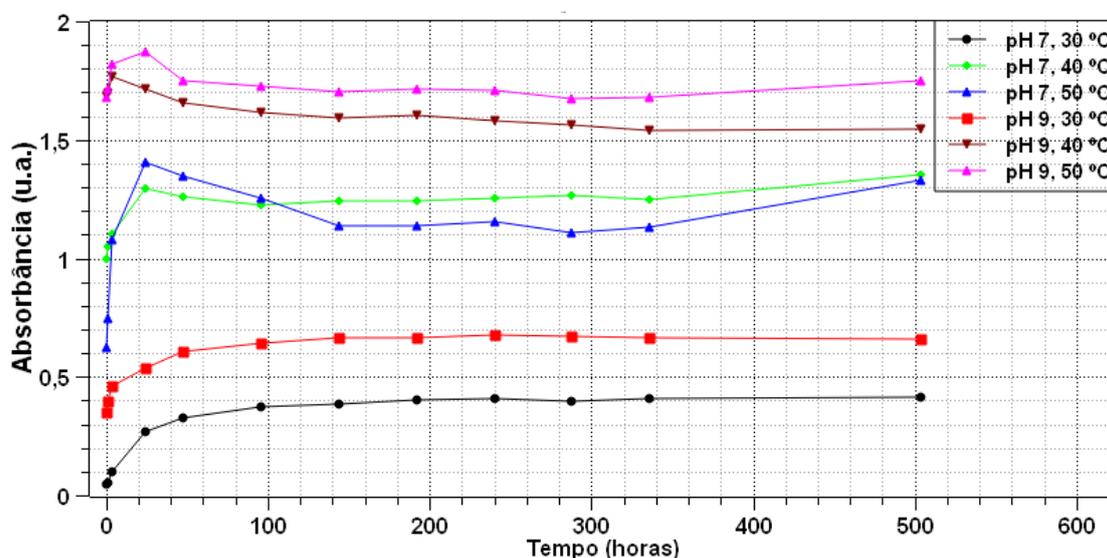


**Fonte:** o autor.

A Figura 15 exibe os espectros da evolução do valor máximo de absorbância referente à banda RPS para os meios de reação em pH 7 e 9, nas temperaturas de 30, 40 e 50 °C e em condição 2 de extrato vegetal. Dessa forma é possível examinar com maior rigor o efeito da variação de temperatura na formação de AgNPs. Percebe-se que os valores máximos de absorbância encontrados para as condições em pH 9 na temperatura ambiente (30 °C) foi de 0,67 u.a., em 40 °C a máxima atingiu 1,77 u.a. e 50 °C foi 1,87 u.a.. Ainda é possível verificar o tempo que as mesmas atingem o valor máximo de absorbância: enquanto a amostra de temperatura ambiente atinge o máximo após 7 dias de reação, em temperatura elevada (40 e 50 °C), todas as condições atingiram esse

máximo após 1 dia de reação, com exceção da amostra (pH 9, 40 °C), que obteve seu máximo após 4 horas de reação.

**Figura 15** - Evolução do valor máximo de absorvância referente à banda RPS para os meios de reação da condição 1 (pHs 5, 7 e 9) (A), condição 2 (pH 5, 7 e 9) (B) e condição 3 (pH 5, 7 e 9) (C) em temperatura ambiente.



**Fonte:** o autor.

Os resultados sugerem que o aumento da temperatura promove uma maior produção de AgNPs e em um menor tempo de reação. Esse efeito pode estar relacionado com a maior energia cinética dos reagentes em decorrência do aumento de temperatura do meio reacional. Isso faz com que a ultrapassagem da barreira de potencial ocorra com maior frequência desde o início da reação, resultando em uma maior taxa de formação de produtos em menor tempo. Em síntese, o aumento da temperatura acelera a nucleação e o desenvolvimento de AgNPs. No caso do extrato vegetal, com o aumento da temperatura a conversão do agente redutor para um produto oxidado e que libera elétrons para o cátion prata é aumentada, sendo essa etapa importante para a síntese de AgNPs, sendo que a mesma pode ser otimizada em temperaturas elevadas (DADA *et al.*, 2019; HAMED I *et al.*, 2017; LIU *et al.*, 2020).

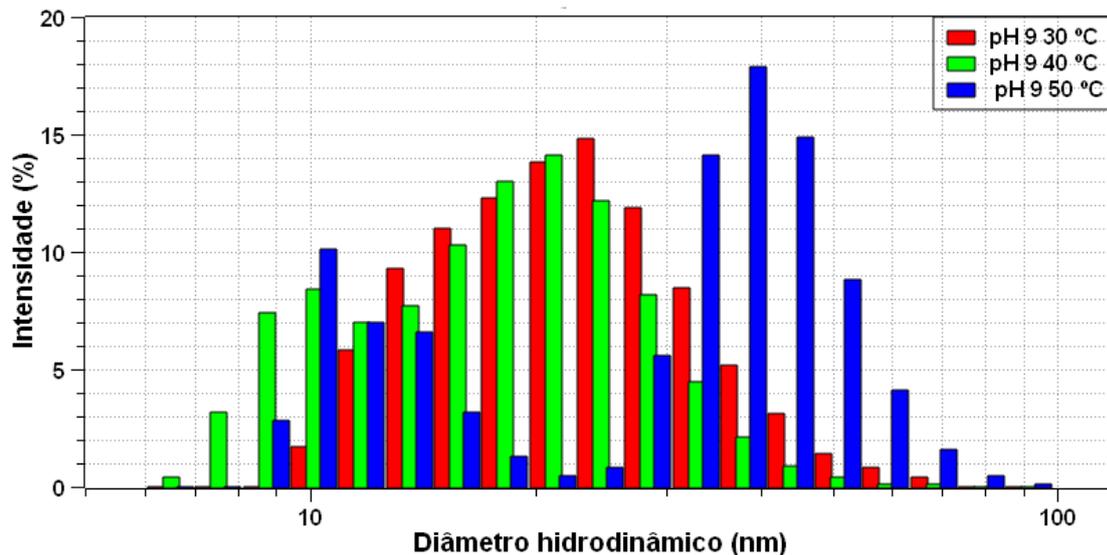
## 5.6 Análise por espalhamento de luz dinâmico (DLS) e potencial Zeta

Através da técnica DLS pode-se observar o padrão de flutuação da intensidade da luz espalhada em um determinado ângulo e em um volume fixo iluminado. Essa

caracterização física permite identificar o tamanho das partículas em suspensão e sua polidispersividade (BHATTACHARJEE, 2016). Na Figura 16 observa-se a distribuição de tamanho das AgNPs obtidas através da análise de DLS referente as amostras em concentração média de extrato vegetal (condição 2), meio alcalino (pH 9) em três diferentes temperaturas 30, 40 e 50 °C. Verificou-se que o tamanho médio em 30 °C foi de  $23,5 \pm 1,2$  nm, em 40 °C foi de  $18,8 \pm 1,0$  nm e em 50 °C  $32,0 \pm 2,2$  nm.

As amostras produzidas nas temperaturas de 40 e 50 °C apresentam uma distribuição bimodal, visto que as mesmas apresentam dois picos, um de maior e outro de menor intensidade, como exibido na Figura 16. Percebe-se que a amostra obtida em 40 °C apresenta uma maior tendencia em formar AgNPs de menor diâmetro, uma vez que a mesma também apresenta o menor tamanho médio entres as outras amostras. Esse menor diâmetro médio pode estar relacionado com a maior velocidade de formação das AgNPs nesta condição, como já mencionado anteriormente, já que foi a única amostra a atingir a máxima de absorbância em apenas 4 horas de reação.

**Figura 16** - Espalhamento de luz dinâmico para as amostras em concentração de extrato médio de extrato vegetal, meio alcalino nas temperaturas de 30, 40 e 50 °C.



**Fonte:** o autor.

Os resultados de DLS sugerem que conforme se eleva a temperatura (40 °C), ocorre a formação de AgNPs com menor diâmetro médio, e à medida que essa temperatura é aumentada (50 °C) é notado um aumento da polidispersividade, ou seja, são formadas populações de AgNPs com tamanhos mais diferentes entre si. Isso indica

que temperaturas superiores a 40 °C dificultam a estabilização dessas nanoestruturas de prata, fazendo com que os mesmos se agreguem e formem diferentes populações de tamanho. Uma possível explicação para esse fenômeno é a possível degradação térmica de algumas espécies de biomoléculas responsáveis pela possível estabilização dessas NPs, como por exemplo, os compostos fenólicos, conforme reportado por Inns *et al.*, (2011) quando essa classe de compostos foi exposta a temperaturas superiores à 50 °C.

O índice de polidispersividade (PDI) também é um parâmetro usado para avaliar o tamanho e distribuição das NPs, no qual o valor varia de 0 a 1 e quanto mais próximo de 0, mais monodisperso é o sistema analisado, ou seja, mais homogêneas serão as AgNPs no caso deste estudo. Nesse contexto, o PDI obtido para a amostra obtida em temperatura de 30 °C foi de 0,375, em 40 °C foi de 0,356 e em 50 °C foi de 0,465. Os resultados de PDI corroboram com o observado na Figura 47, indicando a existência de uma ampla variação das NPs obtidas. Segundo Bonato e Silva (2014) a síntese de AgNPs mediada por extratos vegetais geralmente possuem um PDI moderado, ou seja, uma monodispersividade moderada variando de 0,3 a 0,5, sendo que resultados semelhantes também foram encontrados por outros autores (AIKHULAIFI *et al.*, 2020; CHAND *et al.*, 2021).

O potencial Zeta é um do parâmetro fundamental que mede a estabilidade das nanopartículas produzidas através da medida de magnitude da repulsão ou da atração eletrostática. A estabilidade desse sistema é caracterizada pelo fato que as AgNPs em suspensão não se agregam para formar partículas maiores e quando entram em contato com o solvente adquirem cargas elétricas em sua superfície, gerando um potencial, que é denominado de Potencial Zeta (KAMSHAD *et al.*, 2019).

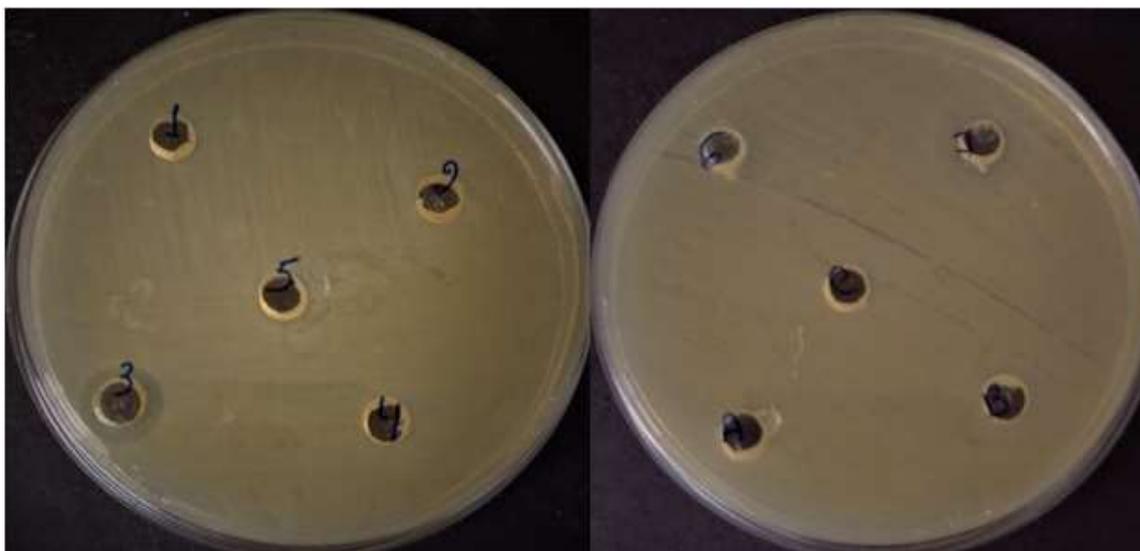
As amostras apresentam uma carga superficial média de -28,6 para 30 °C, -27,4 para 40 °C e -27,3 para 50 °C. Segundo Clogston e Patri (2011), partículas com alto potencial Zeta e mesmo sinal de carga, seja positivo (> +30 mV) ou negativo (<-30 mV) irão se repelir. Logo, ainda que os valores de potencial Zeta das amostras estejam próximos de -30 mV, os mesmos exibem uma moderada tendência a agregação. Os resultados de potencial Zeta corroboram com observado durante os experimentos no laboratório. Após as amostras atingirem o valor máximo de absorvância, é possível identificar uma pequena agregação dessas AgNPs com o tempo. As amostras de AgNPs produzidas em meios de temperatura elevada formaram precipitados após o primeiro dia de reação, principalmente as amostras com pH 7. Para as amostras produzidas a temperatura ambiente, houve a visualização de precipitado após 5 dias do início da reação.

## 5.7 Atividade microbicida das nanopartículas

Devido seu efeito microbicida, as AgNPs obtidas neste estudo foram avaliadas por meio do método de difusão em ágar. As amostras 1 (pH 9, 30 °C); 2 (pH 7, 40 °C); 3 (pH 9, 40 °C); 4 (pH 7, 50 °C); 5 (pH 9, 50 °C); 6 (condição 2 do extrato de tucumã) e 7 (solução de nitrato de prata), foram avaliadas nos seguintes sistemas biológicos: *Staphylococcus aureus* (Gram-positiva), *Escherichia coli* (Gram-negativa) e *Candida albicans* (levedura). A Figura 17 exibe o resultado dos ensaios microbiológicos em ágar a qual foi detectado atividade antimicrobiana para as amostras 3 e 7 frente à *Escherichia coli*, com halo de inibição de 1,2 cm para ambas.

As AgNPs demonstraram atividade microbicida apenas para a bactéria *Escherichia coli*. Esses resultados corroboram com os disponíveis na literatura que sugerem que as bactérias dessa classe são mais suscetíveis a ação das AgNPs (CLÉBIS *et al.*, 2021; QUITERO-QUIROZ *et al.*, 2019; RAMOS *et al.*, 2020). Existem duas explicações para esse fenômeno, sendo que a primeira está relacionada a maior espessura da parede celular das bactérias Gram-positivas devido a maior quantidade de peptidoglicano em comparação as bactérias Gram-negativas (WALKER, 2002). A segunda explicação está relacionada à presença de ácido lipoteicóico em bactérias Gram-positivas que exerce a função de proteção desses microrganismos contra agentes externos (MOHANBABA; GURUNATHAN, 2016).

**Figura 17** - Ensaio antimicrobiano frente a bactéria *E. coli*.



**Fonte:** o autor.

Alguns autores atribuem o efeito antibacteriano ao tamanho das AgNPs, logo, quanto menor o diâmetro maior é a ação contra os microrganismos devido a facilidade de penetração nas células bacterianas (AHMED *et al.*, 2021; NURULAINI *et al.*, 2019; QUITERO-QUIROZ *et al.*, 2019). Nesse sentido, a síntese em condição em concentração moderada de extrato vegetal, meio alcalino e com temperatura de 40 °C, como visto na Tabela 3, apresentou nanopartículas com menores diâmetros ( $18,8 \pm 1,0$  nm) em relação as outras condições propostas. Os resultados sugerem que essa condição é as mais adequadas para atender ao objetivo microbicida proposto nesse presente trabalho.

**Tabela 3** - Diâmetro médio das AgNPs em função do pH e temperatura.

Temperatura	pH 9, 30 °C	pH 7, 40 °C	pH 9, 40 °C	pH 7, 50 °C	pH 9, 50 °C
Diâmetro médio (nm)	23,5	77,0	18,8	74,8	32
Desvio padrão	1,2	3,8	1,0	3,2	2,2

Alguns autores sugerem que o aumento da área superficial das AgNPs está diretamente relacionado com a ação bactericida da mesma (AHMED *et al.*, 2021; NURULAINI *et al.*, 2019). Com a redução do tamanho médio dessas estruturas ocorre uma potencialização de respostas devido à maior de interação com os sistemas bacterianos. Acredita-se que a capacidade antibacteriana das AgNPs seja ampliada devido a maior área superficial das mesmas, no qual pode ocorrer a maior liberação de cátions  $Ag^+$ . Em seguida, essa espécie iônica se liga a grupos funcionais de moléculas presentes parede celular bacteriana carregadas negativamente, causando o rompimento da parede celular, desativação de enzimas e/ou mudanças na permeabilidade da membrana (KALWAR; SHAN, 2018; KODURU *et al.*, 2018).

## 6 CONCLUSÕES

Tendo um prévio conhecimento da composição química do tucumã (*Astrocaryum aculeatum*) através de trabalhos já publicados, somado com os resultados da espectroscopia UV-Vis do extrato vegetal, foi possível identificar alguns possíveis grupos de biomoléculas envolvidas no processo de redução dos íons prata para a formação das AgNPs. Logo, os resultados obtidos não só evidenciam a participação de biomoléculas na reação de redução, como também a concentração das mesmas influencia

na estabilidade e quantidade de AgNPs formadas. O pH e a temperatura também são fatores que influenciam a formação de AgNPs e a sua estabilização.

Os resultados da espectroscopia UV-Vis, aliados aos resultados do DLS e os ensaios microbiológicos sugerem resultados similares. As diferentes técnicas indicam que a amostra em concentração média de extrato vegetal, meio alcalino e em temperatura de 40 °C é a condição mais promissora para o objetivo proposto. Através da espectroscopia UV-Vis, observou-se que essa foi a única condição que teve a máxima de absorbância em apenas 4 horas de reação, enquanto as demais demoraram aproximadamente 24 horas. Pela técnica de DLS foi observado que essa condição de síntese supracitada que teve o menor diâmetro hidrodinâmico médio, além desta ter sido a única condição que demonstrou atividade microbicida contra a bactéria Gram-negativa *Escherichia coli*.

## 7 REFERÊNCIAS

- ABDALLA, S.; DADALTI, P. Uso da sulfadiazina de prata associada ao nitrato de cério em úlceras venosas: relato de dois casos. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, v. 78, n. 2, p. 227-233, 2003.
- AHMED, F. *et al.* Microwave Mediated Fast Synthesis of Silver Nanoparticles and Investigation of Their Antibacterial Activities for Gram-Positive and Gram-Negative Microorganisms. **Crystals**, v. 11, n. 6, p. 666-694, 2021.
- AKTHER, T.; HEMALATHA, S. Mycosilver nanoparticles: Synthesis, characterization and its efficacy against plant pathogenic fungi. **BioNanoScience**, v. 9, n. 2, p. 296-301, 2019.
- ALJOHNY, B. O. Halophilic bacterium—a review of new studies. **Biosciences Biotechnology Research Asia**, v. 12, n. 3, p. 2061-2069, 2015.
- ALKHULAIIFI, M. M. *et al.* Green synthesis of silver nanoparticles using *Citrus limon* peels and evaluation of their antibacterial and cytotoxic properties. **Saudi Journal of Biological Sciences**, v. 27, n. 12, p. 3434-3441, 2020.
- AMIRJANI, A.; FATMEHSARI, D. H. Colorimetric detection of ammonia using smartphones based on localized surface plasmon resonance of silver nanoparticles. **Talanta**, v. 176, n. 12, p. 242-246, 2018.
- ANTUNES, F. S. *et al.* Síntese, caracterização e aplicação de nanopartículas de prata como agentes antimicrobianos. **Estudos Tecnológicos em Engenharia**, v. 9, n. 1, p. 20-26, 2013.
- AZEVEDO, S. C. M. *et al.* Estudo da conservação das propriedades nutricionais da polpa de tucumã (*Astrocaryum aculeatum*) in natura em embalagens a vácuo. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 20, n. 2, p. 16-27, 2017.
- BAGHAIENEZHAD, M.; BOROGHANI, M.; ANABESTANI, R. Synthesis of silver nanoparticles by coffee residue extract and its antibacterial activity. **Nanomedicine Research Journal**, v. 5, n. 1, p. 29-34, 2020.
- BHATTACHARJEE, S. DLS and zeta potential—what they are and what they are not?. **Journal of Controlled Release**, v. 235, n. 12, p. 337-351, 2016.
- BHUI, D. K. *et al.* Synthesis and UV–vis spectroscopic study of silver nanoparticles in aqueous SDS solution. **Journal of Molecular Liquids**, v. 145, n. 1, p. 33-37, 2009.
- BHUYAR, P. *et al.* Synthesis of silver nanoparticles using marine macroalgae *Padina sp.* and its antibacterial activity towards pathogenic bacteria. **Beni-Suef University Journal of Basic and Applied Sciences**, v. 9, n. 1, p. 1-15, 2020.
- BOCATE, K. P. *et al.* Antifungal activity of silver nanoparticles and simvastatin against toxigenic species of *Aspergillus*. **International Journal of Food Microbiology**, v. 291, n. 9, p. 79-86, 2019.

BONATTO, C. C.; SILVA, L. P. Higher temperatures speed up the growth and control the size and optoelectrical properties of silver nanoparticles greenly synthesized by cashew nutshells. **Industrial Crops and Products**, v. 58, p. 46-54, 2014.

BRAUN, T.; SCHUBERT, A.; ZSINDELY, S. Nanoscience and nanotechnology on the balance. **Scientometrics**, v. 38, n. 2, p. 321-325, 1997.

CARNEIRO, A. B. A. *et al.* Efeito da *Astrocaryum aculeatum* (Tucumã) na toxicidade da Doxorubicina: modelo experimental *in vivo*. **Acta Paulista de Enfermagem**, v. 30, n. 3, p. 233-239, 2017.

CARR, F. J. Microbiology: a fundamental introduction. **EC Microbiology**, v. 8, n. 3, p. 123-183, 2017.

CARSON, L. *et al.* Green synthesis of silver nanoparticles with antimicrobial properties using *Phylla dulcis* plant extract. **Foodborne Pathogens and Disease**, v. 17, n. 8, p. 504-511, 2020.

CHAND, Kishore *et al.* Green synthesis, characterization and photocatalytic activity of silver nanoparticles synthesized with *Nigella sativa* seed extract. **Chemical Physics Letters**, v. 763, n. 4, p. 138-218, 2021.

CHUGH, H. *et al.* Role of gold and silver nanoparticles in cancer nanomedicine. **Artificial Cells, Nanomedicine, and Biotechnology**, v. 46, n. sup. 1, p. 1210-1220, 2018.

CLÉBIS, V. H. *et al.* Atividade antibacteriana de micropartículas de prata encapsuladas com méis de *Apis mellifera* e *Scaptotrigona bipunctata*. **Brazilian Journal of Animal and Environmental Research**, v. 4, n. 1, p. 933-948, 2021.

CLOGSTON, J. D.; PATRI, A. K. Zeta potential measurement. In: Scott, E. McNeil (Ed.). **Characterization of nanoparticles intended for drug delivery**. New York:Humana Press, 2011. p. 63-70.

DA COSTA, L. P. *et al.* Spontaneous formation of highly dispersed spheroidal metallic silver nanoparticles in surfactant-free N, N-dimethylacetamide. **Synthetic Metals**, v. 161, n. 15-16, p. 1517-1521, 2011.

DADA, A. O. *et al.* Synthesis of silver nanoparticles by *Acalypha wilkesiana* extract: phytochemical screening, characterization, influence of operational parameters and preliminary antibacterial test. **Heliyon**, v. 5, n. 10, p. 502-517, 2019.

DE MARCO, B. A. *et al.* Evolution of green chemistry and its multidimensional impacts: A review. **Saudi Pharmaceutical Journal**, v. 27, n. 1, p. 1-8, 2019.

DISSEMOND, J. *et al.* Risk and clinical impact of bacterial resistance/susceptibility to silver-based wound dressings: a systematic review. **Journal of Wound Care**, v. 29, n. 4, p. 221-234, 2020.

EBRAHIMINEZHAD, A. *et al.* Abordagens químicas e biológicas para a síntese de nanopartículas de prata; uma mini revisão. **Trends in Pharmaceutical Sciences**, v. 3, n. 2, p. 55-62, 2017.

- ESLAMI, A. C. *et al.* Free radicals produced by the oxidation of gallic acid: An electron paramagnetic resonance study. **Chemistry Central Journal**, v. 4, n. 1, p. 1-4, 2010.
- FERREIRA, S.; FLOR, N.; ANDRADE, J. Nutritional Value and Sensorial Attributes of Tucumã Paste. **British Journal of Applied Science & Technology**. v. 5, n. 4, p. 371-379, 2015.
- FERREIRA, S. A. N.; CASTRO, M. E.; GENTIL, D. F. O. Emergência de plântulas de tucumã (*Astrocaryum aculeatum*) em função do pré-tratamento das sementes e da condição de semeadura. **Revista Brasileira Fruticultura**, v. 32, n. 4, p. 1189-95, 2010.
- GENTIL, D. F. O.; FERREIRA, S. A. N. Morfologia da plântula em desenvolvimento de *Astrocaryum aculeatum* Meyer (*Arecaceae*). **Acta Amazonica**, v. 35, n. 3, p. 337-342, 2005.
- HADRUP, N.; SHARMA, A. K.; LOESCHNER, K. Toxicity of silver ions, metallic silver, and silver nanoparticle materials after *in vivo* dermal and mucosal surface exposure: A review. **Regulatory Toxicology and Pharmacology**, v. 98, n. 8, p. 257-267, 2018.
- HAMEDI, S. *et al.* Controlled biosynthesis of silver nanoparticles using culture supernatant of filamentous fungus. **Research Article**, v. 36, n. 5, p. 33-42, 2017.
- HEKMATI, M. *et al.* Green synthesis of silver nanoparticles using extracts of *Allium rotundum* L, *Falcaria vulgaris* Bernh, and *Ferulago angulate* Boiss, and their antimicrobial effects *in vitro*. **Gene Reports**, v. 19, n. 2, p. 562-589, 2020.
- HUAIZHI, Z.; YUANTAO, N. China's ancient gold drugs. **Gold Bulletin**, v. 34, n. 1, p. 24-29, 2001.
- INNS, Elizabeth L. *et al.* Effect of modification of the kilning regimen on levels of free ferulic acid and antioxidant activity in malt. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 59, n. 17, p. 9335-9343, 2011.
- INSHAKOVA, E.; INSHAKOV, O. *In*: MATEC web of conferences (Ed.). **World market for nanomaterials: structure and trends**. Les Ulis: EDP Sciences, 2017. p. 13 - 20.
- JAIN, P. K. *et al.* Review of some interesting surface plasmon resonance-enhanced properties of noble metal nanoparticles and their applications to biosystems. **Plasmonics**, v. 2, n. 3, p. 107-118, 2007.
- JAIN, S.; MEHATA, M. S. Medicinal plant leaf extract and pure flavonoid mediated green synthesis of silver nanoparticles and their enhanced antibacterial property. **Scientific Reports**, v. 7, n. 1, p. 1-13, 2017.
- JAVED, R. *et al.* Role of capping agents in the application of nanoparticles in biomedicine and environmental remediation: recent trends and future prospects. **Journal of Nanobiotechnology**, v. 18, n. 1, p. 1-15, 2020.

JIANG, S. *et al.* A novel U-bent plastic optical fibre local surface plasmon resonance sensor based on a graphene and silver nanoparticle hybrid structure. **Journal of Physics D: Applied Physics**, v. 50, n. 16, p. 165-175, 2017.

JUNQUEIRA, L. C.; CARNEIRO, J. **Biologia Celular e Molecular**. 9<sup>a</sup> ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2012. p. 251-320.

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

KAMATA, N. *et al.* Potential impact of global warming on deciduous oak dieback caused by ambrosia fungus *Raffaelea sp.* carried by ambrosia beetle *Platypus quercivorus* (Coleoptera: *Platypodidae*) in Japan. **Bulletin of Entomological Research**, v. 92, n. 2, p. 119-130, 2002.

KARIM, N. A. *et al.* Sustainable route of synthesis platinum nanoparticles using orange peel extract. **International Journal of Green Energy**, v. 16, n. 15, p. 1518-1526, 2019.

KHAN, I.; SAEED, K.; KHAN, I. Nanoparticles: Properties, applications and toxicities. **Arabian Journal of Chemistry**, v. 10, n. 4, p. 439-582, 2017.

KHOSHNAMVAND, M.; HUO, C.; LIU, J. Silver nanoparticles synthesized using *Allium ampeloprasum* L. leaf extract: characterization and performance in catalytic reduction of 4-nitrophenol and antioxidant activity. **Journal of Molecular Structure**, v. 11, n. 5, p. 90-96, 2019.

KODURU, J. R. *et al.* Phytochemical-assisted synthetic approaches for silver nanoparticles antimicrobial applications: A review. **Advances in Colloid and Interface Science**, v. 256, n.2, p. 326-339, 2018.

KUMAR, B. *et al.* Green synthesis of silver nanoparticles using Andean blackberry fruit extract. **Saudi Journal of Biological Sciences**, v. 24, n. 1, p. 45-50, 2017.

LESTINI, E.; ANDREI, C.; ZERULLA, D. Linear self-assembly and grafting of gold nanorods into arrayed micrometer-long nanowires on a silicon wafer via a combined top-down/bottom-up approach. **PloS One**, v. 13, n. 4, p. 835-859, 2018.

LIMA, A. K. O. *et al.* Green Synthesis of Silver Nanoparticles Using Amazon Fruits. **International Journal of Nanoscience and Nanotechnology**, v. 15, n. 3, p. 179-188, 2019.

LIMA, C. G.; MENDONÇA, M. S.; BARBOSA, T. C. Morfologia floral de uma população de tucumã *Astrocaryum aculeatum* G. Mey (*Areaceae*) na Amazônia central. **Acta Amazonica**, v. 36, n. 4, p. 407-412, 2006.

LIU, H. *et al.* Effect of temperature on the size of biosynthesized silver nanoparticle: deep insight into microscopic kinetics analysis. **Arabian Journal of Chemistry**, v. 13, n. 1, p. 1011-1019, 2020.

LÓPEZ-ESPARZA, J. *et al.* Antimicrobial activity of silver nanoparticles in polycaprolactone nanofibers against Gram-positive and Gram-negative

- bacteria. **Industrial & Engineering Chemistry Research**, v. 55, n. 49, p. 12532-12538, 2016.
- MADIGAN, M. T.; MARTINKO, J. M.; PARKER, J. **Microbiologia de Brock**. 14<sup>a</sup> ed. São Paulo: Pearson Education do Brasil, 2016. p. 26-76.
- MAGHSOODLOO, S. *et al.* Green synthesis of multifunctional silver nanoparticles using quercetin and their therapeutic potential. **Nanomedicine Research Journal**, v. 5, n. 2, p. 171-181, 2020.
- MANOSALVA, N. *et al.* Green synthesis of silver nanoparticles: effect of synthesis reaction parameters on antimicrobial activity. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 35, n. 6, p. 1-9, 2019.
- MATHUR, P. *et al.* Pharmaceutical aspects of silver nanoparticles. **Artificial Cells, Nanomedicine, and Biotechnology**, v. 46, n. 1, p. 115-126, 2018.
- MAYFIELD III, A. E. *et al.* First report of laurel wilt disease caused by a *Raffaelea sp.* on avocado in Florida. **Plant Disease**, v. 92, n. 6, p. 976-976, 2008.
- MEVA, F. *et al.* *Stachytarpheta cayennensis* aqueous extract, a new bioreactor towards silver nanoparticles for biomedical applications. **Journal of Biomaterials and Nanobiotechnology**, v. 10, n. 2, p. 102-119, 2019.
- MISBA, L.; ZAIDI, S.; KHAN, A. U. A comparison of antibacterial and antibiofilm efficacy of phenothiazinium dyes between Gram-positive and Gram-negative bacterial biofilm. **Photodiagnosis and Photodynamic Therapy**, v. 18, p. 24-33, 2017.
- MITTAL, A. K. *et al.* Biosynthesis of silver nanoparticles: elucidation of prospective mechanism and therapeutic potential. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 415, n. 2, p. 39-47, 2014.
- MIZIUR-MOŹDZIOCH, M. The symbolism of the Lycurgus Cup. **Archaeologia Polona**, v. 55, n. 1, p. 99-111, 2017.
- MOHANBABA, S.; GURUNATHAN, S. Differential biological activities of silver nanoparticles against Gram-negative and Gram-positive bacteria: A novel approach for antimicrobial therapy. *In*: Grumezescu, A. M. (Ed.). **Nanobiomaterials in Antimicrobial Therapy: Nanobiomaterials in Antimicrobial Therapy**. Bucureste: William Andrew Applied Science Publishers, 2016. p. 193-227.
- MOREIRA, L. A. *et al.* Meningoencefalite causada por *Cryptococcus neoformans* em pacientes portadores de HIV/AIDS. **Revista Educação em Foco**, v. 9, n. 2, p. 72-81, 2017.
- MOSAVINIYA, M. *et al.* Facile green synthesis of silver nanoparticles using *Crocus haussknechtii* Bois bulb extract: Catalytic activity and antibacterial properties. **Colloid and Interface Science Communications**, v. 33, artigo 100211, 2019.
- NAM, G. *et al.* Investigating the versatility of multifunctional silver nanoparticles: preparation and inspection of their potential as wound treatment agents. **International Nano Letters**, v. 6, n. 1, p. 51-63, 2016.

- NASROLLAHZADEH, M. *et al.* In: Mahmoud Nasrollahzadeh, S. Mohammad S.; Mohaddeseh S.; Zahra I.; Monireh A. (Ed.). **Interface science and technology: An introduction to nanotechnology**. London: Elsevier, 2019. Capítulo 1, p. 1-27.
- NENOFF, P. *et al.* Mycology—an update. Part 1: Dermatomycoses: causative agents, epidemiology and pathogenesis. **Journal der Deutschen Dermatologischen Gesellschaft**, v. 12, n. 3, p. 188-210, 2014.
- NGUYEN, M. H. *et al.* Screening of Endophytic Fungal Isolates Against *Raffaelea quercus-mongolicae* Causing Oak Wilt Disease in Korea. **Mycobiology**, v. 48, n. 6, p. 484-494, 2020.
- NURULAINI, A. *et al.* A new green method for the synthesis of silver nanoparticles and their antibacterial activities against gram-positive and gram-negative bacteria. **Journal of the Chinese Chemical Society**, v. 66, n. 7, p. 705-712, 2019.
- OLIVEIRA, S. F.; MOURA, J. P.; SILVA, K. E. R. Uma revisão sobre a morfoanatomia e as propriedades farmacológicas das espécies *Astrocaryum aculeatum* Meyer e *Astrocaryum vulgare* Mart. **Scientia Amazonia**, v. 7, n. 3, p. 18-28, 2018.
- PASTORIZA S. I.; LIZ-MARZÁN, L. M. Formation and stabilization of silver nanoparticles through reduction by N, N-dimethylformamide. **Langmuir**, v. 15, n. 4, p. 948-951, 1999.
- PAVIA, D. L. *et al.* **Introdução à Espectroscopia**. 4ª ed., São Paulo: Cengage Learning, 2010. p. 365-398.
- PRASAD, K. *et al.* Synergic bactericidal effects of reduced graphene oxide and silver nanoparticles against Gram-positive and Gram-negative bacteria. **Scientific Reports**, v. 7, n. 1, p. 1-11, 2017.
- PULIT-PROCIAK, J.; BANACH, M. Silver nanoparticles—a material of the future? **Open Chemistry**, v. 14, n. 1, p. 76-91, 2016.
- QUINTERO-QUIROZ, C. *et al.* Optimization of silver nanoparticle synthesis by chemical reduction and evaluation of its antimicrobial and toxic activity. **Biomaterials Research**, v. 23, n. 1, p. 1-15, 2019.
- RAI, M. Nanobiotecnologia verde: biossínteses de nanopartículas metálicas e suas aplicações como nanoantimicrobianos. **Ciência e Cultura**, v. 65, n. 3, p. 44-48, 2013.
- RAMOS, M. M. *et al.* Silver nanoparticle from whole cells of the fungi *Trichoderma spp.* isolated from Brazilian Amazon. **Biotechnology Letters**, v. 42, n. 5, p. 833-843, 2020.
- RAO, K. J.; PARIA, S. Green synthesis of silver nanoparticles from aqueous *Aegle marmelos* leaf extract. **Materials Research Bulletin**, v. 48, n. 2, p. 628-634, 2013.
- ROBLES-MARTÍNEZ, M. *et al.* *Mentha piperita* as a natural support for silver nanoparticles: A new Anti-candida albicans treatment. **Colloid and Interface Science Communications**, v. 35, n. 10, p. 100-153, 2020.

- SAGRILLO, M. *et al.* Tucuma fruit extracts (*Astrocaryum aculeatum* Meyer) decrease cytotoxic effects of hydrogen peroxide on human lymphocytes. **Food Chemistry**, v. 173, n. 5, p. 741-748, 2015.
- SALAS-OROZCO, M. *et al.* Mechanisms of resistance to silver nanoparticles in endodontic bacteria: a literature review. **Journal of Nanomaterials**, v. 19, n. 4, p. 183-198, 2019.
- SANTOS, J. F. L. *et al.* Ressonância de plasmon de superfície localizado e aplicação em biossensores e células solares. **Química Nova**, v. 39, n. 9, p. 1098-1111, 2016.
- SANTOS, N. Q. A resistência bacteriana no contexto da infecção hospitalar. **Texto & Contexto-Enfermagem**, v. 13, n. 3, p. 64-70, 2004.
- SANTOS, R. C. V. *et al.* In: **Exotic Fruits: The Tucumã of Amazonas - *Astrocaryum aculeatum***. Manaus: Academic Press, 2018. p. 419-425.
- SHANLEY, P.; SERRA, M.; MEDINA, G. **Frutíferas e Plantas Úteis na Vida Amazônica**. 2ª ed. Belém: Cifor; Amazon, 2010.
- SILVA, L. P. Nanopartículas verdes: Plantas do cerrado são usadas na produção de nanossistemas para controle de patógenos e pragas da agricultura, entre outras aplicações. **Revista Pesquisa FAPESP** v. 23, n. 6, p. 70-73, setembro 2014.
- SILVA, S. C. C. *et al.* Efeito do uso de própolis sobre a presença de bactérias gram-positivas e negativas no líquido ruminal de bovinos. **Acta Tecnológica**, v. 11, n. 2, p. 11-26, 2017.
- SINGH, A. *et al.* Green synthesis of metallic nanoparticles as effective alternatives to treat antibiotics resistant bacterial infections: A review. **Biotechnology Reports**, v. 25, n. 7, p. 400-427, 2020.
- SINGH, D. K. *et al.* Mycosynthesis of bactericidal silver and polymorphic gold nanoparticles: physicochemical variation effects and mechanism. **Nanomedicine**, v. 13, n. 2, p. 191-207, 2018.
- SINGH, P. *et al.* Biological synthesis of nanoparticles from plants and microorganisms. **Trends in Biotechnology**, v. 34, n. 7, p. 588-599, 2016.
- SOUZA, R. F. V.; GIOVANI, W. F. Antioxidant properties of complexes of flavonoids with metal ions. **Redox Report**, v. 9, n. 2, p. 97-104, 2004.
- SUN, X. Morphology and size-controllable preparation of silver nanostructures through a wet-chemical route at room temperature. **Inorganic Materials**, v. 46, n. 6, p. 679-682, 2010.
- TAFUR, J. D.; TORRES, J. A.; VILLEGAS, M. V. Mecanismos de resistencia a los antibióticos en bacterias Gram negativas. **Infectio**, v. 12, n. 3, p. 68-85, 2011.
- TARAN, M. *et al.* Benefits and application of nanotechnology in environmental science: an overview. **Biointerface Research in Applied Chemistry**, v. 11, n. 1, p. 7860-7870, 2021.

- TEIMURI-MOFRAD, R. *et al.* Green synthesis of gold nanoparticles using plant extract: mini-review. **Nanochemistry Research**, v. 2, n. 1, p. 8-19, 2017.
- TORTORA, G. J.; FUNKE, B. R.; CASE, C. L. **Microbiologia**. 10<sup>a</sup> ed. Rio de Janeiro: Editora Artmed, 2016. p, 291-316.
- UIVAROSI, V. *et al.* Metal complexation and patent studies of flavonoid. *In*: Hardeep S. T. (Ed.). **Current Aspects of Flavonoids: Their Role in Cancer Treatment**. Singapore: Springer, 2019. p. 39-89.
- VERMA, P.; MAHESHWARI, S. K. Applications of Silver nanoparticles in diverse sectors. **International Journal of Nano Dimension**, v. 10, n. 1, p. 18-36, 2019.
- VILA, L.; MARCOS, R.; HERNÁNDEZ, A. Long-term effects of silver nanoparticles in caco-2 cells. **Nanotoxicology**, v. 11, n. 6, p. 771-780, 2017.
- WALKER, T. S. **Microbiologia**. 1<sup>a</sup> ed. Rio de Janeiro: Revinter Ltda, 2002. p. 157-204.
- WANG, M. *et al.* Probing bianisotropic biomolecules via a surface plasmon resonance sensor. **Optics express**, v. 26, n. 22, p. 28277-28287, 2018.
- WEI, L. *et al.* Silver nanoparticles: synthesis, properties, and therapeutic applications. **Drug Discovery Today**, v. 20, n. 5, p. 595-601, 2015.
- YUN, B. J. *et al.* Highly sensitive metal-enhanced fluorescence biosensor prepared on electrospun fibers decorated with silica-coated silver nanoparticles. **Sensors and Actuators B: Chemical**, v. 284, n. 13, p. 140-147, 2019.