

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

CAROLYNE RODRIGUES RIBEIRO

SÍNTESE VERDE DE NANOPARTÍCULAS DE PRATA MEDIADA  
POR EXTRATOS DE *Paullinia cupana* (GUARANÁ)

ITACOATIARA – AM  
2023

CAROLYNE RODRIGUES RIBEIRO

SÍNTESE VERDE DE NANOPARTÍCULAS DE PRATA MEDIADA POR  
EXTRATOS DE *Paullinia Cupana* (GUARANÁ)

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação  
em Ciência e Tecnologia para Recursos Amazônicos  
como pré-requisito para a obtenção do título de Mestra  
em Ciência e Tecnologia para Recursos Amazônicos.

PROF. DR. GUSTAVO FRIGI PEROTTI  
ORIENTADOR

PROF<sup>a</sup>. Dra. DOMINIQUE FERNANDES DE MOURA DO CARMO  
COORIENTADORA

ITACOATIARA – AM

2023

## Ficha Catalográfica

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

R484s Ribeiro, Carolyne Rodrigues  
Síntese verde de nanopartículas de prata mediada por extratos de Paullinia cupana (guaraná) / Carolyne Rodrigues Ribeiro . 2023  
75 f.: il. color; 31 cm.

Orientador: Gustavo Frigi Perotti  
Coorientadora: Dominique Fernandes De Moura Do Carmo  
Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia para Recursos Amazônicos) - Universidade Federal do Amazonas.

1. Nanotecnologia. 2. Nanopartículas de prata. 3. Química verde.  
4. Guaraná. I. Perotti, Gustavo Frigi. II. Universidade Federal do Amazonas III. Título

## AGRADECIMENTOS

Agradeço ao Prof. Dr. Gustavo Frigi Perotti pela orientação, dedicação e incentivo, sendo indispensáveis para a conclusão deste trabalho.

À Prof. Dra. Dominique Fernandes de Moura do Carmo por sua co-orientação, gentileza e disponibilidade em ajudar.

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

Agradeço a Profa. Dra. Márcia Regina de Moura Aouada e seu grupo de pesquisa da Universidade Estadual Paulista (UNESP) por realizar os experimentos de Espalhamento de luz dinâmico (DLS) e potencial Zeta.

Agradeço ao Sidney Souza dos Santos, doutorando em Ciências dos Materiais pela Universidade Estadual Paulista (UNESP), pelo suporte durante os experimentos no decorrer da elaboração deste trabalho.

Aos membros do LEMAv, em conjunto aos membros dos laboratórios de pesquisa da UFAM, gostaria de agradecer pela contribuição ao trabalho e pela amizade, em especial à Sabrina dos Santos Souza, Jardel Ramos da Encarnação e ao Mateus Feitosa Santos.

À minha amiga Gabriele Simas Ribeiro que me incentivou, apoiou, acreditou, esteve e estará comigo em muitas circunstâncias da vida.

À Ruana dos Santos Schultz, amiga que ofereceu todo auxílio em diversas situações ao longo desses anos, assim como sua família que me acolheu quando precisei de apoio.

À Luane Seixas de Oliveira que além de me auxiliar no desenvolvimento desta pesquisa, foi companheira nas madrugadas de estudo.

Ao Marco Antonio Carvalho Tapudima que, com carinho, paciência e parceria me deu suporte nessa etapa da minha vida.

Agradeço do fundo do meu coração a minha família. Dedico este trabalho à minha mãe Vania Alves Rodrigues, ao meu pai Mauro Ribeiro da Silva e minha irmã Luana Rodrigues Ribeiro, que por muitas lágrimas a cada despedida, sempre celebraram cada conquista me incentivando nos estudos e apoiando minhas escolhas. Amo vocês, obrigada.

Agradeço ao PPGCTRA, a Fundação à Pesquisa do Estado do Amazonas (FAPEAM), a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela bolsa de pesquisa concedida para a realização deste trabalho.

## RESUMO

À frente das propriedades singulares que dimensões nanométricas possuem, a nanotecnologia objetiva estudar e aprimorar as características de materiais, além de atribuir novas funcionalidades. As nanopartículas de prata (AgNPs) são pertencentes a esse conjunto que, as quais vem sendo amplamente investigadas, demonstram propriedades bactericidas. Em alternativa aos métodos tradicionais de síntese, a Química Verde resulta em uma metodologia mais sustentável devido a utilização de materiais potencialmente menos nocivos ao meio ambiente. Nesse cenário, os componentes presentes em extratos vegetais propiciam a síntese de nanopartículas metálicas, considerando que as substâncias bioativas presentes em plantas, como as encontradas no guaraná (*Paullinia cupana*), demonstram capacidade para mediar a produção e estabilização dos nanoparticulados. As AgNPs foram produzidas através de diferentes condições de síntese, de maneira a obter as melhores condições reacionais e, posteriormente, analisar o potencial microbida das dispersões produzidas. A caracterização do extrato aquoso de guaraná foi realizada através da espectroscopia eletrônica UV-Vis, possibilitando relacionar o espectro encontrado com as transições eletrônicas presentes nas estruturas do extrato vegetal. A banda de ressonância de *plasmon* de superfície (RPS) foi identificada e monitorada para as demais condições de síntese das AgNPs. As condições de síntese em meio alcalino usando concentrações mais diluídas de extrato aquoso de guaraná apresentaram bandas relacionadas à formação de nanoestruturas mais intensas e simétricas, indicando a ocorrência de nanopartículas de menores diâmetros e uniformes em relação aos meios ácidos e neutros. Ademais, o aumento de temperatura do meio reacional não causou efeitos consideráveis em termos de quantidades de nanopartículas produzidas, mas favoreceu os efeitos de complexação em relação à síntese realizada em temperatura ambiente. A análise através da microscopia eletrônica de transmissão (TEM) confirmou o comportamento da banda RPS obtida para as condições de síntese em meio ácido e básico, sinalizando a produção de nanopartículas monodispersas e esféricas, que em conjunto às informações obtidas pelas técnicas de espalhamento de luz dinâmico (DLS) e potencial Zeta, sugerem estruturas ainda mais monodispersas de diâmetro hidrodinâmico reduzido com o aumento da temperatura para AgNPs produzidas em pH 9,0. Foi observada sensibilidade dos microrganismos *S. aureus* e *E. coli* frente às AgNPs em síntese utilizando maior concentração de diluição de extrato de guaraná (condição 1) em pH 9,0 à temperatura ambiente, sendo nanoestruturas metálicas com diâmetro hidrodinâmico de  $32,0 \pm 0,6$  nm.

**Palavras-chave:** Nanotecnologia; Nanopartículas de prata; Química verde; Guaraná.

## ABSTRACT

In addition to the unique properties that nanometric dimensions have, nanotechnology aims to study and improve the characteristics of materials, in addition to assigning new functionalities. Silver nanoparticles (AgNPs) belong to this set which, which have been widely investigated, demonstrate bactericidal properties. As an alternative to traditional synthesis methods, Green Chemistry results in a more sustainable methodology due to the use of materials that are potentially less harmful to the environment. In this scenario, the components present in plant extracts facilitate the synthesis of metallic nanoparticles, considering that the bioactive substances present in plants, such as those present in guarana (*Paullinia cupana*), demonstrate the capacity to mediate the production and stabilization of nanoparticles. The AgNPs were produced through different synthesis conditions, in order to obtain the best reaction conditions and, subsequently, to analyze the microbicidal potential of the produced dispersions. The characterization of the aqueous extract of guarana was carried out through electronic UV-Vis spectroscopy, making it possible to relate the spectrum found with the electronic transitions present in the structures of the plant extract. The surface *plasmon* band (RPS) was identified and monitored for the other AgNPs synthesis conditions. The conditions of synthesis in alkaline medium using more diluted concentrations of aqueous extract of guarana showed bands related to the formation of more intense and symmetrical nanostructures, indicating the occurrence of nanoparticles with smaller diameters and uniforms in relation to acidic and neutral media. Furthermore, increasing the temperature of the reaction medium did not cause considerable effects in terms of the amounts of nanoparticles produced, but favored the complexation effects in relation to the synthesis performed at room temperature. Analysis through transmission electron microscopy (TEM) analyzes confirmed the behavior of the RPS band obtained for the synthesis conditions in acidic and basic medium, signaling the production of monodisperse and spheroidal nanoparticles, which together with the information obtained by dynamic light scattering (DLS) and Zeta potential, suggest even more monodisperse structures with reduced hydrodynamic diameter with increasing temperature for AgNPs produced at pH 9.0. Sensitivity of *S. aureus* and *E. coli* microorganisms against AgNPs was observed in synthesis using a higher dilution concentration of guarana extract (condition 1) at pH 9.0 at room temperature, being metallic nanostructures with a hydrodynamic diameter of  $32.0 \pm 0.6$  nm.

**Keywords:** Nanotechnology; Silver nanoparticles; Green chemistry; Guarana.

## LISTA DE FIGURAS

|  |    |
|--|----|
| Figura 1 - Representação da diferença estrutural entre bactérias Gram-positivas e Gram-negativas (A); mecanismo de ação das AgNPs contra a proliferação bacteriana (B). ....   | 15 |
| Figura 2 - Representação dos diferentes métodos alternativos de síntese de nanopartículas metálicas. ....  | 17 |
| Figura 3 - Imagem da fruta do guaranazeiro. ....   | 21 |
| Figura 4 - Estruturas químicas das metilxantinas presentes no guaraná. ....  | 22 |
| Figura 5 - Estrutura básica de uma molécula de flavonoide. ....  | 23 |
| Figura 6 - Amostra homogeneizada (A); amostra acondicionada em geladeira por 24 h (B); extrato aquoso de guaraná (C). ....   | 26 |
| Figura 7 - Espectros eletrônicos UV-Vis para o extrato aquoso de guaraná. ....   | 29 |
| Figura 8 - Estrutura da catequina relacionada às bandas presentes no espectro UV-Vis. ....   | 30 |
| Figura 9 - Imagem do progresso reacional das AgNPs em pH 5,5 em diferentes concentrações de extrato de guaraná em 1 hora (1) e 24 horas (2): A) condição 1 B) condição 2 e C) condição 3. ....   | 32 |
| Figura 10 - Espectros eletrônicos UV-Vis referente à síntese de AgNPs para os meios reacionais contendo quantidades de extrato de guaraná na condição 1 e pH 5,5. ....   | 33 |
| Figura 11 - Espectros eletrônicos para síntese de AgNPs realizadas em meio reacional com pH 5,5, em condições de extrato vegetal 1 (A), 2 (B) e 3 (C). ....  | 35 |
| Figura 12 - Síntese de AgNPs em diferentes concentrações de extrato de guaraná e tempo de reação, sendo a condição 2 com 1h de reação em pH 5,5 (A); pH 7,0 (B); pH 9,0 (C) e condição 3 com sedimentos no fundo béquer em 21 dias em pH 5,5 (D). .... | 38 |
| Figura 13 - Absorbância máxima da banda RPS das diferentes condições de extrato de guaraná em função do tempo. A) pH 5,5; B) pH 7,0; C) 9,0. ....  | 40 |
| Figura 14 - Espectro eletrônico para síntese de AgNPs realizadas em meio reacional com pH 7,0 em condição 2 de extrato de guaraná. ....  | 41 |
| Figura 15 - Espectro eletrônico para a síntese realizada em meio reacional com pH 9,0 para a condição 1 (A) e 2 (B). ....  | 42 |
| Figura 16 - Estrutura da cafeína e seus respectivos sítio de reação. ....  | 44 |
| Figura 17 - Espectro eletrônico para a condição de síntese 1 realizada em meio reacional com pH 9,0 para a condição 50 °C (A) e 70 °C (B). ....  | 46 |

|   |    |
|---|----|
| Figura 18 - Espectro eletrônico para a condição 2 de síntese realizada em meio reacional com pH 9,0 para a condição 50 °C (A) e 70 °C (B). .....  | 47 |
| Figura 19 - Mecanismo proposto para compostos fenólicos presentes no extrato de guaraná com base em mecanismos encontrados na literatura. ....  | 48 |
| Figura 20 - Imagens TEM para AgNPs obtidas mediante condição 1 de diluição de extrato, temperatura ambiente e pH 5,5. ....  | 49 |
| Figura 21 - Análise EDS, sendo espectro EDS referente ao “espectro 1” (A), localização do espectro (B) e mapeamento dos elementos (C, D, E, F e G). ....  | 50 |
| Figura 22 - Imagem TEM para AgNPs obtidas mediante condição 1 de diluição de extrato, temperatura ambiente e pH 9,0. ....   | 51 |
| Figura 23 - Espectro EDS para AgNPs obtidas mediante síntese em pH 9,0 em condição 1 de diluição de extrato de guaraná à temperatura ambiente. ....   | 51 |
| Figura 24 - Imagem TEM para AgNPs obtidas mediante condição 2 de diluição de extrato aquoso de guaraná, temperatura ambiente e pH 9,0 (A) e Imageamento TEM para AgNPs obtidas com o aumento de temperatura, em pH 9,0 e condição 2 de diluição de extrato vegetal (B). ....  | 52 |
| Figura 25 - Resultado das AgNPs em diferentes condições submetidas em diferentes microrganismos, sendo condição 1 de diluição de extrato em pH 9,0 (1), condição 2 em pH 9,0 (2), condição 1 em pH 7 (3), condição 2 em pH 7,0 (4) e condição 1 em pH 5,5, todas produzidas em T. ambiente. Microrganismos <i>S. aureus</i> (A, B e C), <i>E. coli</i> (D, E e F) e <i>Salmonella</i> sp. (G, H, I). .... | 55 |
| Figura 26 - Antibiograma contendo discos emergidos em: extrato aquoso de guaraná (1), solução aquosa de AgNO <sub>3</sub> , solução de AgNPs produzidas em condição 2 em pH 9,0 à 70 °C e antibiótico (4). ....   | 57 |



## LISTA DE TABELAS

|   |    |
|---|----|
| Tabela 1 - Equipamentos e materiais utilizados para a produção, caracterização das AgNPs e ensaio antimicrobiano..... | 24 |
| Tabela 2 - Reagentes utilizados para a produção, caracterização das AgNPs e ensaio antimicrobiano.....                | 25 |
| Tabela 3 – Microrganismos utilizados no ensaio antimicrobiano.....  | 25 |
| Tabela 4 - Análise DLS e potencial Zeta de AgNPs produzidas sob diferentes condições de síntese.....                  | 54 |
| Tabela 5 - Atividade antimicrobiana das AgNPs .....   | 56 |

## LISTA DE ABREVIATURAS

|   |
|---|
| AgNPs - Nanopartículas de prata                       |
| DLS - Espalhamento de luz dinâmico                    |
| EDS - Espectroscopia de energia dispersiva de raios-X |
| MNPs - Nanopartículas metálicas                       |
| NPs - Nanopartículas                                  |
| pH - Potencial hidrogeniônico                         |
| ROS - espécies reativas de oxigênio                   |
| RPS - Ressonância de <i>plasmon</i> de superfície     |
| T - Temperatura                                       |
| TEM - Microscopia eletrônica de transmissão           |
| UV-Vis - Ultravioleta-visível                         |

## SUMÁRIO

|       |   |    |
|-------|---|----|
| 1.    | INTRODUÇÃO.....   | 11 |
| 2.    | REFERENCIAL TEÓRICO.....  | 13 |
| 2.1   | Nanopartículas de prata (AgNPs).....  | 13 |
| 2.2   | Potencial biocida das AgNPs .....   | 14 |
| 2.3   | Métodos de síntese de nanopartículas metálicas .....  | 16 |
| 2.4   | Influência dos parâmetros físico-químicos na síntese de AgNPs mediada por extratos vegetais .....   | 18 |
| 2.5   | Espectroscopia de absorção molecular na região do UV-Vis na caracterização de AgNPs .....   | 19 |
| 2.6   | Atividade antimicrobiana em relação aos formatos e tamanhos da AgNPs.....   | 19 |
| 2.7   | Potencial de extratos aquosos de guaraná na síntese de AgNPs .....  | 21 |
| 3.    | OBJETIVOS.....  | 23 |
| 3.1   | Objetivo Geral .....  | 23 |
| 3.2   | Objetivos Específicos .....   | 23 |
| 4.    | METODOLOGIA .....   | 24 |
| 4.1   | Equipamentos e materiais de laboratório .....   | 24 |
| 4.2   | Métodos.....  | 25 |
| 4.2.1 | Preparação do extrato aquoso de guaraná .....   | 25 |
| 4.2.2 | Síntese das nanopartículas de prata (AgNPs).....  | 26 |
| 4.2.3 | Monitoramento da síntese das nanopartículas de prata (AgNPs).....   | 27 |
| 4.2.4 | Microscopia eletrônica de transmissão (TEM) e Espectroscopia de energia dispersiva de raios-X (EDS) .....   | 27 |
| 4.2.6 | Ensaio de halo de inibição .....  | 28 |
| 5.    | RESULTADOS E DISCUSSÃO .....  | 28 |
| 5.1   | Caracterização do extrato aquoso de guaraná mediante espectroscopia eletrônica UV-Vis .....   | 28 |
| 5.2   | Produção de AgNPs mediada por extrato aquoso de guaraná.....  | 31 |
| 5.3   | Efeito da concentração do extrato vegetal na produção das AgNPs .....   | 34 |
| 5.4   | Efeito do pH na síntese das AgNPs.....  | 37 |
| 5.5   | Síntese AgNPs em temperaturas elevadas.....   | 45 |
| 5.6   | Provável mecanismo de síntese de AgNPs mediada por extrato aquoso de guaraná.....   | 48 |
| 5.7   | Microscopia eletrônica de transmissão (TEM), Espectroscopia de energia dispersiva de Raio-X (EDS) Espalhamento de luz dinâmico (DLS) e potencial Zeta (mV)..... | 49 |
| 5.8   | Avaliação do ensaio microbiológico .....  | 54 |
| 6.    | CONCLUSÃO.....  | 58 |
| 7.    | REFERÊNCIAS .....   | 59 |

## 1. INTRODUÇÃO

A nanotecnologia é a ciência que explora, produz e manipula nanoestruturas investigando propriedades únicas que dimensões nanométricas possuem em relação às partículas macro e micrométricas, aprimorando suas características e conferindo novas funcionalidades (JEEVANANDAM *et al.*, 2018). O desenvolvimento da nanotecnologia permitiu a criação de uma diversidade de nanomateriais e nanodispositivos (SARKAR; SARKAR, 2019), sendo que nas últimas décadas a importância dessa ciência é refletida em áreas biomédicas, ambientais, eletrônicas e magnéticas (YADI *et al.*, 2018). O atrativo ao se trabalhar com nanopartículas (NPs) advém de características como a alta área de superfície, o que permite a facilidade de interação com outros sistemas (PANTIDOS; HORSFALL, 2014), aumentando o potencial para aplicações multifuncionais (WANG *et al.*, 2017).

A nanociência e a nanotecnologia apresentam suas origens em um passado remoto no qual se faziam uso dessa ciência, embora sem ter o nível de conhecimento da atualidade (ABDUSSALAM-MOHAMMED, 2019). Nanopartículas de cobre, ferro e ouro eram conhecidas na Índia como agentes terapêuticos na forma de *Bhasmas* e com outros componentes, sendo o *Bhasma* de ouro usado para a cura de diabetes, asma brônquica, artrite reumatoide e desordem nervosa (YADAV; UPADHYAY, 2020). No século IV D.C, nanopartículas foram utilizadas pelos romanos na fabricação do cálice de Licurgo (*Lycurgus cup*) e atualmente tem-se o entendimento que os efeitos coloridos visualizados em determinadas condições de iluminação são decorrentes da presença de nanopartículas de prata e ouro incorporadas ao vidro (BAYDA *et al.*, 2020).

Na atualidade, um grupo amplamente estudado de nanomateriais que apresenta diversidade em seu uso são as nanopartículas metálicas (MNPs), e dentre elas, as nanopartículas de prata (AgNPs) são investigadas especialmente por apresentarem propriedades antibacterianas (ABBASI *et al.*, 2016). A resistência de novas cepas de bactérias aos antibióticos tornou-se uma problemática bastante discutida no presente, de forma que o incentivo para o desenvolvimento de pesquisa e fabricação de nanomateriais bactericidas vem a ser cada vez mais oportuna (ALNAYLI; AL HAMADANI; YASEEN, 2017). Compostos à base de prata exibem forte efeito biocida para uma grande variedade de microrganismos, no entanto, quando estão em forma de nanopartículas, este efeito é potencializado em razão do

grande aumento de área superficial disponível para o microrganismo ser exposto, resultando em sua morte (PRABHU; POULOSE, 2012).

A síntese de nanopartículas pode ser realizada de modo sintético ou biológico e exibem duas abordagens. Na abordagem *top-down* (de cima para baixo) o material macroscópico é fragmentado até atingir tamanho nanométrico através de diferentes técnicas como por exemplo, evaporação-condensação, ablação à laser, irradiação elétrica, irradiação gama e litografia (GÜZEL; ERDAL, 2018). Já na abordagem *bottom-up* (de baixo para cima), as nanopartículas são sintetizadas utilizando principalmente métodos químicos e biológicos, construindo a estrutura átomo por átomo até atingir a escala nanométrica (RAFIQUE *et al.*, 2017). O método biológico, no qual se utiliza bactérias, fungos e extratos de plantas, é uma alternativa interessante e ecologicamente mais correta que o método químico na abordagem *bottom-up* (NADAROGLU; GÜNGÖR; SELVI, 2017), pois sua síntese não emprega produtos potencialmente nocivos ao meio ambiente e aos seres humanos. Essa rota também se torna interessante em comparação à abordagem *top-down*, uma vez que esses métodos consomem grande quantidade de energia, resultam em baixa quantidade de nanopartículas e alta variabilidade quanto à forma e tamanho das estruturas produzidas (BEYENE *et al.*, 2017).

O uso de extratos vegetais viabiliza a síntese de nanopartículas metálicas por ser um processo inovador e requer equipamentos de baixo custo para a sua produção. Componentes presentes nos extratos vegetais, como polissacarídeos, proteínas, aminoácidos, ácidos orgânicos e outros metabólitos secundários como polifenóis, flavonoides, terpenoides, alcaloides, taninos e substâncias alcoólicas podem atuar tanto como agentes redutores da prata catiônica quanto agentes estabilizantes (*capping agents*) das nanopartículas produzidas (ALI *et al.*, 2020).

Nesse contexto, o guaraná (*Paullinia cupana* var. *sorbilis*) é uma planta de origem amazônica e sua produção está associada, primordialmente, ao território do baixo Amazonas, sendo que ao longo dos anos tem se expandido para outras regiões brasileiras (TRICAUD; PINTON; PEREIRA, 2016). O guaraná é comercializado na forma de grão torrado, moldado em forma de bastão ou xaropes, com 70% de sua produção destinada à indústria de refrigerantes e o restante se distribui para o mercado externo e interno (DA SILVA *et al.*, 2017). O guaraná é uma planta rica em diversos compostos bioativos, como as metilxantinas, saponinas, taninos, catequinas, epicatequinas e proatocianinas (LIMA *et al.*, 2017). Em virtude da abundância desses constituintes, o guaraná se destacou no desenvolvimento de alimentos funcionais e suplementos alimentares, uma vez que, os benefícios de saúde estão diretamente relacionados à ingestão desses compostos (DA SILVA *et al.*, 2019). Substâncias bioativas presentes nas

plantas e extratos vegetais agregam capacidade de auxiliar a síntese de nanopartículas metálicas (MARSLIN *et al.*, 2018), portanto, as substâncias encontradas em extratos de guaraná podem atuar de forma a reduzir íons metálicos, além de contribuir para a estabilidade dessas nanoestruturas.

## **2. REFERENCIAL TEÓRICO**

### **2.1 Nanopartículas de prata (AgNPs)**

Os materiais em escala nanométrica se destacam por apresentarem propriedades e características físico-químicas superiores em comparação com os mesmos materiais em macro e microescala (KEÇILI; BÜYÜKTIRYAKI; HUSSAIN, 2019). A grande área de superfície em relação ao volume é uma das mais importantes propriedades que os nanomateriais possuem (AHMADI *et al.*, 2017), o que proporciona características ópticas específicas, assim como propriedades magnéticas, elétricas e químicas (PATHAKOTI; MANUBOLU; HWANG, 2018).

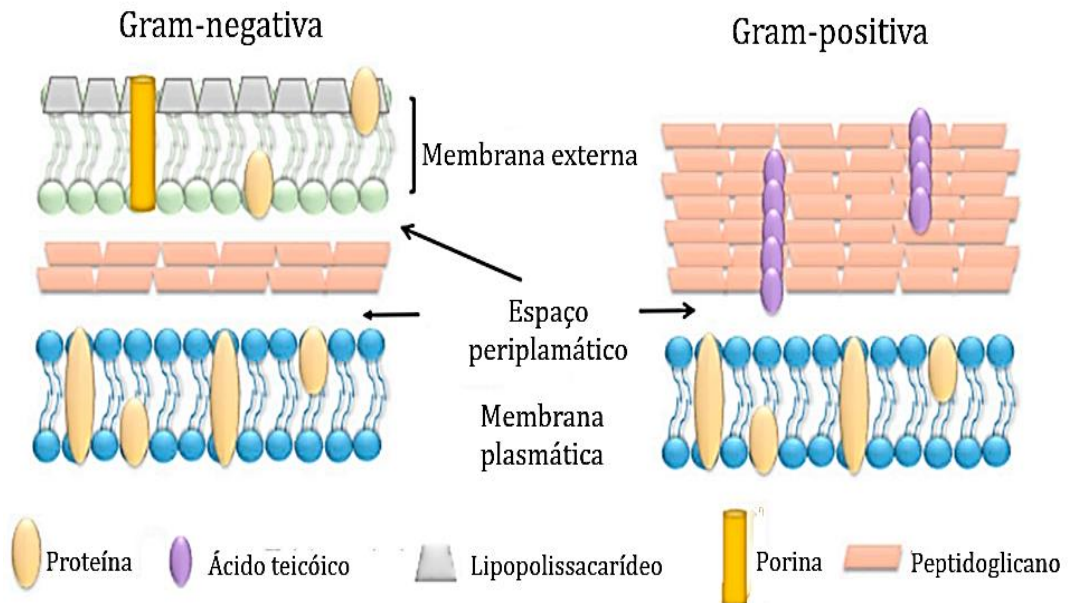
Entre uma ampla gama de nanomateriais, as nanopartículas metálicas têm atraído a atenção da comunidade científica por apresentarem variedade de aplicações em diversas áreas do conhecimento (ADIL *et al.*, 2015). Em destaque, as nanopartículas de prata exibem excelente estabilidade química e propriedades antifúngica e bactericida (LIAO; LI; TJONG, 2019). Por esse motivo, tecidos adquirem características antimicrobianas após serem revestidos com AgNPs, reduzindo a transmissão de doenças infecciosas (LIN *et al.*, 2018). As AgNPs podem ser utilizadas em áreas biomédicas com aplicação direta nas superfícies de próteses, dispositivos médicos, queimaduras e feridas para inibir infecções bacterianas e até mesmo acelerar a cicatrização de ferimentos (PALLAVICINI *et al.*, 2017).

## 2.2 Potencial biocida das AgNPs

Recentemente, a investigação sobre a interação entre bactérias e nanopartículas tem ganhado grande relevância em estudos que abordam a resistência aos antibióticos e a grande capacidade de colonização das superfícies, o que possibilita a formação de biofilmes e o risco de infecções (PAJERSKI *et al.*, 2019). A primeira barreira que um agente antimicrobiano deve ultrapassar quando ocorre interação é a parede celular bacteriana, com o peptidoglicano sendo seu principal constituinte. Em bactérias Gram-positivas, essa camada se posiciona externamente à parede celular e é bastante espessa (CHRISTOFFERSON *et al.*, 2020). Por outro lado, as bactérias Gram-negativas exibem maior complexidade estrutural, pois possuem duas membranas lipídicas distintas e uma fina camada de peptidoglicano entre elas (TAVARES *et al.*, 2020), como demonstra a Figura 1 - A. O mecanismo de ação das AgNPs contra bactérias exibe complexidade para o desenvolvimento de resistência bacteriana, principal vantagem quando se compara aos medicamentos tradicionais. Isso ocorre porque a interação entre as AgNPs e as bactérias pode ocorrer de variadas formas, como pelo bloqueio do processo de respiração celular, interação com DNA bacteriano e indução de sua degradação, interação com enzimas responsáveis pelo ciclo energético celular ou interrompendo a função de proteínas, além de poder induzir a ruptura da parede celular (PRASAD *et al.*, 2017), como observado na Figura 1 - B.

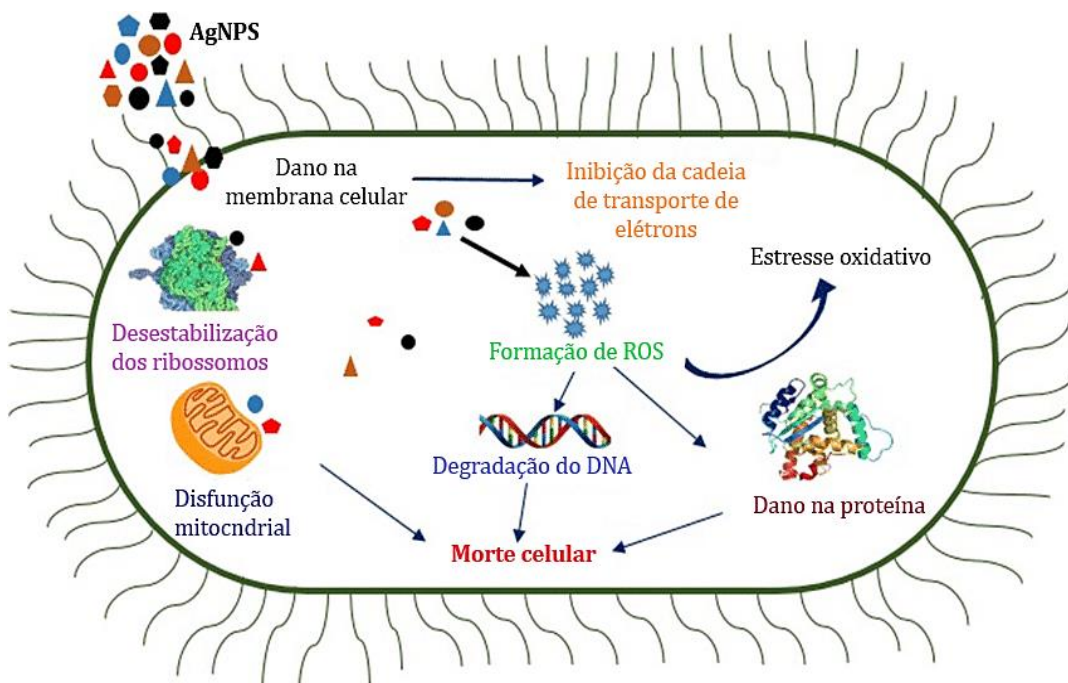
**Figura 1** - Representação da diferença estrutural entre bactérias Gram-positivas e Gram-negativas (A); mecanismo de ação das AgNPs contra a proliferação bacteriana (B).

(A)



Fonte: Adaptado de Fanoro; Oluwafemi (2020).

(B)



Fonte: Rahman *et al.* (2019).

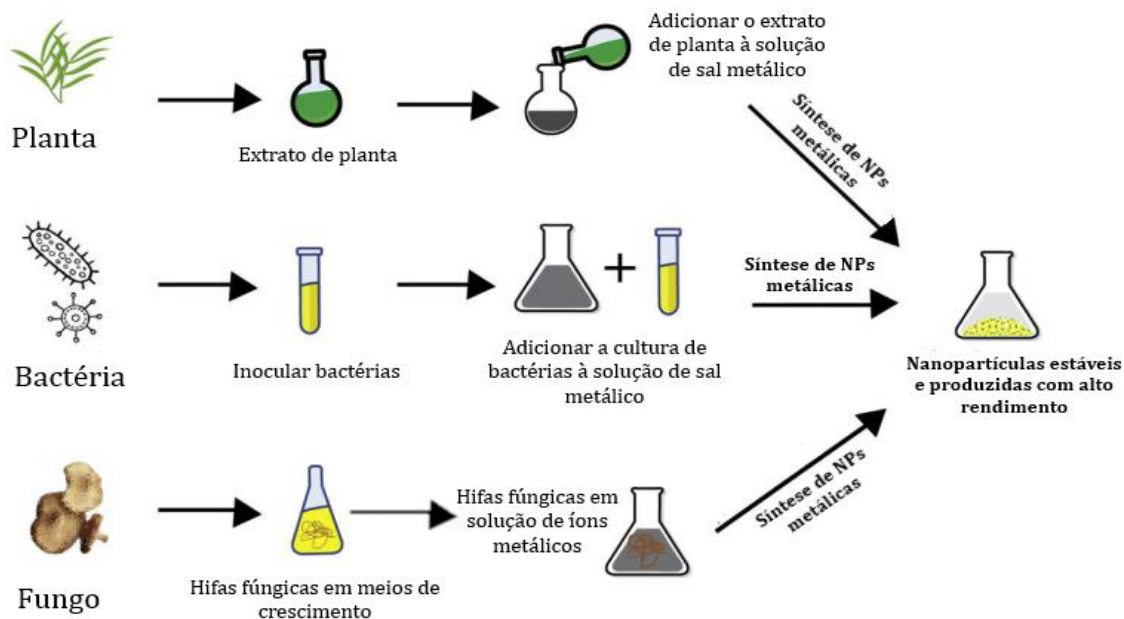
O potencial biocida das AgNPs abrange diferentes tipos de patógenos, como por exemplo em fungos produtores de esporos. Estudos relatam que as AgNPs podem atuar como fungicidas menos tóxicos do que fungicidas sintéticos (KHEZERLOU *et al.*, 2018). Em síntese, um dos mecanismos de ação proposto ocorre por inibição do crescimento celular em fungos através da interação das nanoestruturas com as bombas de prótons, danificando e causando a desnaturação da proteína da superfície fúngica (NISAR *et al.*, 2019). Os tratamentos médicos com agentes antifúngicos também enfrentam desafios devido ao surgimento de cepas resistentes a medicamentos e apesar de menos frequentes, as doenças causadas por fungos exibem alta patogenicidade (AMEEN *et al.*, 2018). Logo, quando AgNPs são utilizadas para fins biomédicos deve-se evitar qualquer possível toxicidade originada durante a síntese. Nesta perspectiva, a síntese verde se apresenta como uma alternativa interessante para produção de nanopartículas (PALLAVICINI *et al.*, 2017).

### **2.3 Métodos de síntese de nanopartículas metálicas**

As nanopartículas metálicas podem ser sintetizadas através de diferentes métodos, como pirólise, abrasão e redução química. No entanto, esses métodos apresentam deficiências como alto custo, baixa taxa de produção, alta necessidade de energia, além da utilização de produtos potencialmente nocivos à saúde humana e ao meio ambiente, o que limita suas aplicações em diversas áreas (HAFEEZ *et al.*, 2020; PIRTARIGHAT; GHANNADNIA; BAGHSHAHI, 2019). Como alternativa às desvantagens que os métodos químicos e físicos possuem, as abordagens baseadas nos preceitos da Química Verde resultam em processos sustentáveis por utilizarem produtos e materiais ambientalmente menos danosos (ALSAMMARRAIE *et al.*, 2018), se baseando em três características importantes: uso de solventes verdes, uso de um agente redutor ecologicamente menos nocivo e o uso de um agente não tóxico como estabilizador (NAYAK *et al.*, 2016). Conforme a Figura 2, a síntese verde pode empregar enzimas, bactérias, fungos e extratos de plantas no processo de síntese de nanopartículas (SANDHU; SHUKLA; SHUKLA, 2017). Em particular, os extratos vegetais apresentam uma mistura de diferentes tipos de biomoléculas que proporcionam estabilidade para as nanopartículas produzidas (SINGH *et al.*, 2020).



**Figura 2** - Representação dos diferentes métodos alternativos de síntese de nanopartículas metálicas.



Fonte: Adaptado de Singh *et al.* (2020).

A possibilidade de investigar metodologias que envolvem extratos de plantas na síntese de nanopartículas metálicas foi abordada em um dos estudos iniciais reportados por Gardea-Torresdey *et al.* (2003). Os autores relataram a formação de nanopartículas de prata através de um sistema de plantas, demonstrando a capacidade das raízes da alfafa (*Medicago sativa*) absorverem  $Ag^0$  do meio no qual estavam inseridas e, seguidamente, ocorreu a transferência da  $Ag$  no mesmo estado de oxidação para o broto da planta, resultando em uma organização dos átomos de prata que deram origem a um sistema nanoparticulado.

Neste sentido, a compreensão sobre o potencial de metodologias que envolvem uso de extratos vegetais na síntese de nanopartículas de prata é demonstrada em estudos iniciais que abordaram essa temática. Os autores Shankar, Ahmad e Sastry (2003) evidenciaram que a utilização de extratos de folhas de gerânio (*Pelargonium graveolens*) na formação de nanopartículas resultou em uma significativa redução de íons prata. Neste estudo, os autores afirmaram que a taxa de redução foi mais rápida quando comparada à utilização de uma determinada espécie de fungo na síntese de nanoestruturas, de modo que a metodologia de biossíntese de nanopartículas metálicas pode atingir taxas de síntese comparáveis às dos métodos químicos convencionais.

## 2.4 Influência dos parâmetros físico-químicos na síntese de AgNPs mediada por extratos vegetais

O rendimento e a taxa de produção são parâmetros de extrema relevância quando se refere à síntese verde de nanopartículas metálicas, e logo, a condição de biorredução no decorrer da síntese é uma variável crítica. A concentração do extrato vegetal e da fonte de íons prata (usualmente o nitrato de prata ( $\text{AgNO}_3$ )), o pH e a temperatura devem ser controlados e otimizados para cada sistema, pois são fatores que podem afetar o tamanho, a morfologia das NPs e a velocidade da reação (SOOD; CHOPRA, 2018).

Diversos trabalhos buscam evidenciar a relação da concentração do extrato (em função da disponibilidade de biomoléculas presentes) com a forma final das nanopartículas. Segundo o estudo de Dong *et al.* (2016), o tamanho, a dispersibilidade, a distribuição e a forma das nanopartículas são influenciadas pela quantidade de extrato vegetal, assim como apontou que a crescente concentração de  $\text{AgNO}_3$  reflete em um aumento no tamanho das nanopartículas. O tempo de contato entre o extrato vegetal com a solução de metal é outro fator que está vinculado à biorredução dos íons metálicos, de forma que, esse tempo está correlacionado à disponibilidade dos agentes redutores presentes na síntese dos nanoparticulados (OMOBAYO ADIO *et al.*, 2016).

Da mesma forma, a dependência do pH da solução quanto ao tamanho das nanopartículas sintetizadas através da abordagem da síntese verde é amplamente discutida em diferentes estudos que afirmam sua influência na quantidade de nanopartículas produzidas e em sua estabilidade. Observações sobre o aumento de pH do meio reacional, quando comparadas a síntese de nanopartículas em meio ácido indicam um aumento da velocidade de reação de redução do cátion prata, assim como produziram nanopartículas de tamanhos menores e esféricas. Considerando que diferentes extratos exibem diferentes valores de pH, em meio básico, há uma maior quantidade de grupos funcionais disponíveis capazes de se ligar a prata e, por consequência, formar um grande número de nanopartículas com diâmetro reduzido (IRAVANI; ZOLFAGHARI, 2013; SOOD; CHOPRA, 2018).

Diversos trabalhos sugerem que o aumento na taxa de reação e a formação de centros de nucleação das NPs estão relacionados ao aumento da temperatura de síntese (SINGH *et al.*, 2020). A temperatura é um dos fatores que mais influenciam o tamanho e a forma das nanoestruturas, por consequência, há um número crescente de revisões que avaliam o efeito da

temperatura na síntese de AgNPs. A elevação desse parâmetro promove um aumento de energia cinética dos reagentes, refletindo em uma aceleração na taxa de redução dos íons metálicos e provocando uma produção elevada de NPs, além de influenciar de forma crucial sua morfologia e o seu tamanho (CHUNFA *et al.*, 2018; NAGAR; DEVRA, 2018), resultando em formas mais homogêneas e em uma menor possibilidade de crescimento do tamanho das estruturas (JAIN; MEHATA, 2017).

## **2.5 Espectroscopia de absorção molecular na região do UV-Vis na caracterização de AgNPs**

A caracterização de nanopartículas, de modo geral, é realizada com relação à sua forma, tamanho, área de superfície e índice de polidispersividade (SOOD; CHOPRA, 2018). A espectroscopia de absorção molecular na região do Ultravioleta-Visível (UV-Vis) é um método comumente utilizado para caracterizar as propriedades ópticas e eletrônicas das nanopartículas. A propriedade óptica que se resulta da interação entre o campo eletromagnético da luz com as nanopartículas metálicas é denominada como ressonância de *plasmon* de superfície (RPS), podendo ser observada na faixa do visível para três metais na forma de nanoestruturas: ouro, cobre e prata. À vista disso, o ambiente dielétrico, o tamanho e a forma das nanopartículas metálicas determinam a posição espectral de absorção da banda, assim como sua largura, tornando a técnica bem consolidada em diversos estudos que investigam as variações das bandas RPS (AMENDOLA; BAKR; STELLACCI, 2010; SMITHA *et al.*, 2008; WANG *et al.*, 2019).

## **2.6 Atividade antimicrobiana em relação aos formatos e tamanhos da AgNPs**

A caracterização das NPs está intimamente relacionada ao seu potencial antimicrobiano, uma vez que o mecanismo antibacteriano é influenciado pelo tamanho, forma, carga de superfície e concentração das AgNPs (SINGH; MIJAKOVIC, 2022). Em consenso, diversos autores apontaram que a diferença na capacidade antibacteriana pode ser compreendida do

ponto de vista da área de superfície das nanoestruturas metálicas. Estudos iniciais sobre a atividade biológica das AgNPs com formas variadas foi avaliada por Pal, Tak e Song (2007) comparando NPs esféricas, em bastonete e triangulares truncados, em que AgNPs em formato triangulares de tamanho médio de 40 nm apresentaram melhor atividade antibacteriana para *Escherichia coli* em comparação ao formato esférico.

Apesar da ideia de MNPs em formatos triangulares truncados apresentarem forte efeito microbicida ser bem consolidada, trabalhos recentes demonstram que NPs esferoidais apresentam forte ação antibacteriana mesmo comparada à outros formatos. Cheon *et al.* (2019) avaliou a atividade antibacteriana para três morfologias de AgNPs (esférica, disco e placa triangular) utilizando três microrganismos (*Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* e *Pseudomonas aeruginosa*). As NPs em formato esférico demonstraram maior ação antimicrobiana devido sua atividade ser em função da liberação de íons  $\text{Ag}^+$  das NPs ( $\text{Ag}^0$ ), relacionando seus resultados à dependência da quantidade de íons  $\text{Ag}^+$  liberados e área de superfície, em que a área de superfície total foi maior para NPs em forma esferoidal. Logo, AgNPs com tamanhos reduzidos em formatos esféricos ou quase esféricos são mais suscetíveis à liberação de íons  $\text{Ag}^+$  dentro da célula bacteriana devido à sua maior área superficial (AHMAD *et al.*, 2020; BARABADI *et al.*, 2021).

Sob a perspectiva da Química Verde, a atividade antimicrobiana vem sendo bastante avaliada, correlacionando formatos e tamanhos de MNPs produzidas. À vista disso, os autores Vishwanath e Negi (2021) relatam a predominância de formatos esferoidais com tamanhos médios entre 15-40 nm para AgNPs formadas mediante síntese verde com atividade microbicida para bactérias Gram-positivas e Gram-negativas, em concordância com Restrepo e Villa (2021), em que os autores sugerem que essa morfologia prevaleça devido às diferenças na ligação de biomoléculas presentes em extratos vegetais com a superfície das AgNPs. Adicionalmente, as modificações nas superfícies dessas nanoestruturas causadas por moléculas orgânicas, as quais podem atuar como agentes estabilizadores podendo reduzir a agregação, podem aumentar a liberação de íons  $\text{Ag}^+$ , melhorando as atividades de dissolução das AgNPs, o que reflete na ação antibacteriana (AHMAD *et al.*, 2020).

## 2.7 Potencial de extratos aquosos de guaraná na síntese de AgNPs

A bioatividade dos extratos de plantas vem sendo exponencialmente investigada na síntese de NPs, o que possibilita explorar a ampla biodiversidade da flora brasileira. O guaraná (*Paullinia cupana*), apresentada na Figura 3, pertence à família das plantas Sapindaceae, sendo nativa da região amazônica, sua versatilidade inclui efeitos biológicos que vem sendo o principal foco de investigações de suas ações farmacológicas (ARAÚJO *et al.*, 2021).

Figura 3 - Imagem da fruta do guaranazeiro.



Fonte: Salomão-Oliveira (2018).

As propriedades funcionais associadas ao guaraná, como ação termogênica, antioxidante, antimicrobiana e energética são atribuídas aos compostos orgânicos presentes em sua composição fitoquímica (CARVALHO *et al.*, 2016; MARQUES *et al.*, 2019), como a cafeína em grande quantidade, teobromina e a teofilina, como mostrado na Figura 4, além dos taninos condensados (SANTANA; MACEDO, 2019). As metilxantinas possuem em sua composição átomos com pares de elétrons livres, como nitrogênio e oxigênio, que apresentam potencial na complexação com íons metálicos (BANDEIRA *et al.*, 2020; ROLIM *et al.*, 2019).

**Figura 4** - Estruturas químicas das metilxantinas presentes no guaraná.



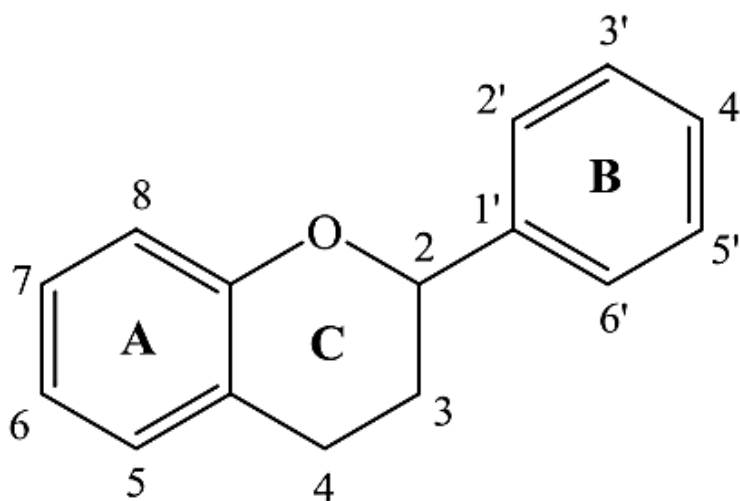
**Fonte:** Novaki *et al.* (2021).

As investigações que refletem a bioatividade dos flavonoides em relação à síntese de NPs sugerem que os grupos funcionais presentes em suas estruturas atuam como agentes redutores. Afirmando essa capacidade de interação, Hussain *et al.* (2019) demonstraram a capacidade de grupos funcionais, como hidroxila e carbonila, auxiliarem na redução de íons metálicos para a formação de nanopartículas.

O guaraná também possui quantidade significativa de flavan-3-óis quando se compara a outros compostos presentes, sendo elas a catequina e a epicatequina (SANTIAGO-MEDINA *et al.*, 2017). Os flavonoides são compostos polifenólicos e sua estrutura é composta por dois anéis benzênicos ligados a um anel heterocíclico (MALEKI; CRESPO; CABANILLAS, 2019). A estrutura química básica dos flavonoides, como mostrado na Figura 5, é composta pelo anel A aromático fundido a um anel C heterocíclico, ligado através de uma ligação carbono-carbono ao anel B (UIVAROSI; MUNTEANU, 2017).

O número de grupos hidroxila e a estrutura dos flavonoides são importantes para a interação com os metais. Em relação aos flavonóis, devido à estrutura orto-diidroxila no anel A ou B (catecol) que fornece um sistema de conjugação  $\pi$  e a porção hidroxila na posição 3 anel C, esses compostos apresentam potencial para síntese de AgNPs, além de auxiliar a estabilização dos nanoparticulados (HUANG; CHENG, 2018).

**Figura 5** - Estrutura básica de uma molécula de flavonoide.



**Fonte:** Šimunková *et al.* (2020).

### **3. OBJETIVOS**

#### **3.1 Objetivo Geral**

Obter nanopartículas de prata através da síntese mediada por extratos aquosos de guaraná em diferentes condições de síntese e verificar a atividade microbicida dos colóides metálicos preparados.

#### **3.2 Objetivos Específicos**

- a) Obter os extratos de guaraná;
- b) Caracterizar o extrato vegetal por espectroscopia de absorção molecular na região do UV-Vis;
- c) Monitorar o progresso de síntese das nanopartículas por espectroscopia de absorção molecular na região do UV-Vis;

d) Estudar os parâmetros de reação (tempo de reação, relação entre quantidade de Ag<sup>+</sup> e extrato vegetal, pH e temperatura) através da espectroscopia de absorção molecular na região do UV-Vis;

e) Verificar a dimensão e estabilidade das nanopartículas obtidas pelas técnicas de espalhamento de luz dinâmico (DLS), potencial Zeta e microscopia eletrônica de transmissão (TEM);

f) Avaliar o potencial microbicida dos materiais preparados mediante testes antimicrobianos.

## 4. METODOLOGIA

### 4.1 Equipamentos e materiais de laboratório

Para executar as atividades do presente trabalho foram utilizados os seguintes equipamentos (Tabela 1) e reagentes químicos (Tabela 2).

**Tabela 1** - Equipamentos e materiais utilizados para a produção, caracterização das AgNPs e ensaio antimicrobiano.

| <b>Equipamento</b>            | <b>Modelo</b>      | <b>Fabricante</b> |
|-------------------------------|--------------------|-------------------|
| Agitador magnético/ aquecedor | CE-1540/A15        | Cienlab           |
| Balança Analítica             | AUY220             | Shimadzu          |
| Centrífuga                    | -                  | Centribio         |
| Espectrofotômetro             | UV-M51             | Bel               |
| Refrigerador                  | -                  | Electrolux        |
| Liquidificador                | LE45OFBR           | Black&Decker      |
| pHmetro                       | pH 140             | Simpla            |
| Capela de segurança biológica | Pa70               | Pachane           |
| Estufa de secagem             | Circulação natural | Ethik Technology  |
| Autoclave                     | AV 75              | BS equipamentos   |

Fonte: A autora (2023).



**Tabela 2** - Reagentes utilizados para a produção, caracterização das AgNPs e ensaio antimicrobiano.

| <b>Reagente</b>         | <b>Fórmula química</b> | <b>Procedência</b> |
|-------------------------|------------------------|--------------------|
| Guaraná                 | -                      | Maués - AM         |
| Hidróxido de sódio P.A  | NaOH                   | Biotec R.A.        |
| Nitrato de prata P.A    | AgNO <sub>3</sub>      | Laderquimica       |
| Caldo nutriente         | -                      | KASVI              |
| Ágar Mueller Hinton     | -                      | KASVI              |
| Amoxicilina 10 mcg      | -                      | Cecon              |
| Clo-clorafenicol 30 mcg | -                      | Cecon              |

**Fonte:** A autora (2023).

Os microrganismos utilizados nos testes de halo de inibição estão dispostos na Tabela 3.

**Tabela 3** – Microrganismos utilizados no ensaio antimicrobiano.

| <b>Microrganismos</b>        | <b>Código</b> |
|------------------------------|---------------|
| <i>Escherichia coli</i>      | ATCC 259232   |
| <i>Staphylococcus aureus</i> | ATCC 25923    |
| <i>Salmonella sp.</i>        | ATCC 14028    |

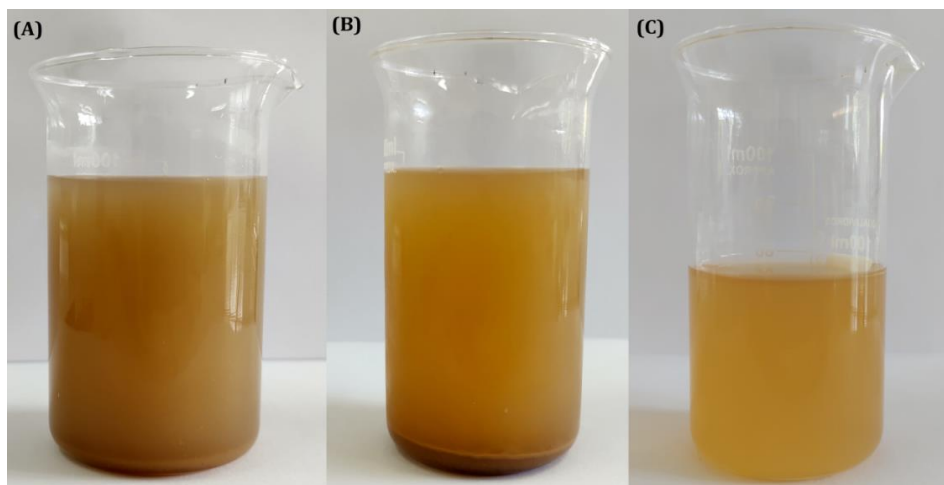
**Fonte:** A autora (2023).

## **4.2 Métodos**

### **4.2.1 Preparação do extrato aquoso de guaraná**

O pó do guaraná foi obtido no comércio local do município de Maués-AM. Inicialmente, 1 g do pó do guaraná foi disperso em 100 mL de água destilada e com auxílio de um liquidificador, a homogeneização ocorreu durante 10 min com a finalidade de aumentar a área superficial para melhor extração dos constituintes do guaraná como se observa na Figura 6 - A. A amostra foi posteriormente armazenada em geladeira por 24 h (Figura 6 - B), em seguida foi centrifugada a 3.000 rpm para que a presença de material insolúvel seja retirada (Figura 6 - C). A solução de extrato vegetal foi guardada em geladeira por até 1 semana após seu preparo.

**Figura 6** - Amostra homogeneizada (A); amostra acondicionada em geladeira por 24 h (B); extrato aquoso de guaraná (C).



**Fonte:** A autora (2022).

A caracterização para o extrato aquoso de guaraná foi realizada mediante monitoramento através da espectroscopia eletrônica UV-Vis, assim como monitoramento deste extrato vegetal em diferentes pHs, ajustados utilizando solução de NaOH 0,01 mol.L<sup>-1</sup>.

#### 4.2.2 Síntese das nanopartículas de prata (AgNPs)

Em béqueres revestidos com papel alumínio, para minimizar a fotoativação do nitrato de prata com a luz, foram adicionados 50 mL de solução aquosa de AgNO<sub>3</sub> de 1x10<sup>-4</sup> mol L<sup>-1</sup>. Posteriormente, 3 condições com concentrações distintas de extrato vegetal, sendo **condição 1** (2,5 mL de extrato + 2,5 mL de água destilada), **condição 2** (1,4 mL de extrato + 3,6 mL de água destilada) e **condição 3** (1,0 mL de extrato + 4,0 mL de água destilada) foram adicionadas nos béqueres contendo a solução aquosa de AgNO<sub>3</sub> sob agitação constante durante 24 h e temperatura ambiente (25- 30 °C).

Em relação aos ensaios de produção das nanoestruturas, foi utilizado 5,0 mL de extrato de guaraná em diferentes diluições em 50 mL de solução aquosa de AgNO<sub>3</sub>, de modo a totalizar um volume de mistura de 55 mL. Os meios reacionais foram ajustados para neutro e básico utilizando uma solução de NaOH 0,1 mol L<sup>-1</sup>. Para a síntese de AgNPs em condições 1 e 2 de extrato vegetal em pH 9,0 também foram investigadas as temperaturas do meio reacional de 50 e 70 °C.

### **4.2.3 Monitoramento da síntese das nanopartículas de prata (AgNPs)**

A evolução na produção das nanopartículas de prata foi acompanhada pela técnica da espectroscopia molecular de absorção na região do UV-Vis através do monitoramento da banda associada à ressonância de *plasmon* de superfície, localizada entre 350 a 600 nm (SAMPAIO; VIANA, 2018). Após o início do contato entre as soluções, foram retiradas alíquotas a cada hora nas primeiras 4 h de síntese, seguidamente, as análises foram realizadas nos tempos de 8, 24, 36, 48 h e 3-21 dias.

### **4.2.4 Microscopia eletrônica de transmissão (TEM) e Espectroscopia de energia dispersiva de raios-X (EDS)**

Através do microscópio JEOL modelo JEM 1400, operando a uma tensão de 120 kV, foi possível obter as imagens de microscopia eletrônica de transmissão (TEM). As amostras foram diluídas em água destilada e por gotejamento, a dispersão coloidal foi disposta em um porta-amostra de cobre de 400 mesh revestido com uma película de carbono (*lacey carbon*) até a evaporação da gota à temperatura ambiente após 24 h. O EDS é acoplado ao microscópio, possibilitando a ampliação e visualização da amostra em áreas determinadas, tais amostras foram preparadas sob mesmas condições para análise TEM.

### **4.2.5 Espalhamento de luz dinâmico (DLS) e análise de potencial Zeta**

A determinação do diâmetro hidrodinâmico e índice de polidispersividade das AgNPs foram realizados utilizando o equipamento Zetasizer NanoZS - Malvern Instruments. As amostras contendo AgNPs foram previamente diluídas em água ultrapura, em seguida, a análise DLS foi realizada utilizando um laser de hélio-nônio (4 mW) operando em 633 nm a um ângulo de 173 °. As medições foram realizadas em triplicata, em modo automático a 25 °C. O

potencial Zeta foi determinado manualmente em triplicata utilizando uma célula de eletroforese capilar DTS-1070.

#### **4.2.6 Ensaios de halo de inibição**

Para os testes antimicrobianos foram utilizados três microrganismos distintos, sendo: *Salmonella sp.*, *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus*. O procedimento ocorreu em 3 etapas. Na primeira etapa, os microrganismos foram inseridos em caldo nutriente e em seguida acondicionado na estufa a 37 °C por um período de 24 h, sendo 2 g de caldo nutriente em 200 mL de água destilada dissolvido mediante aquecimento e agitação. A segunda etapa consistiu na diluição dos microrganismos já cultivados até que se obteve o valor de absorbância igual a 0,03 no comprimento de onda de 600 nm, para depois realizar o procedimento de verter as bactérias no meio de cultura preparado utilizando a proporção de 36 g de ágar para 1 L de água destilada dissolvido por aquecimento e agitação, disseminando-o em placas de Petri estéreis. A etapa final consistiu em introduzir de forma organizada os discos *blanks* estéreis imersos nas dispersões de nanopartículas que apresentaram melhores características de estabilidade após a síntese, além do extrato de guaraná e solução aquosa de nitrato de prata (controles negativos), assim como a introdução do antibiótico (controle positivo) nas placas de Petri, em seguida foram incubadas por 24 h a 37 °C, posteriormente foram medidos os halos de inibição resultante do antibiograma. Os ensaios foram realizados em triplicata.

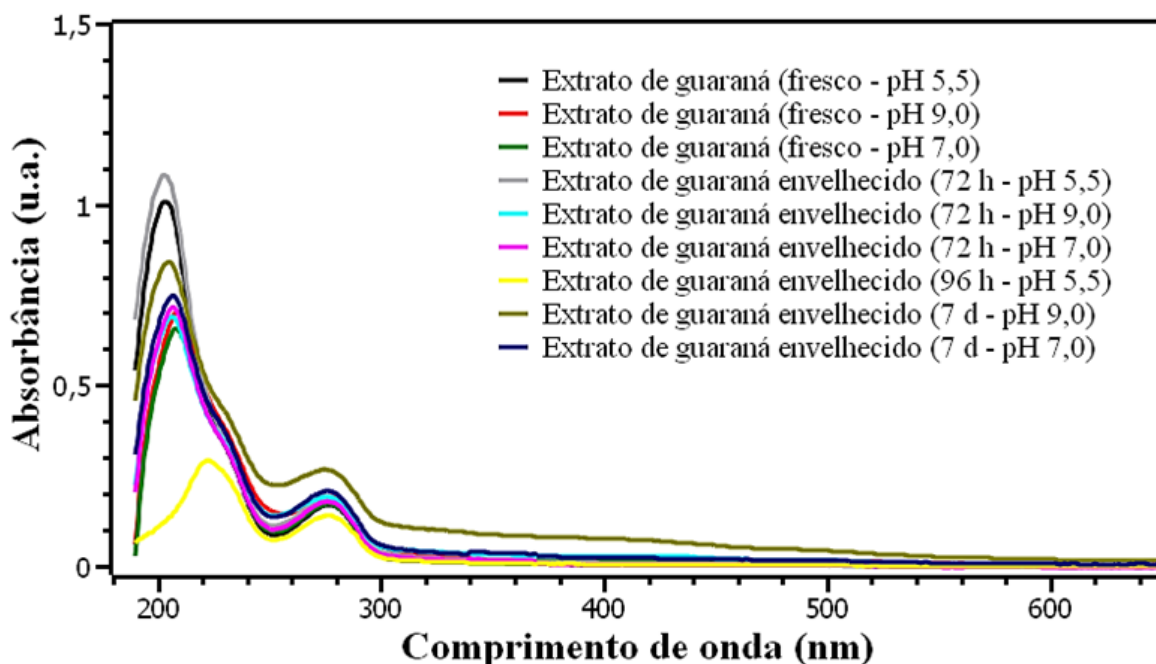
## **5. RESULTADOS E DISCUSSÃO**

### **5.1 Caracterização do extrato aquoso de guaraná mediante espectroscopia eletrônica UV-Vis**

Inicialmente, fez-se necessário o processo de monitoramento através da espectroscopia eletrônica UV-Vis para o extrato aquoso de guaraná para avaliação de seu perfil químico e determinação da validade do extrato após o seu preparo. O espectro mostrado na Figura 7 exibe duas bandas, uma banda intensa em uma faixa de 200 nm e a segunda banda moderada faixa de 280 nm. Com máximo de absorção próximo a 200 nm, a primeira banda está relacionada às

transições eletrônicas entre orbitais moleculares dos sistemas conjugados de anéis aromáticos do tipo  $\pi \rightarrow \pi^*$ , já a segunda banda situada em 280 nm está relacionada às transições eletrônicas  $n \rightarrow \pi^*$  (PAVIA *et al.*, 2010).

**Figura 7** - Espectros eletrônicos UV-Vis para o extrato aquoso de guaraná.



Fonte: A autora (2022).

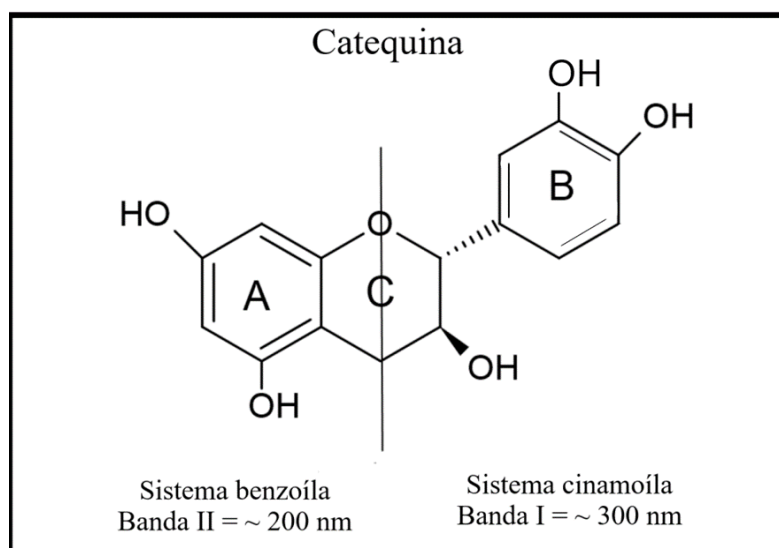
O extrato de guaraná contém uma grande quantidade de cafeína quando comparada às outras quantidades de metilxantinas presentes (TORRES *et al.*, 2022). Quando essa substância é analisada de forma isolada através da espectroscopia UV-Vis apresenta máximo de absorvância em uma faixa de 270 nm (HAGOS *et al.*, 2018; MUHAMMED; SEID; HABTE, 2021; NOVAKI *et al.*, 2021), podendo ser atribuída à transição eletrônica  $n \rightarrow \pi^*$  (KAMALAKANNAN *et al.*, 2017), uma vez que a cafeína apresenta grupos carbonila em sua estrutura.

A posição dos sinais quando realizada a caracterização por espectroscopia UV-Vis denotam informações importantes sobre as espécies absorventes presentes em extratos vegetais. Contudo, essa técnica quando aplicada de maneira individual fornece informações sobre as transições eletrônicas presentes nas estruturas das moléculas orgânicas, porém não é capaz de determinar a composição destas, uma vez que tais transições podem estar relacionadas a mais de um composto, podendo exibir sobreposições ou apresentar valores muito próximos de máximo/mínimo de absorção.

Estudos sobre flavonoides relatam dois principais máximos de absorção que correspondem ao sistema cinamoíla (Anel B - catecol) e benzoíla (Anel A) presentes em sua estrutura básica (SANTOS *et al.*, 2017). Tal comportamento referente ao espectro apresentado na Figura 7, sendo uma banda de menor intensidade em uma faixa de 300 nm que aparece como ombro de uma banda de alta intensidade a uma faixa de 200 nm, é um forte indicativo de presença de compostos flavonoídicos (DHIVYA; KALAICHELVI, 2017).

A composição química de extratos aquosos de guaraná foi demonstrada quantitativamente em diversos trabalhos que, em comum, indicam as concentrações de componentes majoritários. Os flavonoides representados como catequina e epicatequina são encontrados no guaraná em altas concentrações, principalmente quando extraídos em água à temperatura ambiente (MAJHENIČ; ŠKERGET; KNEZ, 2007; TORRES *et al.*, 2022). Conforme a Figura 8, suas estruturas podem estar relacionadas às bandas presentes no espectro eletrônico do guaraná, uma vez que estes flavonoides possuem transições eletrônicas do tipo  $\pi \rightarrow \pi^*$ , com máximos de absorção encontrados na literatura dentro destes comprimentos de onda (ATOMSSA; GHOLAP, 2015; BARK *et al.*, 2011; MAOELA *et al.*, 2009).

**Figura 8** - Estrutura da catequina relacionada às bandas presentes no espectro UV-Vis.



**Fonte:** Adaptado de Huang; Chen (2018); Bukhari *et al.* (2009); Feng; Hao; Li (2017).

Ainda de acordo com a Figura 7, nota-se que os extratos foram monitorados sem alteração do pH do extrato de guaraná, o qual apresentava pH de 5,5, e com a alteração do sistema, com os valores de pH sendo 7,0 e 9,0. Observa-se um deslocamento batocrômico em 96 h na região de 200 nm para aproximadamente 220 nm para o extrato com pH 5,5. Tal

comportamento é reportado como indicativo de degradação dos compostos orgânicos presentes em extratos vegetais, o que pode ser causada por diversos fatores, como: luz, exposição ao oxigênio, tempo e temperatura (ARAMPATH; DEKKER, 2019; CHAVES *et al.*, 2020; NISTOR *et al.*, 2022; RAMEŠOVÁ, 2012). Para os ensaios de síntese de AgNPs foram utilizados os extratos aquosos de guaraná em pH 5,5 em até 3 dias (72 h) de preparo, uma vez que além do monitoramento por espectroscopia eletrônica no UV-Vis, notou-se que em tempos maiores o extrato adquiriu mudança em sua coloração durante o armazenamento, realçando a baixa estabilidade dos flavonoides em período de tempo mais longos.

Estudos avaliativos sobre a concentração dos componentes majoritários do guaraná relatam o grau de estabilidade dessas biomoléculas mediante a extração ácida e básica. Desta forma, quando expostas às condições básicas, não há indícios de redução significativa no teor de metilxantinas, como a cafeína, diferentemente para os flavonoides, como a catequina e a epicatequina. Este fato poderá estar relacionado à oxidação da catequina que, contendo uma fração catecol, pode ser convertida em sua forma oxidada em solução aquosa denominada quinona (KIM; LEE; RYU, 2020; MACHADO, *et al.*, 2018). Ademais, o processo de aumento no pH implica em uma mudança de coloração amarelada mais rapidamente, o que foi observado para o extrato em pH 9,0 em relação ao pH 5,5, sendo um indicativo da transformação de álcoois para grupos ceto (TAN *et al.*, 2020). Entretanto, diferentes trabalhos indicam que existe a possibilidade deste ativo ser mantido proporcionalmente e não ser totalmente degradado, pois mantém uma concentração maior quando comparada ao ativo de forma isolada (ROGGIA *et al.*, 2020) em concordância com os espectros apresentados na Figura 7, onde não existem diminuições significativas de absorvância para os extratos submetidos ao aumento de pH.

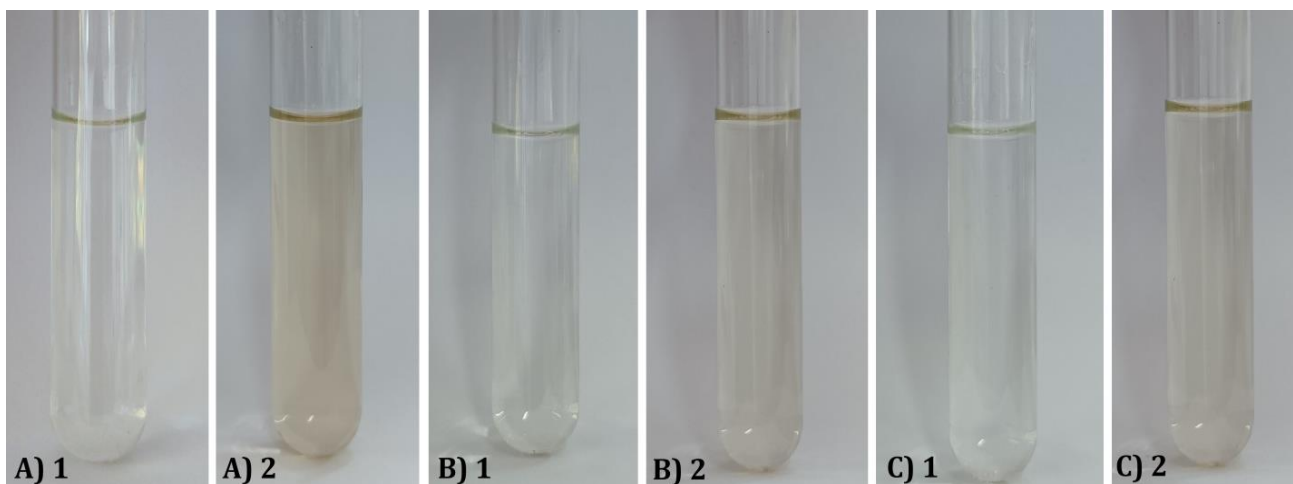
## **5.2 Produção de AgNPs mediada por extrato aquoso de guaraná**

À medida que ocorreu o avanço da reação em função do tempo entre a solução de AgNO<sub>3</sub> e extrato aquoso de guaraná em diferentes concentrações em pH 5,5 foi observado uma mudança de coloração do meio reacional, na qual passou de incolor para castanho claro, como demonstrado na Figura 9.

A mudança de coloração é atribuída à presença de nanopartículas metálicas (PU *et al.*, 2018), essa progressiva alteração na tonalidade da solução é proveniente da interação do campo eletromagnético da luz com o meio reacional, o que resulta na oscilação dos elétrons da banda

de condução, denominada de ressonância de *plasmon* de superfície (RPS) (AMIRJANI; FATMEHSARI, 2018). A coloração castanho é um indicativo da formação e presença de AgNPs no meio reacional (ELAMAWI; AL-HARBI; HENDI, 2018), desta maneira, a intensidade na coloração dos coloides metálicos em solução é dependente da concentração das AgNPs produzidas (BADI'AH *et al.*, 2019), assim como apresenta relação com tamanho e forma destes coloides metálicos (CAO *et al.*, 2010). Com o decorrer dos 21 dias uma notável mudança na intensidade e na coloração das soluções foi observada para as condições neste meio reacional.

**Figura 9** - Imagem do progresso reacional das AgNPs em pH 5,5 em diferentes concentrações de extrato de guaraná em 1 hora (1) e 24 horas (2): A) condição 1 B) condição 2 e C) condição 3.



**Fonte:** A autora (2022).

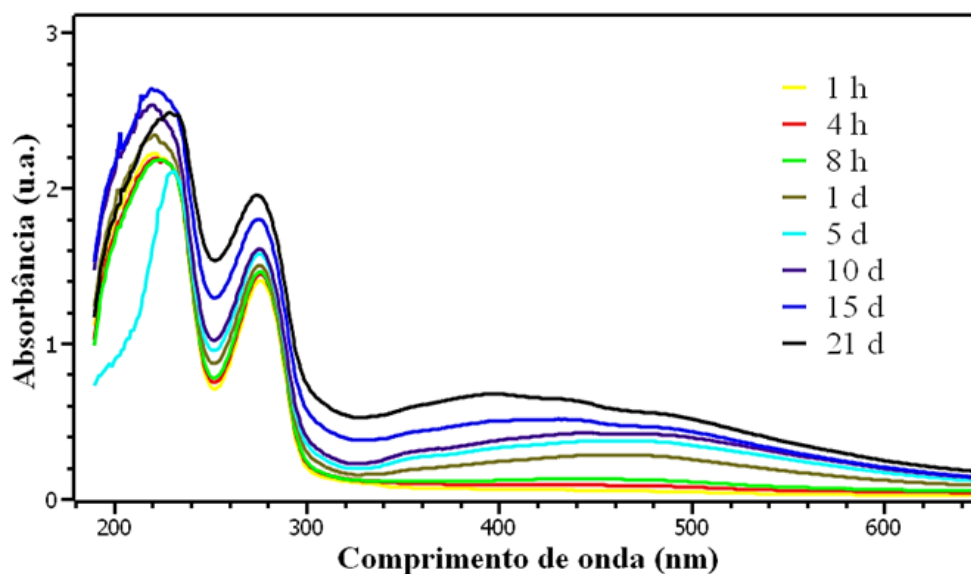
Os estudos iniciais de produção das AgNPs foram realizados sem alteração no pH do extrato de guaraná, o qual apresentava pH de 5,5. De acordo com os estudos realizados por espectroscopia eletrônica de absorção na região do UV-Vis foi possível acompanhar a presença e evolução da banda *plasmon* de superfície localizada entre 350 a 600 nm, característica das AgNPs (SAMPAIO; VIANA, 2018).

Na Figura 10, observa-se o progresso da banda plasmônica referente à síntese das nanoestruturas empregando maior concentração do extrato vegetal (condição 1). No decorrer dos 21 dias ocorreu um efeito hipercrômico, indicando que a reação não é instantânea, com máximo de absorbância próximo a 400 nm. Em geral, as bandas de RPS são influenciadas por fatores como tamanho, forma, morfologia, composição e ambiente dielétrico das nanopartículas (CANDAN *et al.*, 2021), diversos estudos realizados sugerem a formação de nanopartículas



esferoidais em torno de 400 nm, com variações dentro dessa faixa de comprimento (HUSSAIN, KHAN, 2014; PRATHNA *et al.*, 2011).

**Figura 10** - Espectros eletrônicos UV-Vis referente à síntese de AgNPs para os meios reacionais contendo quantidades de extrato de guaraná na condição 1 e pH 5,5.



Fonte: A autora (2022).

Diante os espectros eletrônicos UV-Vis apresentados para a síntese de AgNPs identifica-se a presença de um efeito hipercrômico, de maneira ordenada, para a banda II localizada próximo à 270 nm. Em estudos como o de Zhang *et al.* (2018), essas mudanças espectrais foram atribuídas às mudanças ocorridas no sistema flavonoídico sugerindo posições importantes de sítios quelantes, descartando essa condição para o Anel A (~200 nm), uma vez que não há comportamento sistemático para essa banda. Dessa forma, um complexo estável pode estar sendo formado para interação com íons  $\text{Ag}^+$ , além da possibilidade de transformação da forma primária enol para cetonas (tautomerismo ceto-enólico) em flavonoides serem mencionadas como fundamental para a produção de nanopartículas metálicas (MAKAROV *et al.*, 2014). A banda II, que também pode estar associada às transições  $n \rightarrow \pi^*$  do grupo carbonila ( $\text{C}=\text{O}$ ), relacionada às metilxantinas presentes na composição do extrato de guaraná, da mesma forma, pode ser associada ao aumento de intensidade desta banda neste comprimento de onda de forma a acompanhar proporcionalmente a formação das nanoestruturas.

### 5.3 Efeito da concentração do extrato vegetal na produção das AgNPs

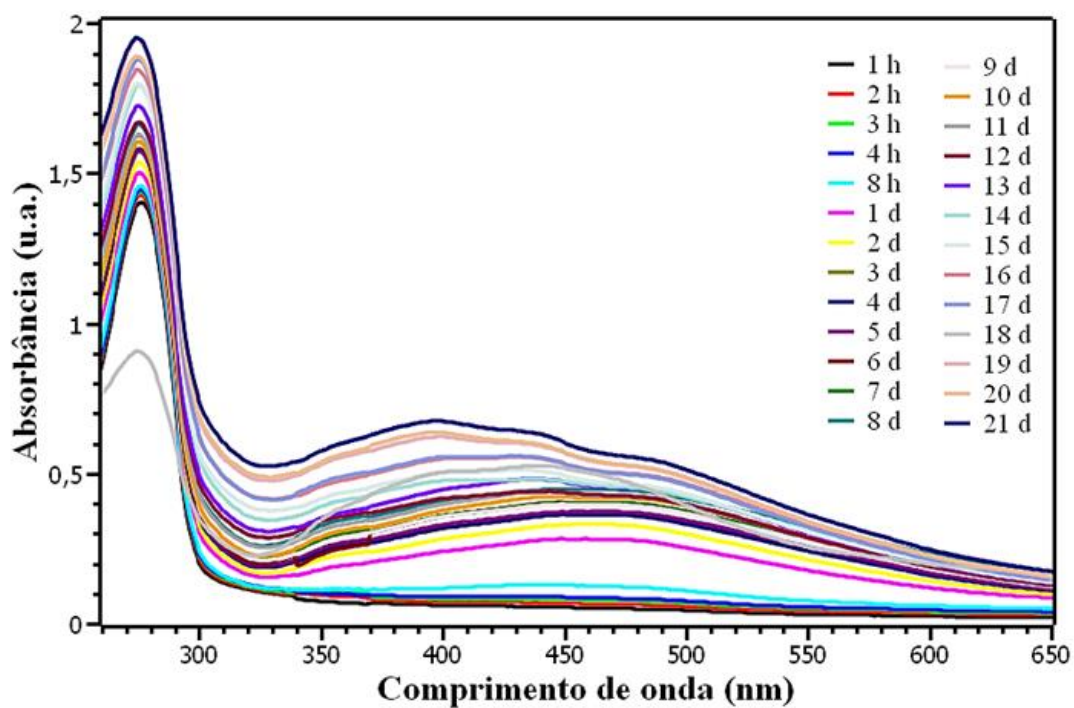
O estudo sobre o efeito da concentração do extrato vegetal na síntese das nanoestruturas foi realizado considerando o meio reacional sem alteração (pH 5,5) para a produção das AgNPs, posto que os deslocamentos das bandas RPS tenderam a comportamentos diferentes em função da alteração na concentração do extrato de guaraná em determinados meios de síntese.

A Figura 11 apresenta os espectros eletrônicos UV-Vis da síntese realizada em meio ácido para condições variáveis de extrato vegetal em temperatura ambiente. Nota-se que a condição com maior concentração de extrato vegetal (condição 1) apresenta maior quantidade de nanoestruturas formadas neste meio reacional. Segundo a Lei Beer-Lambert, a concentração é diretamente proporcional à absorvância (PAVIA *et al.*, 2010), portanto, quantidades menores de AgNPs foram formadas quando há menores concentrações de extrato vegetal.

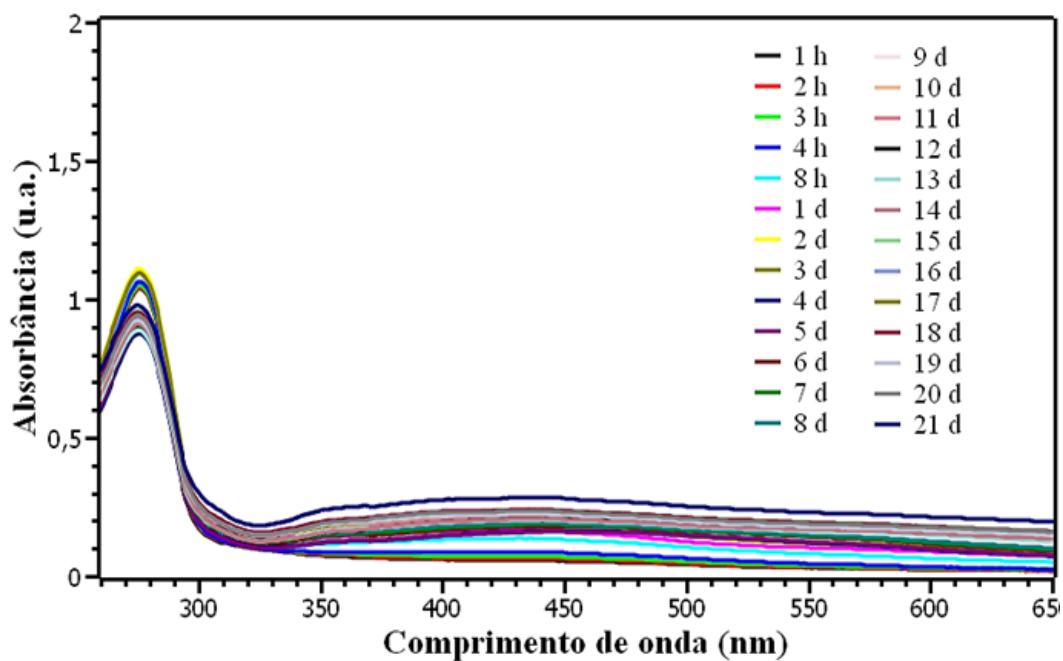
Os espectros eletrônicos para a síntese realizada com concentração mais elevada de extrato vegetal em meio reacional ácido (Figura 11 - A) apresenta banda RPS alargada nos primeiros dias de reação, seguindo uma leve formação de um ombro em menor comprimento de onda, como visto em seu máximo de absorção em 21 dias. O comportamento inicial pode estar relacionado à formação de nanopartículas sem alteração considerável no tamanho, pois a banda RPS não muda de posição (DECAROLIS *et al.*, 2020). Em tempos mais longos, o progresso da reação segue em um deslocamento para o azul sugerindo a formação de nanopartículas menores com dois modos de oscilação eletrônica, quando comparamos com a síntese realizada em concentrações mais diluídas de extrato. Diversos estudos relatam que os locais das bandas plasmônicas estão relacionados ao tamanho e forma das nanoestruturas formadas, deste modo, a tendência da banda à esquerda indica uma partícula de menor tamanho (CAO, X. L. *et al.*, 2010). A relação com os dois modos de oscilação eletrônica está associada às populações de nanopartículas com formatos distintos, neste caso, podendo ser esferoidais e nanopartículas com formatos triangulares (MOCK *et al.*, 2002; THOMAS *et al.*, 2018).

**Figura 11** - Espectros eletrônicos para síntese de AgNPs realizadas em meio reacional com pH 5,5, em condições de extrato vegetal 1 (A), 2 (B) e 3 (C).

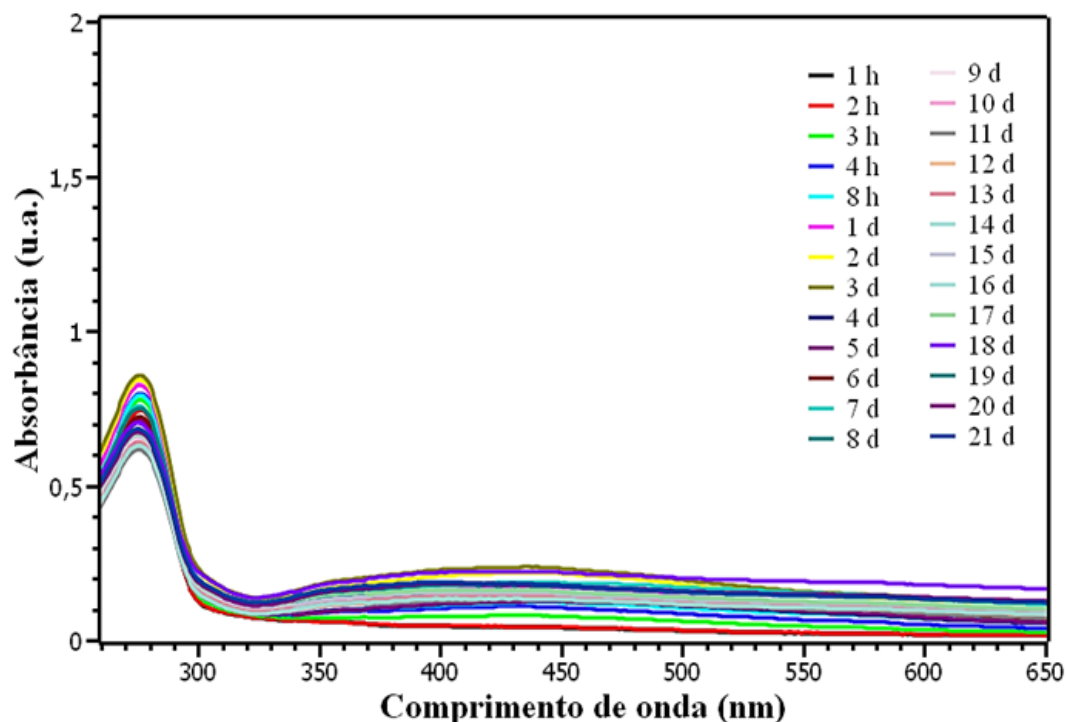
(A)



(B)



(C)



Fonte: A autora (2022).

A banda RPS para a síntese realizada com menores concentrações de extrato de guaraná (Figura 11 - B e C) apresentou sinal alargado e indicaram menor taxa de formação de AgNPs em relação ao tempo de síntese quando comparada à síntese realizada com elevada concentração de extrato vegetal. Ao avaliar os espectros eletrônicos para as condições mais diluídas de extrato de guaraná, nota-se que a condição intermediária (condição 2) produziu maior quantidade de nanopartículas em relação à condição 3, tal condição mais diluída apresentou máximo de absorção em 3 dias, seguindo de uma leve redução neste parâmetro até os 21 dias, realçando a baixa estabilidade das nanoestruturas e, principalmente, um menor efeito de redução com os íons  $\text{Ag}^+$ , o que pode estar relacionado com a quantidade insuficiente de compostos orgânicos presentes para a redução do cátion metálico existente no meio reacional. Esta proporção de agentes redutores e de recobrimento presentes em diferentes extratos vegetais vêm sendo bastante discutida em estudos que associam a formação, tamanho e propriedades físico-químicas das nanopartículas (PRADEEP *et al.*, 2021; YOUSAF; SALEH, 2018).

De acordo com Seifipour, Nozari e Pishkar (2020), menores quantidades de extrato vegetal influenciam na quantidade de nanoestruturas formadas, produzindo menores populações de nanopartículas. Adicionalmente, resultados observados por diversos autores sugerem formatos dominantes para menores concentrações de extratos vegetais, somadas às

bandas RPS alargadas associadas às aglomerações de nanopartículas, conseqüentemente, crescimento das partículas (GUIDELLI; RAMOS; BAFFA, 2014; MARSLIN *et al.*, 2018). A referida diminuição na absorvância para a condição mais diluída também pode ser indicativa dos efeitos adsortivos da parede do recipiente com as nanoestruturas metálicas, principalmente recipientes de vidro, sendo este efeito um dos principais causadores de perdas de AgNPs da suspensão, de modo a ter relação direta com as condições de teste, como a concentração de íons  $\text{Ag}^+$ , estabilidade da solução, pH e temperatura do meio reacional (SEKINE *et al.*, 2015; SILVA *et al.*, 2020).

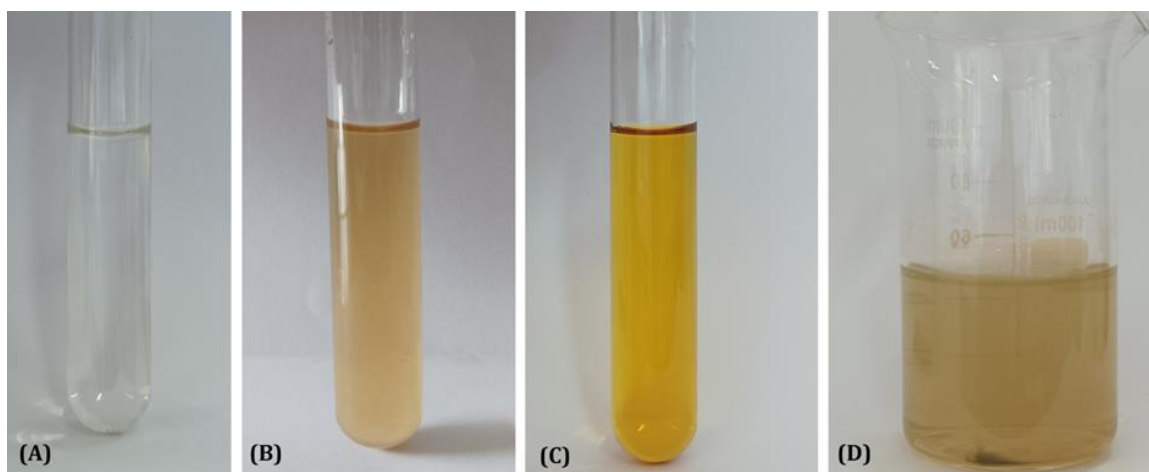
#### 5.4 Efeito do pH na síntese das AgNPs

Estudos que envolvem a síntese de nanopartículas metálicas promovem discussões sobre como a mudança de pH afeta consideravelmente a forma e o tamanho das nanoestruturas. Neste contexto, o aumento gradual nos valores de pH do meio reacional de síntese das AgNPs associado à concentração do extrato de vegetal influencia na quantidade, estabilidade, tamanho e formato dos coloides metálicos (ISMAIL *et al.*, 2018; SEIFIPOUR; NOZARI; PISHKAR, 2020). Este aumento no valor de pH provocou um aumento na taxa de redução dos íons prata na síntese de NPs envolvendo extratos aquosos de guaraná, de modo que a solução apresentou coloração castanho para o meio reacional com pH 7,0 e amarelo para o meio reacional com pH 9,0 em 1 h, enquanto que em meio reacional ácido, neste mesmo tempo, a solução apresentou coloração incolor, como observado na Figura 12 (A, B e C).

A coloração atingida para as soluções com pH alto foi mantida por 21 dias, sem a ocorrência de precipitados para todas as condições de diluição de extrato, enquanto que em tempos mais longos, os testes de NP produzidas em meio ácido tiveram sua coloração modificada para todas as condições, como sinalizado anteriormente, observando a ocorrência de precipitados para a condição mais diluída de extrato. Quando as partículas se aglomeram, a coloração da solução se modifica, de modo que NPs aglomeradas vão possuir tamanhos maiores do que NPs monodispersas, resultando em mudanças de propriedades ópticas (KAUSHAL *et al.*, 2020), ocasionando precipitados de partículas de prata metálica, como observado na Figura 12 - D. Uma vez que a estabilidade deste sistema nanoparticulado decorre da capacidade das nanopartículas formadas permanecerem em suspensão e não se aglomerarem para formação de

partículas maiores (PHAN; HAES, 2019), as características observadas sugerem uma tendência à estabilidade das nanoestruturas quando produzidas em meio reacional alcalino, somados aos demais fatores de comportamento das bandas RPS e a influência na reatividade dos compostos orgânicos presentes no extrato de guaraná que serão discutidos subsequentemente.

**Figura 12** - Síntese de AgNPs em diferentes concentrações de extrato de guaraná e tempo de reação, sendo a condição 2 com 1h de reação em pH 5,5 (A); pH 7,0 (B); pH 9,0 (C) e condição 3 com sedimentos no fundo béquer em 21 dias em pH 5,5 (D).



**Fonte:** A autora (2022).

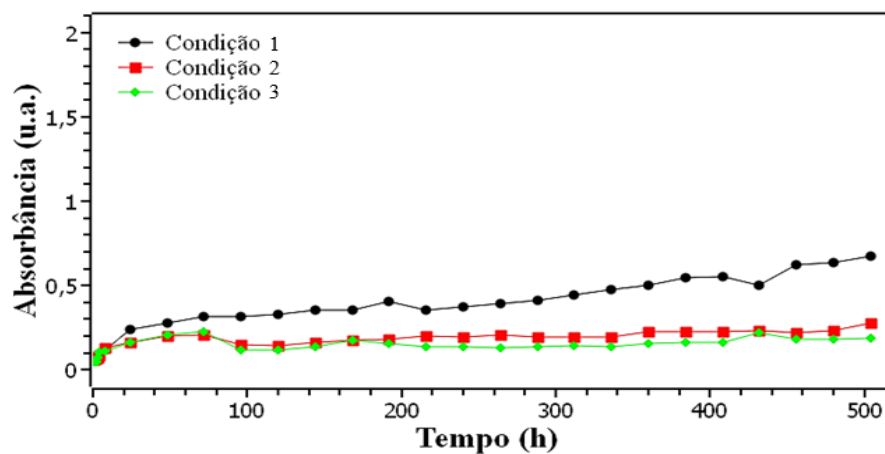
Na Figura 13, observam-se valores de máximo de absorvância da banda RPS coletados no início da reação até os 21 dias para a síntese das nanoestruturas realizadas em meio reacional ácido, neutro e básico, nesta perspectiva, a produção das NPs em meio reacional neutro apresentou um comportamento análogo ao observado em meio reacional ácido, de modo a produzir maior quantidade de nanoestruturas quando existe maior concentração de extrato de guaraná presente no meio reacional. Ademais, a síntese das AgNPs produzidas em meio reacional neutro foi favorecida em termos de quantidade quando comparada à síntese realizada em meio ácido para todas as condições. A taxa de formação de AgNPs nos primeiros 4 dias (aprox. 100 h) em meio reacional neutro para a condição com maior concentração de extrato vegetal atingiu o valor de absorvância da banda RPS de 0.8 u.a., enquanto que a síntese realizada em meio ácido para a mesma condição atingiu valor de absorvância de 0.7 u.a. somente aos 21 dias.

Para os diferentes valores de pH do meio reacional em relação aos dados de absorvância máxima em função ao tempo, observa-se que para todas as condições de extrato de guaraná com meio reacional alcalino houve maior quantidade de NPs produzidas em um menor período de tempo em comparação às amostras com meio reacional em pH 5,5 e 7,0, conforme a Figura

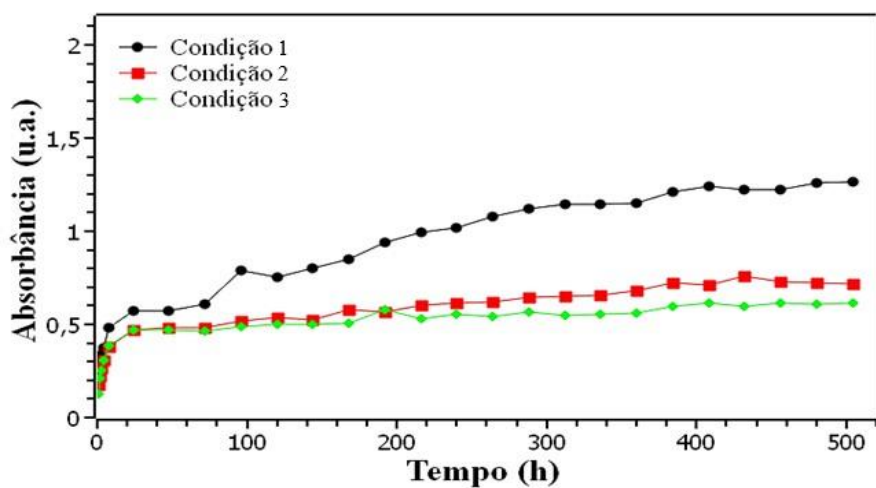
13 - C. À vista disso, mesmo a condição com menor quantidade de AgNPs produzidas em pH 9,0 (condição 1) conseguiu atingir o valor de absorvância de 0.8 u.a. em aproximadamente 1 h de síntese, o que para os outros meios reacionais este valor de absorvância foi obtido somente em maiores períodos de tempo. Para as condições de síntese de NPs em pH 9,0 onde se trabalha com maiores diluições de extrato aquoso de guaraná (condições 2 e 3), observa-se pouca variação em seus valores de absorvância máxima da banda RPS com o decorrer do tempo. Nessa perspectiva, a mínima variação na banda RPS foi associada à estabilidade das nanoestruturas metálicas em solução por diferentes autores, entre eles, Albukhari *et al.* (2019) relataram que a banda RPS permaneceu próxima a um determinado valor de absorvância com o decorrer do tempo, confirmando que as partículas de prata em fase aquosa se encontravam em formatos uniformes e não apresentavam sinais de aglomeração.

**Figura 13** - Absorbância máxima da banda RPS das diferentes condições de extrato de guaraná em função do tempo. A) pH 5,5; B) pH 7,0; C) 9,0.

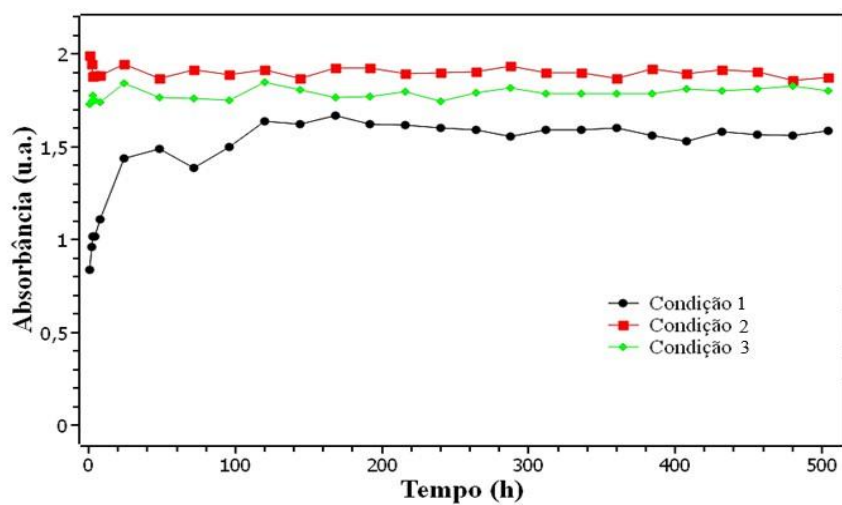
(A)



(B)



(C)

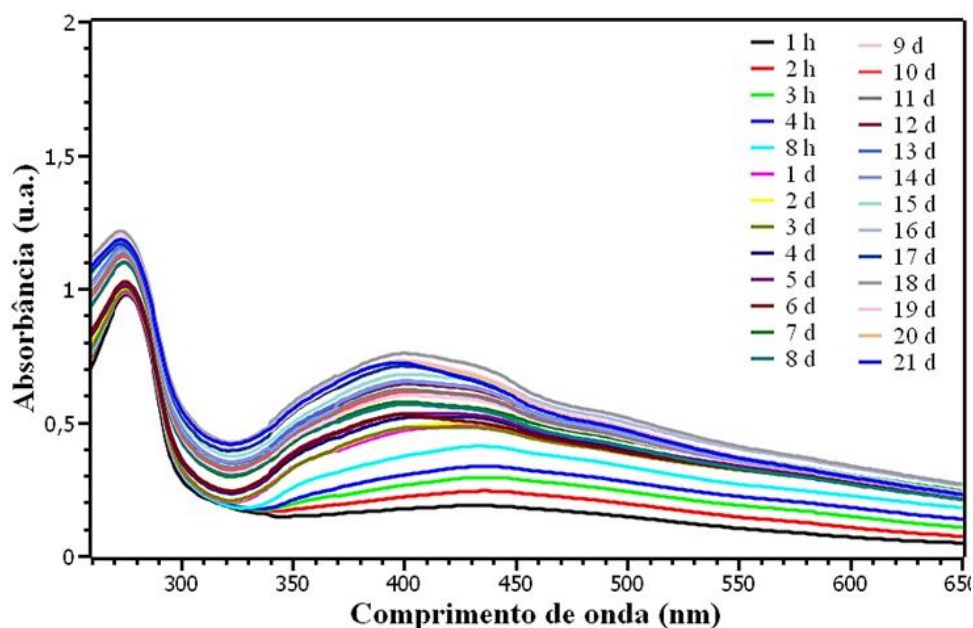


Fonte: A autora (2022).



O acompanhamento da banda RPS para a síntese das NPs produzidas em meio reacional neutro apresentaram bandas mais definidas para as condições mais diluídas em comparação a síntese realizada em meio ácido (Figura 11 - B), com leve estreitamento em suas bandas presentes nos espectros eletrônicos e com leves deslocamentos para o azul, como observado na Figura 14, sugerindo nanopartículas com tamanhos mais reduzidos e com formatos variados por conta de um leve ombro em menores comprimentos de onda (SUI *et al.*, 2019). No entanto, em períodos mais longos de tempo houve diminuição na intensidade da banda RPS, podendo estar atrelado à estabilidade dos coloides metálicos em solução (JAIN; MEHATA, 2017). Em meio reacional neutro, apesar de apresentar indícios de NPs parcialmente estáveis, ainda houveram indicativos de aglomeração, visto que o comportamento da banda RPS sugere uma maior estabilidade para síntese de AgNPs em meio reacional com pH 9,0.

**Figura 14** - Espectro eletrônico para síntese de AgNPs realizadas em meio reacional com pH 7,0 em condição 2 de extrato de guaraná.



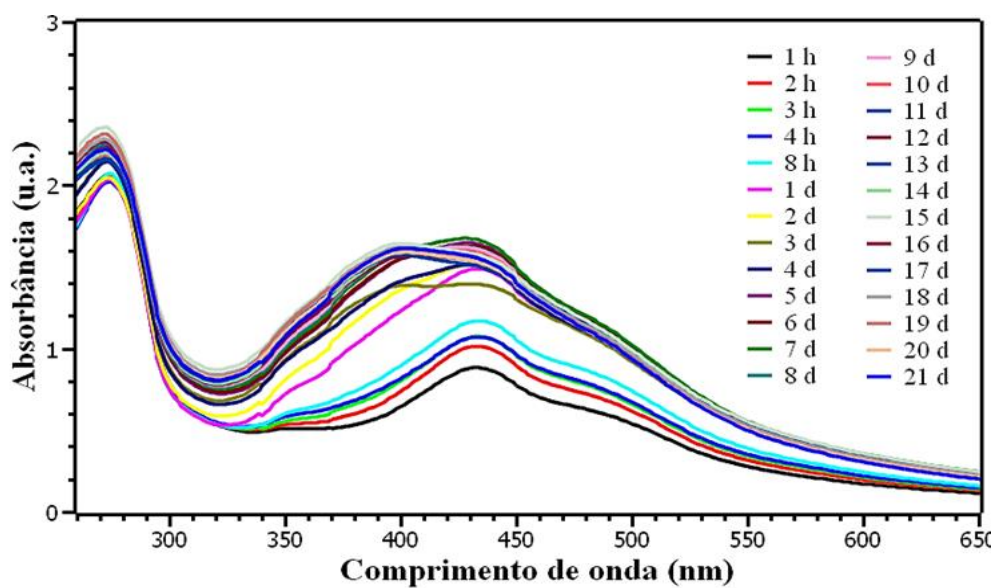
Fonte: A autora (2022).

Para a síntese das AgNPs realizada em meio reacional com pH 9,0, foi observado através dos espectros eletrônicos que a condição com maior concentração de extrato de guaraná apresentou menor valor no máximo de absorvância quando comparada às condições mais diluídas, como a condição 2, neste meio reacional, conforme a Figura 15. Este comportamento sugere a possibilidade de competição entre redução de íons metálicos e sua complexação quando a concentração dos compostos orgânicos está aumentada e em presença de íons

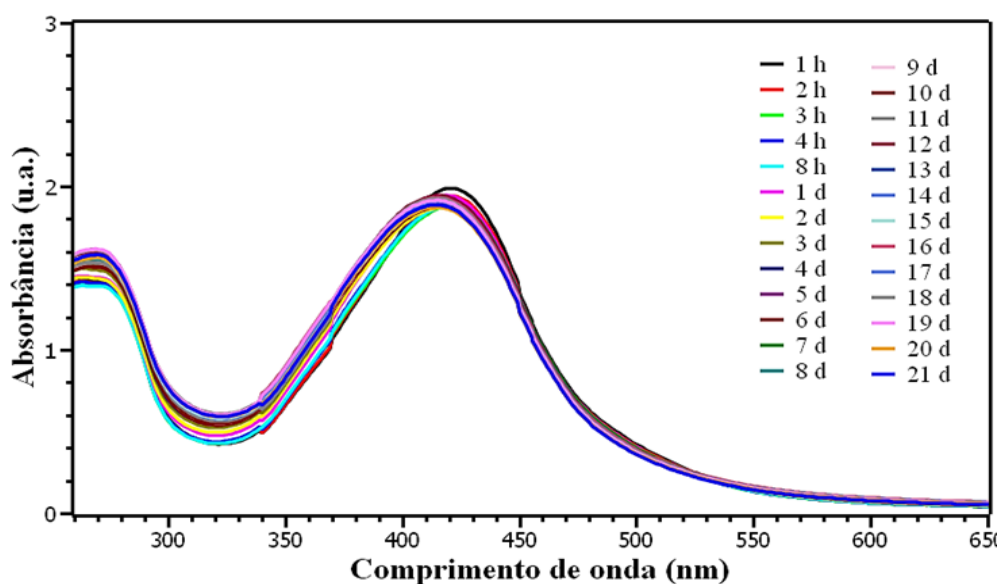
metálicos. Ademais, o padrão de deslocamentos (zigzag) para a condição 1 foi observado em maiores períodos de tempo, sugerindo uma rápida aglomeração das NPs (ISMAIL *et al.*, 2018).

**Figura 15** - Espectro eletrônico para a síntese realizada em meio reacional com pH 9,0 para a condição 1 (A) e 2 (B).

(A)



(B)



Fonte: A autora (2022).

Além do aumento significativo na quantidade de nanopartículas produzidas, a taxa de reação ocorreu mais rapidamente, de forma que a mudança na coloração ocorreu mais rápido

neste meio reacional para as condições mais diluídas, como observado anteriormente na Figura 12 - C. Os espectros eletrônicos para a condição 2 de diluição do extrato apresentam bandas estreitas, intensas e simétricas, sugerindo AgNPs de menor diâmetro e mais uniformes, uma vez que a tendência do deslocamento da banda à esquerda indica uma partícula de menor tamanho (JAIN; MEHATA, 2017). O estreitamento da banda RPS observada para a síntese de NPs realizada em pH 9,0 para as condições mais diluídas sugerem a nucleação, e nanopartículas de formatos esferoidais, bem como nanoestruturas menores, com maior velocidade de formação quando comparadas às sínteses realizadas nos meios reacionais ácido e neutro, uma vez que o máximo de absorvância foi atingido com 1 hora de reação (LIU *et al.*, 2018; YUSUF *et al.*, 2020).

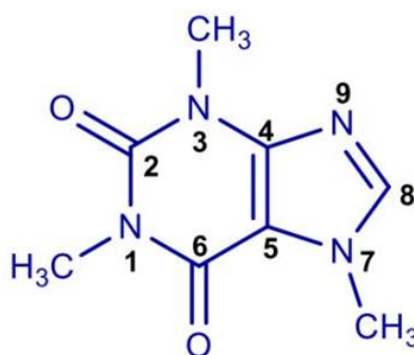
A maior influência do pH na reação é sua capacidade de alterar as cargas elétricas das moléculas orgânicas, o que pode alterar sua capacidade redutora e capeadora e o consequente crescimento de nanopartículas (SEIFIPOUR; NOZARI; PISHKAR, 2020). A capacidade de quelação de compostos orgânicos com metais é influenciada por suas propriedades redutoras (KEJIK *et al.*, 2021), por consequência, o ambiente alcalino para a reação de produção das AgNPs se torna favorável em razão da condição dos compostos orgânicos presentes no extrato de guaraná neste meio reacional. Essa influência na reatividade dos flavonoides induz diretamente seus sítios quelantes de metais em função do pH do meio reacional, favorecendo o rompimento da ligação OH, existindo a possibilidade de neste processo ocorrer a liberação de hidrogênio reativo capaz de reduzir íons metálicos (UIVAROSI; MUNREANU, 2017; YUANN *et al.*, 2021).

O efeito da reatividade do extrato de guaraná em diferentes meios reacionais é atribuído aos compostos bioativos presentes que apresentam alta capacidade antioxidante (TORRES *et al.*, 2022). Este potencial antioxidante é devido, em principal, às suas propriedades redutoras, que por sua vez, dependem das características estruturais que poderão ser influenciadas ao realizar alterações do meio reacional, como por exemplo, alterações no pH (KEJIK *et al.*, 2021; PAIVA, L. *et al.*, 2020). Para flavonóis, a capacidade antioxidante poderá estar relacionada às características estruturais já mencionadas neste estudo, como a orto-substituição dihidroxi no anel B (UIVAROSI; MUNREANU, 2017). Nesta perspectiva, as metilxantinas também apresentam propriedades antioxidantes (JANITSCHKE *et al.*, 2020), a atividade antioxidante da cafeína, por exemplo, pode sofrer influência pela natureza do radical livre reativo e também pela polaridade do ambiente, visto que em ambiente polar sua reatividade aumenta,

influenciando sua geometria e sítios de reação (LEON-CARMONA; GALANO, 2011), o que pode justificar a obtenção de nanopartículas de prata com maior estabilidade em meio alcalino.

Adicionalmente, estudos que discorrem sobre interações entre a cafeína e íons metálicos indicam que complexos foram alcançados através do átomo N-9 (Figura 16). Em ambientes polares, este local de reação se encontra mais efetivo, favorecendo a interação com íons metálicos e induzindo a liberação de espécies reativas neste processo, que são importantes em outros mecanismos de reação, como na redução de metais (BOUHDADA; AMANE; HAMDANI, 2021; LÉON-CARMONA; GALANO, 2011; UEKANE; ROCHA-LEÃO; REZENDE, 2013; UIVAROSI; MUNREANU, 2017; VIEIRA; GASPAR; SANTOS, 2020).

**Figura 16** - Estrutura da cafeína e seus respectivos sítio de reação.



**Fonte:** Bouhdada; Amane; Hamdan (2021).

Nota-se que na Figura 15 - A o sinal em 270 nm associado às transições eletrônicas já mencionadas possui maior intensidade que o sinal em 400-450 nm da banda RPS e de forma inversa para a condição 2. Uma vez que existisse apenas a contribuição do aumento de carbonilas pela redução dos compostos orgânicos, esperava-se maiores valores de absorbância do sinal em 270 nm para a condição 2, onde há produção superior de AgNPs, desse modo, há a possibilidade que no processo de formação das nanopartículas os íons prata sofram com maior extensão o efeito de complexação do que o efeito de redução na condição 1 em comparação à condição 2.

## 5.5 Síntese AgNPs em temperaturas elevadas

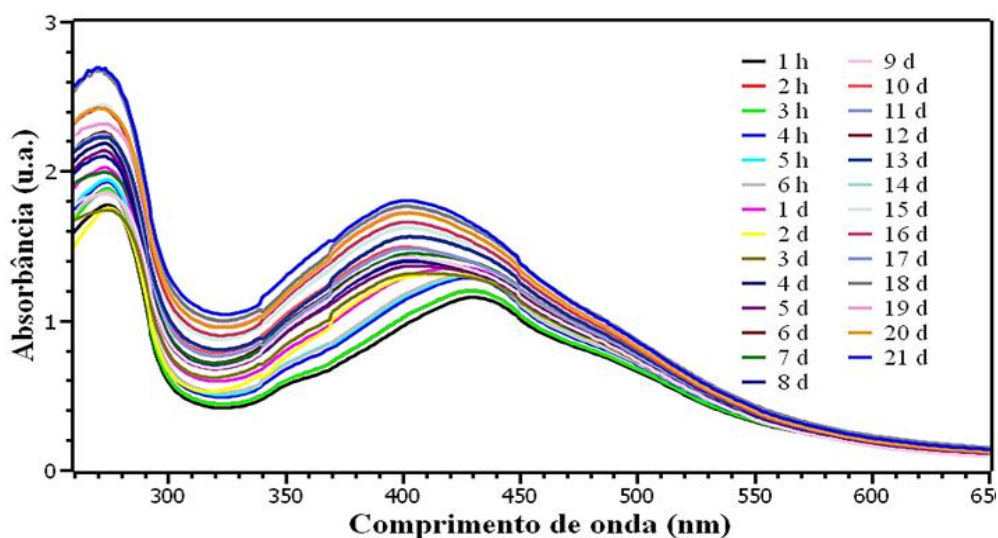
A temperatura do meio reacional é um fator essencial na síntese das nanoestruturas metálicas (SEIFIPOUR; NOZARI; PISHKAR, 2020). O controle da cinética neste processo é fundamental, uma vez que o aumento da temperatura irá aumentar a taxa de reação em decorrência do aumento na colisão efetiva das espécies reagentes para a formação dos produtos, podendo influenciar a intensidade da banda RPS em resposta a variabilidade de formatos e tamanhos das NPs, indicando rendimento e estabilidade (DADA *et al.*, 2018).

Após a avaliação das condições em relação à concentração de extrato e pH do meio reacional, optou-se para avaliar o parâmetro de temperatura para as condições de extrato 1 e 2 em pH 9,0. De forma geral, observa-se que o aumento na temperatura favoreceu o efeito de complexação em comparação ao efeito de redução da prata, uma vez que houve quantidades semelhantes de NPs produzidas ao comparar com a síntese realizada em temperatura ambiente, além de apresentar um aumento expressivo do sinal em 270 nm referente a composição do extrato de guaraná.

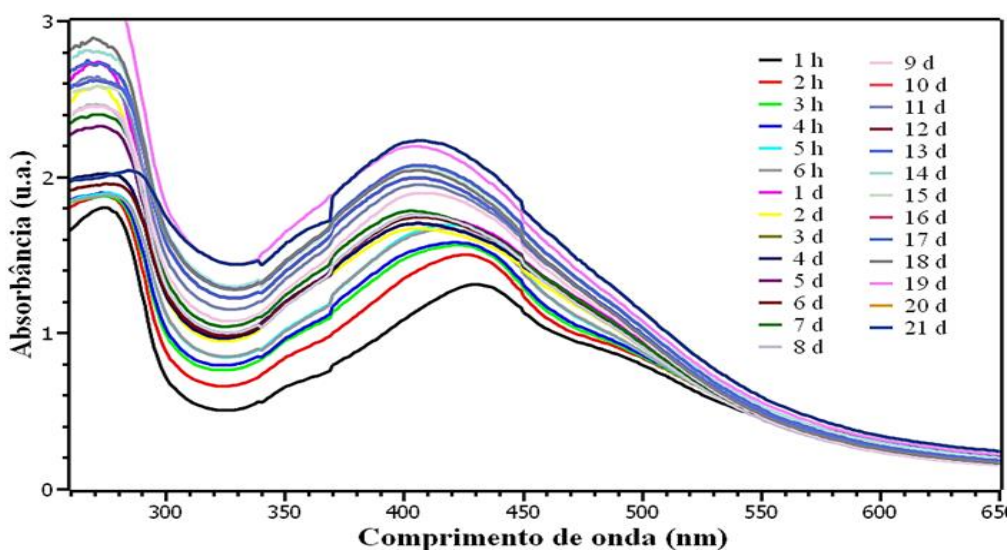
Nota-se que para a condição 1 que a taxa de reação foi favorecida com o aumento da temperatura, como mostra a Figura 17, onde se observa que em 1 h de reação o máx. de absorvância da banda RPS alcançou valor superior ao obtido para a mesma condição em temperatura ambiente (25 - 30°C) (Figura 15 - A). A condição 1 para as temperaturas elevadas (50 e 70 °C) apresentaram bandas RPS mais uniformes e deslocamento para um menor comprimento de onda em menor tempo de reação, referente a formação de nanoestruturas com menor variabilidade de formas e tamanhos (JAIN; MEHATA, 2017).

**Figura 17** - Espectro eletrônico para a condição de síntese 1 realizada em meio reacional com pH 9,0 para a condição 50 °C (A) e 70 °C (B).

(A)



(B)



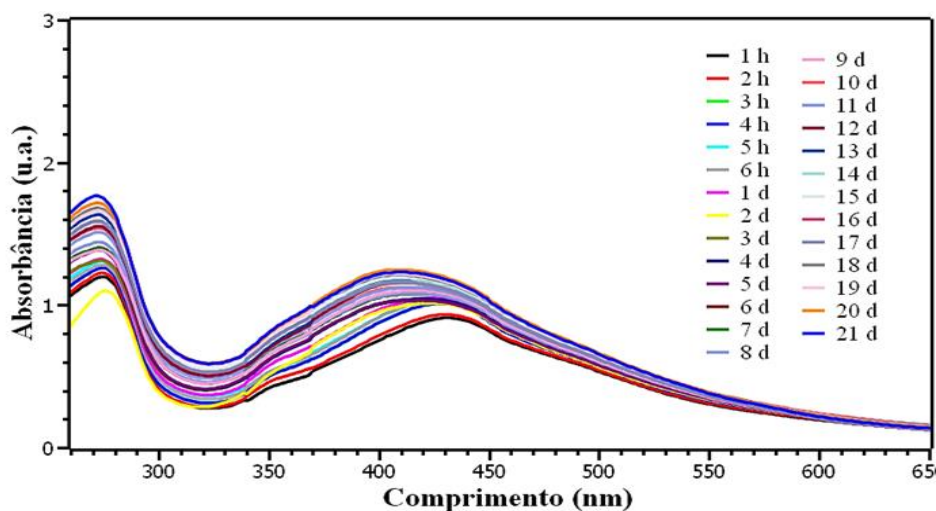
Fonte: A autora (2022).

Para a condição 2 em 50 °C (Figura 18 - A) nota-se que o máx. de absorbância atingido foi menor em comparação à mesma condição em T. ambiente e em 70 °C, podendo ser indício de baixa qualidade do pó de guaraná utilizado, sendo diferente dos casos anteriores, uma vez que a quantidade de compostos ativos presentes no guaraná depende de fatores agrícolas e ambientais, como estação, qualidade de solo e época de colheita (NINA *et al.*, 2021; TORRES *et al.*, 2022), acarretando em menores quantias de AgNPs. Assim, a possibilidade de degradação das moléculas orgânicas é descartada, pois a reação ocorre de forma similar em temperatura ambiente e 70 °C.

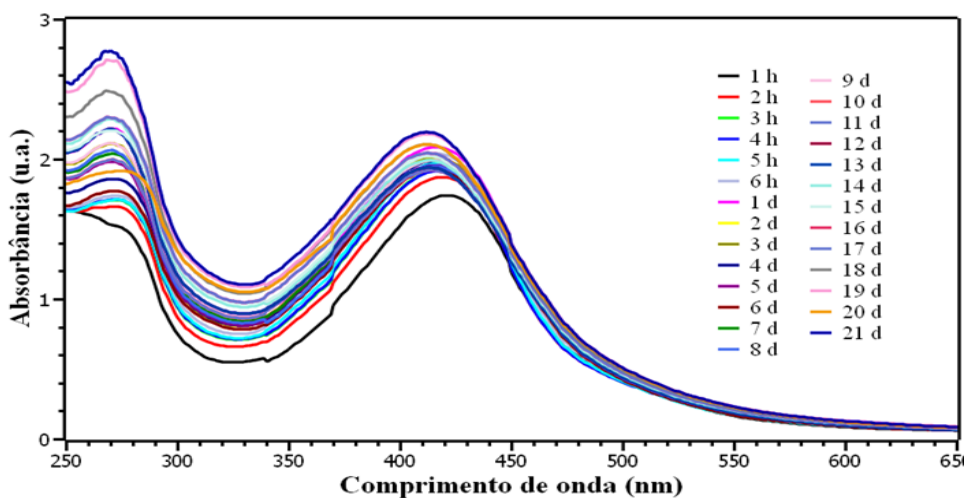
Ao elevar a T. para 70 °C, observa-se que a condição 2 em meio básico (Figura 18 - B), mesmo com o aumento de energia cinética, não houve aumento significativo na produção das nanoestruturas com relação à síntese efetuada em temperatura ambiente. Contudo, observa-se que a banda próxima a 280 nm aumenta sua intensidade com o decorrer do tempo. Além das transições eletrônicas já atribuídas para este sinal, estudos como o de Azam *et al.* (2003) e Farzana; Banu; Ahamed (2021) sugerem que a absorção intensa nesta região pode ser atribuída a formação de complexo entre o extrato vegetal e íons metálicos, por exemplo, a formação de complexos entre cafeína e íon metálico.

**Figura 18** - Espectro eletrônico para a condição 2 de síntese realizada em meio reacional com pH 9,0 para a condição 50 °C (A) e 70 °C (B).

(A)



(B)



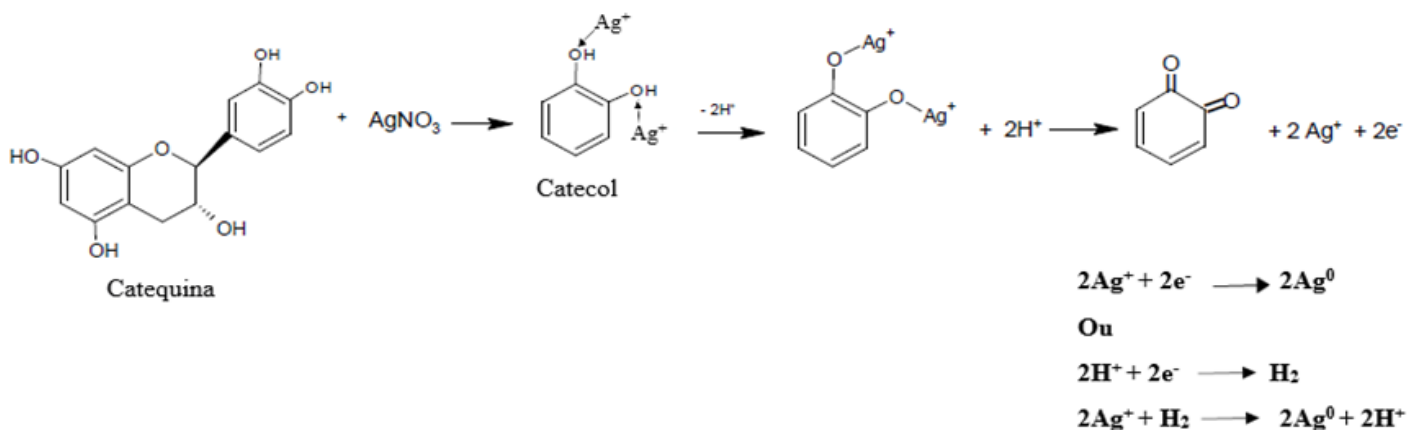
Fonte: A autora (2022).

## 5.6 Provável mecanismo de síntese de AgNPs mediada por extrato aquoso de guaraná

Apesar de não ser totalmente compreendido, trabalhos que envolvem síntese verde de MNPs sugerem mecanismos de reação entre as moléculas orgânicas e prata catiônica para a redução do metal (LIU *et al.*, 2018). Existem diversos estudos que envolvem cafeína e redução de íons metálicos, porém seu mecanismo ainda não foi demonstrado, mesmo sendo apontado seus sítios quelantes de metais presentes em sua estrutura, neste sentido encontra-se na literatura somente a complexação entre essas espécies.

O processo de formação de AgNPs possui diferentes etapas, sendo a primeira denominada como nucleação, crescimento das NPs e estabilização da superfície das AgNPs (MUSINO *et al.*, 2021). Neste sentido, grupos OH presentes em compostos fenólicos podem ser precursores na reação de redução, como sinalizado anteriormente. Como mostrado na Figura 19, o mecanismo representado envolve um componente presente em grandes quantidades em extratos aquosos de guaraná, sendo ela a catequina. Após o contato do sal de prata com o composto fenólico, os íons prata irão reagir com a porção catecol, formando um composto intermediário que contém o compartilhamento de um par de elétrons não ligantes dos átomos de hidrogênio das hidroxilas. Neste processo, há o enfraquecimento da ligação O-H, liberando  $H^+$  no meio reacional, em sequência, ocorre a ruptura da ligação O- $Ag^+$  e a liberação de um elétron, formando um sistema de enonas. Duas Rotas distintas são representadas como forma de redução da prata catiônica para  $Ag^0$  (YUANN *et al.*, 2021).

**Figura 19** - Mecanismo proposto para compostos fenólicos presentes no extrato de guaraná com base em mecanismos encontrados na literatura.



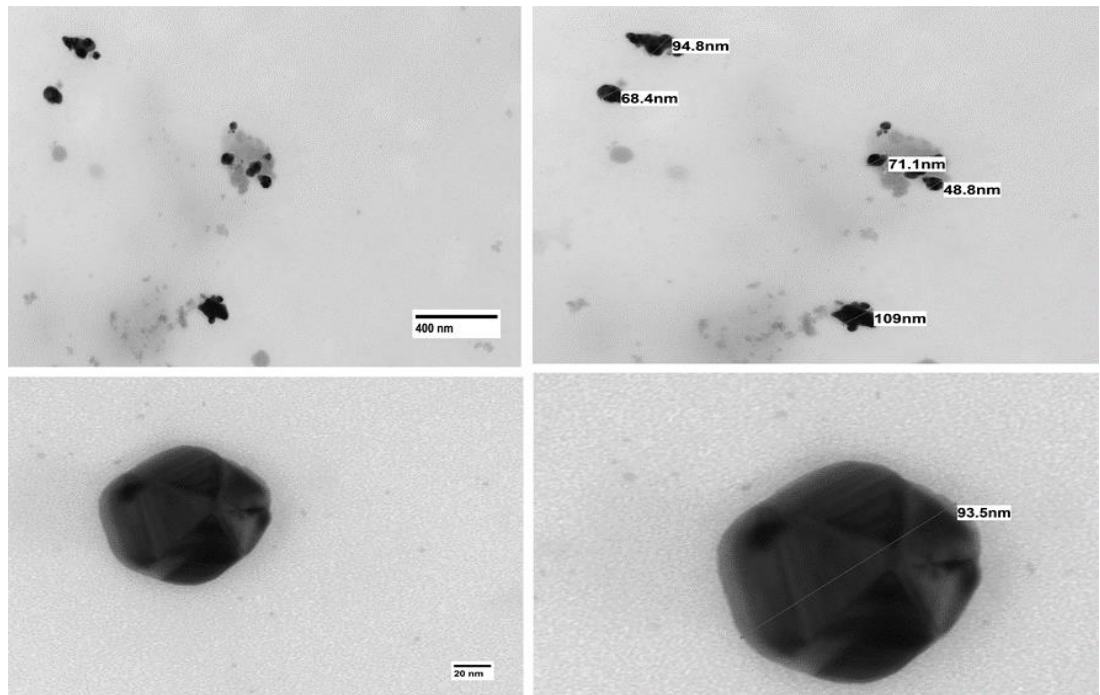
Fonte: Adaptado de Omid *et al.* (2018).



## 5.7 Microscopia eletrônica de transmissão (TEM), Espectroscopia de energia dispersiva de Raio-X (EDS) Espalhamento de luz dinâmico (DLS) e potencial Zeta (mV)

A técnica microscopia eletrônica de transmissão (TEM) permite analisar propriedades morfológicas de nanomateriais, identificando tamanhos e formas através do imageamento por alta resolução (LEE *et al.*, 2020). Na Figura 20 observa-se imagens de AgNPs obtidas em pH 5,5 em condição 1 de diluição de extrato vegetal. Nota-se a presença de populações de NPs mais aglomeradas em comparação às outras condições de síntese que serão discutidas em sequência. Há uma predominância de NPs de formatos esferoidais, pentagonais e tamanhos maiores com diâmetros entre 60-100 nm, o que havia sido sinalizado anteriormente através da banda RPS alargada, uma vez que aglomerados de NPs vão apresentar tamanhos maiores quando comparadas às NPs monodispersas, sendo esta característica refletida na estabilidade das AgNPs.

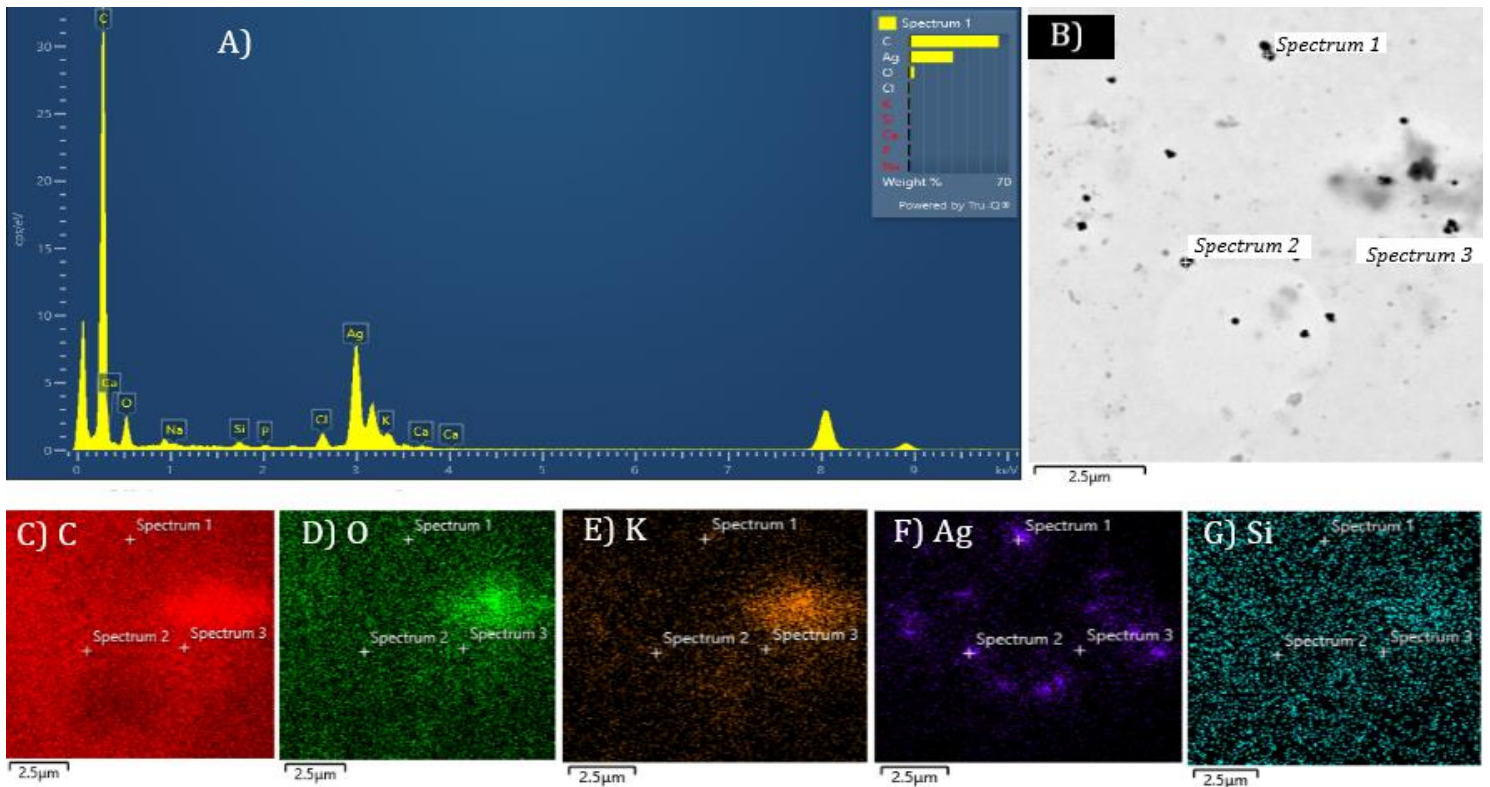
**Figura 20** - Imagens TEM para AgNPs obtidas mediante condição 1 de diluição de extrato, temperatura ambiente e pH 5,5.



Fonte: A autora (2023).

A composição e distribuição dos elementos foram analisados mediante Espectroscopia de energia dispersiva de raios-X (EDS) como mostra a Figura 21. Os resultados apresentaram sinal de Ag em 3 keV (A e B) confirmando a presença de AgNPs (RAUTELLA *et al.*, 2019) e associado ao mapeamento dos elementos foram identificados outros elementos além da prata (F) que são provenientes das grades de cobre revestida por carbono usadas para a análise (C, E e G), onde maiores porcentagens são destinadas para carbono (62,91 %), prata (30,90 %) e oxigênio (3,54 %), sendo o último elemento proveniente do grupo polihidroxi presente nas catequinas que reduzem os íons Ag a AgNPs (RIAZ *et al.*, 2021).

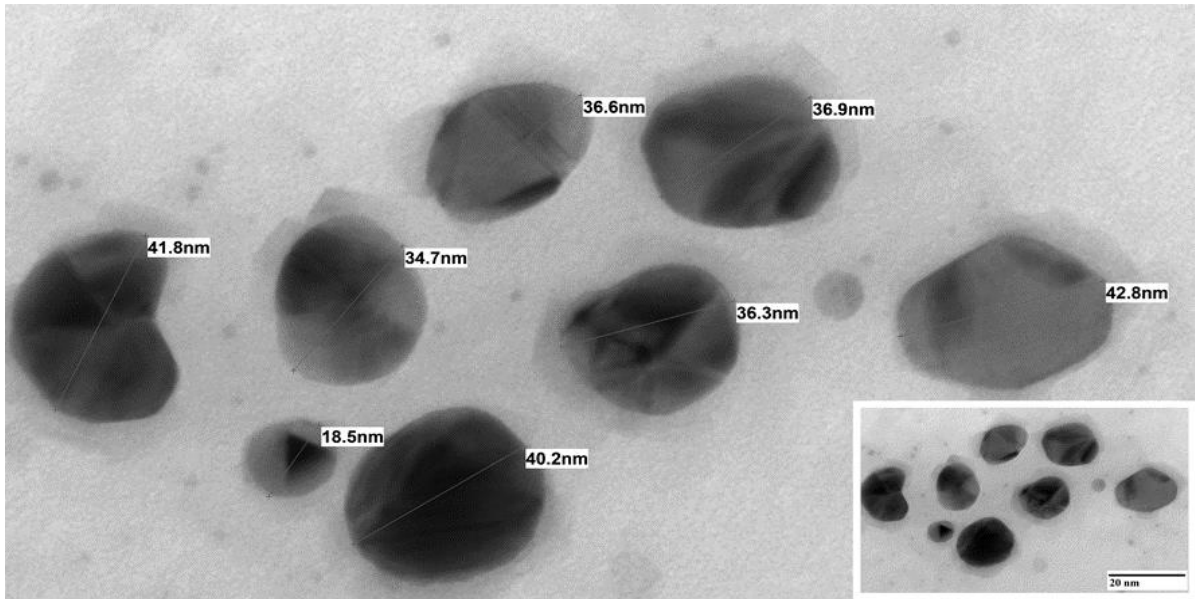
**Figura 21** - Análise EDS, sendo espectro EDS referente ao “espectro 1” (A), localização do espectro (B) e mapeamento dos elementos (C, D, E, F e G).



Fonte: A autora (2023).

A síntese das AgNPs mediada por extratos de guaraná em pH 9,0 expressou relação com a estabilidade de sistemas nanoparticulados de metais, sendo observado através do TEM a presença de formatos e tamanhos bem definidos. A Figura 22 mostra AgNPs obtidas à temperatura ambiente e pH 9,0 em condição 1 de diluição de extrato. Observa-se NPs monodispersas, sendo esferoides facetados de diâmetros menores em relação à síntese em pH 5,5.

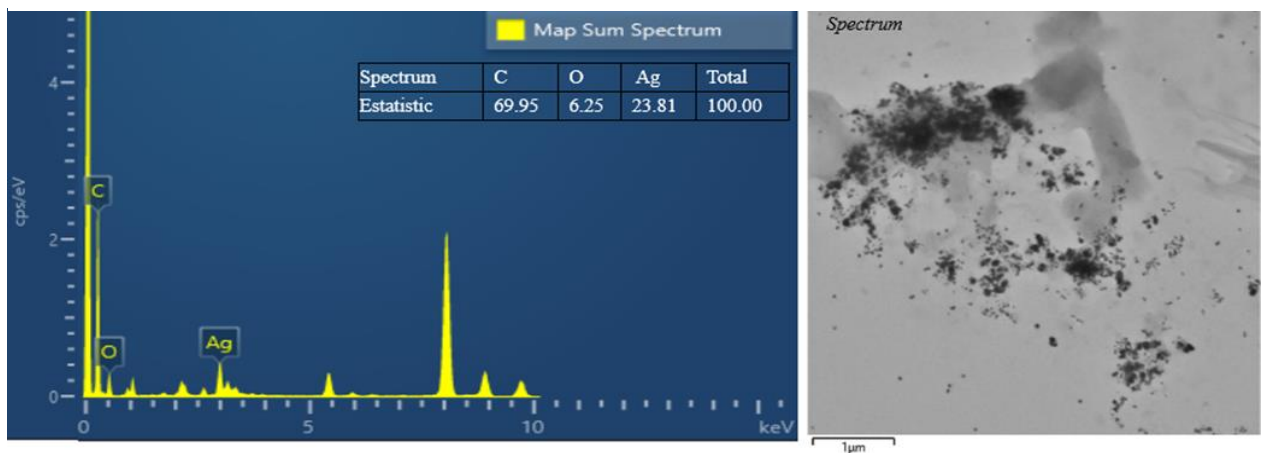
**Figura 22** - Imagem TEM para AgNPs obtidas mediante condição 1 de diluição de extrato, temperatura ambiente e pH 9,0.



Fonte: A autora (2023).

A análise EDS realizada para a síntese em pH 9,0 com condição 1 de extrato vegetal à temperatura ambiente é mostrada na Figura 23, com resultados que se assemelham aos encontrados para a condição em pH 5,5, apresentando sinal típico para a absorção de AgNPs em 3 keV. Ademais, este sinal foi encontrado para os outros dois ensaios analisados sendo em meio alcalino para condição 2 de diluição de extrato em T. ambiente e 70 °C.

**Figura 23** - Espectro EDS para AgNPs obtidas mediante síntese em pH 9,0 em condição 1 de diluição de extrato de guaraná à temperatura ambiente.

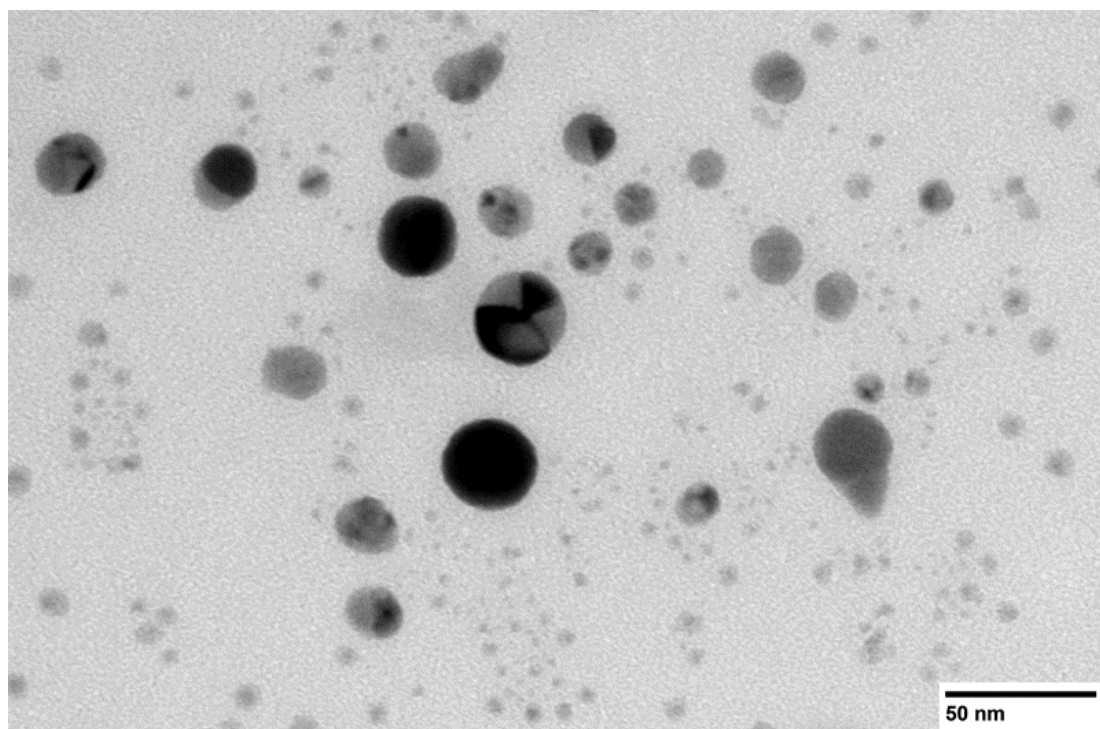


Fonte: A autora (2023).

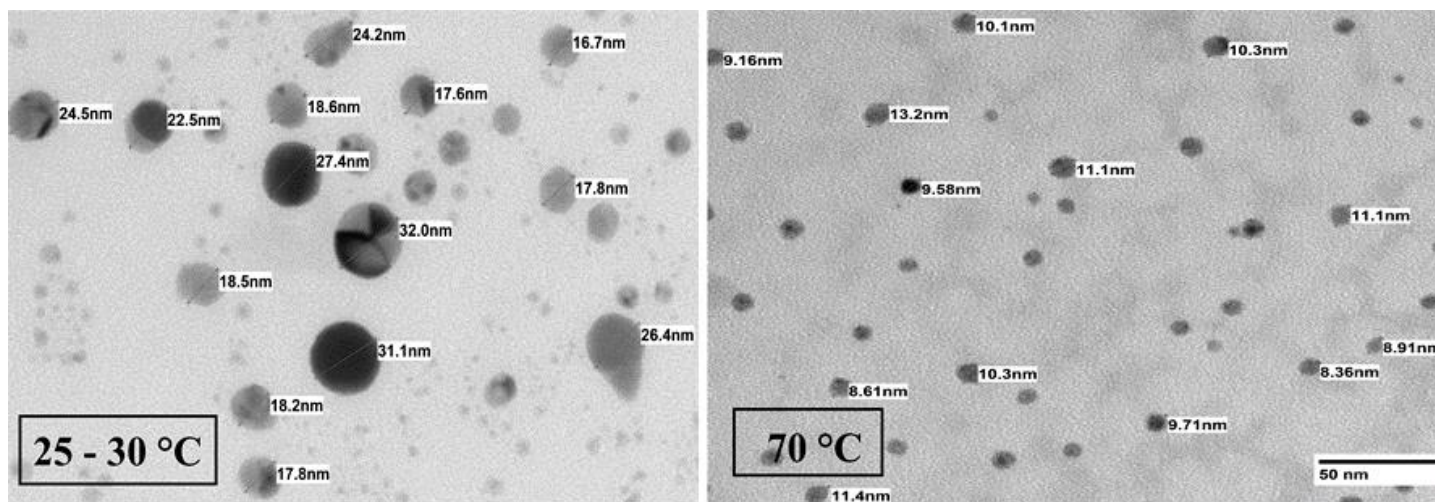
É bem observado, mediante os espectros UV-Vis e mudanças de coloração da solução, o aumento de estabilidade do sistema coloidal de metais quando se aumenta o pH do meio reacional na síntese envolvendo extrato aquoso de guaraná, em particular a síntese utilizando a condição 2 de diluição do extrato. Observamos fortemente a predominância de formatos mais esféricos em relação às AgNPs produzidas nas demais condições, como mostrado na Figura 24 - A. Ao elevar a temperatura da síntese mantendo constante a concentração do extrato e pH da solução, observa-se a diminuição no tamanho da partícula como mostrado na Figura 24 - B. Tal comportamento corrobora com o trabalho de Riaz *et al.* (2021), em que NPs menores e mais dispersas foram formadas ao aumentar a temperatura de síntese.

**Figura 24** - Imagem TEM para AgNPs obtidas mediante condição 2 de diluição de extrato aquoso de guaraná, temperatura ambiente e pH 9,0 (A) e Imageamento TEM para AgNPs obtidas com o aumento de temperatura, em pH 9,0 e condição 2 de diluição de extrato vegetal (B).

(A)



(B)



Fonte: A autora (2023).

O diâmetro hidrodinâmico das AgNPs foi determinado pela técnica de espalhamento de luz dinâmico (DLS), onde um volume de NPs é submetido a um feixe de luz, resultando em flutuações de intensidade da luz espalhada que incidiu na amostra (MEVA *et al.*, 2019). Observa-se através da Tabela 4 o tamanho médio das AgNPs obtido através da análise DLS para as amostras em pH 9,0, onde estão em concordância com os resultados encontrados em TEM, em que tal caracterização apontou AgNPs de tamanhos menores com o aumento de temperatura de síntese, mesmo não havendo produção maior de NPs como observado para o comportamento da banda RPS para a síntese em 70 °C (Figura 18 - B).

A medição do potencial Zeta é um parâmetro de estabilidade de uma dispersão coloidal, onde reflete a capacidade de NPs de se repelirem eletrostaticamente. Em resumo, o potencial zeta é a medição da interação entre partículas em dispersões coloidais, em que partículas com grandes valores de potencial Zeta positivo ou negativo limitam as chances de aglomeração, contudo, se os valores de potencial Zeta forem próximos a zero, podem sofrer aglomeração em decorrência da ausência de forças repulsivas (LUNARDI *et al.*, 2021). Valores de potenciais maiores que +30 mV e menores que -30 mV são associados a obtenção de AgNPs mais estáveis (KATIYAR *et al.*, 2019), neste sentido, foram obtidos valores de potencial Zeta dentro dessa escala, como mostrados na Tabela 4.

**Tabela 4** - Análise DLS e potencial Zeta de AgNPs produzidas sob diferentes condições de síntese.

| Síntese em pH 9,0         | Diâmetro hidrodinâmico (nm) | Potencial zeta (mV) |
|---------------------------|-----------------------------|---------------------|
| Condição 1 em T. ambiente | 32,0 ± 0,6                  | -10,8 ± 0,2         |
| Condição 2 em T. ambiente | 15,0 ± 0,9                  | -22,2 ± 0,3         |
| Condição 2 em 70 °C       | 10,0 ± 0,8                  | -24,0 ± 0,4         |

Fonte: A autora (2023).

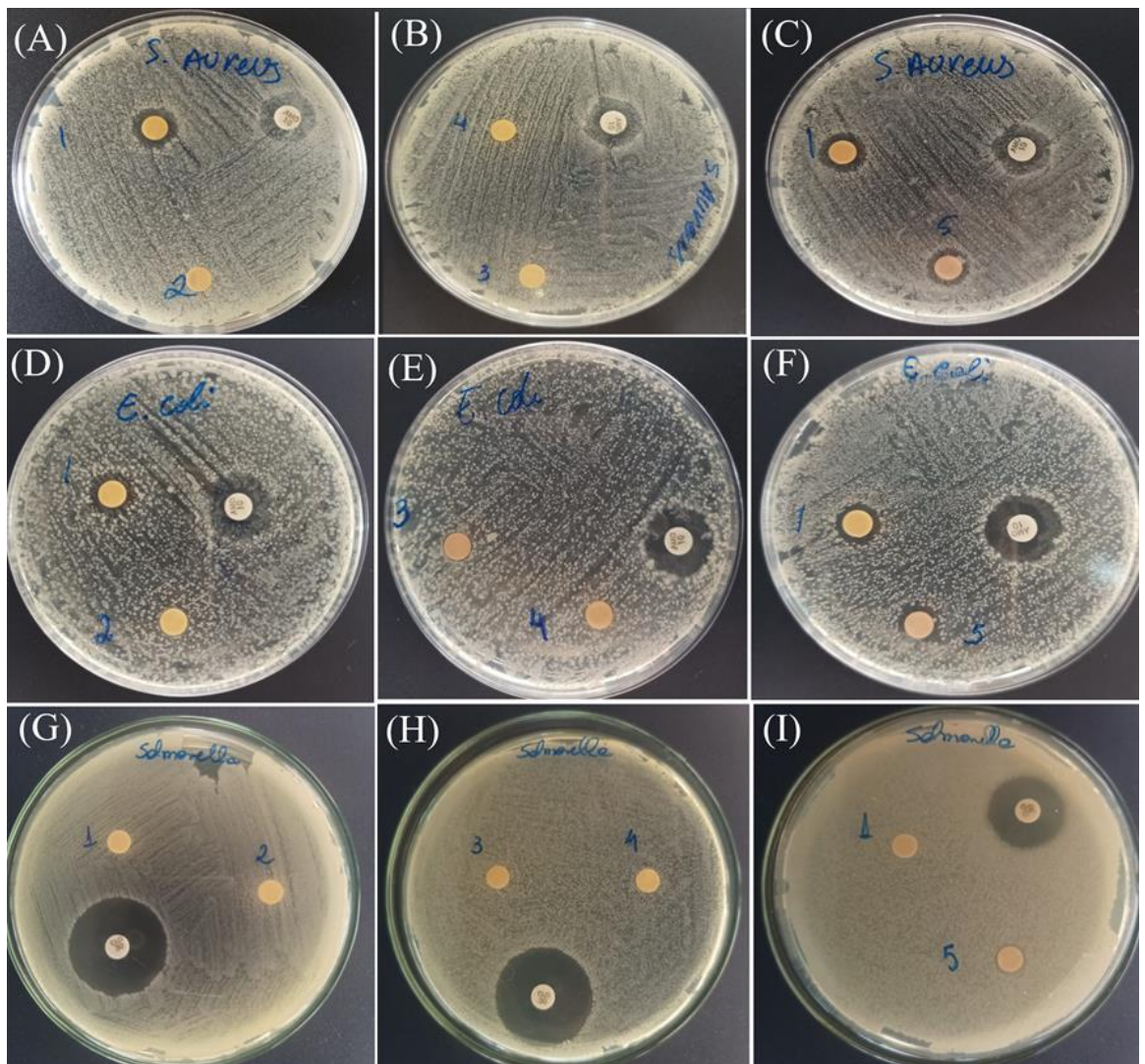
Segundo YUSUF *et al.* (2020), os valores negativos obtidos para potencial Zeta podem ser devido à adsorção de compostos bioativos, como compostos carboxílicos e fenólicos recobrando as AgNPs em síntese envolvendo *Clinacanthus nutans*, além do mais, a temperatura desempenha um fator importante na estabilidade das nanopartículas, assim o valor de potencial Zeta aumenta com o aumento de temperatura, o que pode justificar a diferença entre valores de potencial zeta para a condição 2 em T. ambiente para 70 °C.

As modificações de potencial Zeta quando analisadas em relação ao pH da solução está presente em diversos estudos de síntese de AgNPs. Tormena *et al.* (2020) analisou a viabilidade de AgNPs sintetizadas por extrato de casca de *Handroanthus impetiginosus* para fins antibacterianos. O estudo mostrou que o potencial Zeta da dispersão de AgNPs obtidas na síntese é fortemente sensível ao pH, correlacionando este fato com a presença de grupos funcionais capazes de desprotonar sob condições dependentes do pH, induzindo as cargas de superfície, de modo que, o aumento de pH faz com que tais grupos funcionais possam atingir maior grau de desprotonação, aumentando a quantidade de carga superficial negativa, o que pode gerar aumento na estabilidade dos coloides metálicos. Em acordo com este trabalho e com o estudo de SALAZAR-BRYAM *et al.* (2021) ao aumentar o pH da solução, aumentou-se o potencial Zeta, assim, para AgNPs em condição 2 de diluição de extrato de guaraná, o potencial Zeta foi  $-11,3 \pm 0,2$  (pH 5,5) para  $-22,2 \pm 0,3$  (pH 9,0), onde o maior valor deste parâmetro geralmente vai implicar no aumento da estabilidade coloidal. Em conjunto com os espectros RPS e verificação de precipitados com o decorrer do tempo para essa condição, confirma-se a instabilidade ao se trabalhar com meio ácido na produção de AgNPs utilizando extratos aquosos de guaraná.

## 5.8 Avaliação do ensaio microbiológico

Os resultados obtidos de halo de inibição das AgNPs produzidas estão dispostos na Figura 25. Observa-se maior atividade inibitória para a amostra 1 (síntese em pH 9,0 - condição 1 de diluição de extrato à T. ambiente) com halo de inibição  $11,5 \pm 1,7$  mm frente à *S. aureus*, seguido pela atividade inibitória de  $10,8 \pm 1,1$  mm para *E. coli* sob a mesma condição de síntese, como mostrado na Tabela 5.

**Figura 25** - Resultado das AgNPs em diferentes condições submetidas em diferentes microrganismos, sendo condição 1 de diluição de extrato em pH 9,0 (1), condição 2 em pH 9,0 (2), condição 1 em pH 7 (3), condição 2 em pH 7,0 (4) e condição 1 em pH 5,5, todas produzidas em T. ambiente. Microrganismos *S. aureus* (A, B e C), *E. coli* (D, E e F) e *Salmonella* sp. (G, H, I).



Fonte: A autora (2023).

**Tabela 5** - Atividade antimicrobiana das AgNPs.

| <b>Zonas de inibição (média (mm)± desvio padrão)</b> |                  |                |                       |
|--|------------------|----------------|-----------------------|
| <b>Amostra AgNPs</b>                                 | <i>S. aureus</i> | <i>E. coli</i> | <i>Salmonella sp.</i> |
| Condição 1 em pH 9,0                                 | 11,5 ± 1,7       | 10,8 ± 1,1     | -                     |
| Condição 2 em pH 9,0                                 | -                | -              | -                     |
| Condição 1 e 2 em pH 7,0                             | -                | -              | -                     |
| Condição 1 em pH 5,5                                 | 9,4 ± 1,0        | -              | -                     |
| Antibiótico  | 13,3 ± 1,6       | 14,3 ± 1,1     | 26,3 ± 0,5            |

**Fonte:** A autora (2023).

As AgNPs demonstraram atividade microbicida para *S. aureus* e *E. coli*. Tais resultados corroboram com informações disponíveis na literatura, em que a atividade antibacteriana foi eficaz para estes dois microrganismos. Apesar de diferentes trabalhos sugerirem que a classe Gram-positiva não seja tão suscetível a ação das AgNPs quanto bactérias Gram-negativas, devido a diferença de interação com a parede celular bacteriana (MOHAMED; HASSAN; HASSAN, 2023), o presente estudo demonstrou potencial das AgNPs contra essa classe de bactérias. Neste sentido, a ação de AgNPs produzidas por rotas verdes contra bactérias Gram-positivas foram discutidas em estudos relacionados às propriedades antibacterianas. Ananda *et al.* (2019) avaliaram danos na membrana celular de *S. aureus* ocasionada por tratamentos com AgNPs sintetizadas mediante extratos de *P. cordifolia*, mostrando que a superfície da célula bacteriana ficou severamente danificada, causando vazamento celular e efluxo de potássio. Adicionalmente, Quinteros *et al.* (2018) reportaram que bactérias de ambas as classes podem sofrer estresse oxidativo mediado pelo aumento de espécies reativas de oxigênio (ROS) quando estão em presença de AgNPs, ocasionando morte bacteriana.

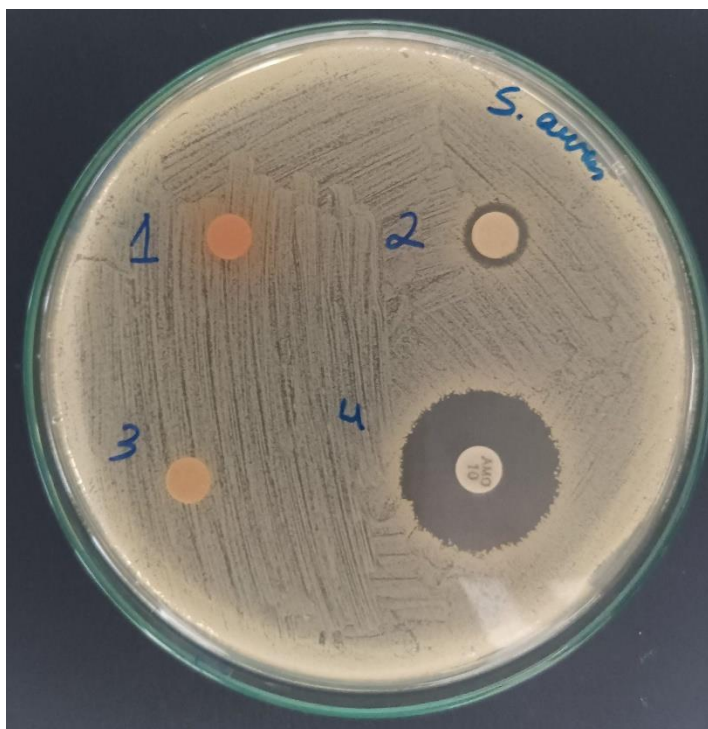
Diferentes estudos sugerem que o aumento na área superficial das AgNPs está relacionado com a capacidade antibacteriana (AHMED *et al.*, 2021). Autores indicam que estruturas com tamanhos reduzidos e formatos esferoidais tenham ação antibacteriana maior em decorrência da maior liberação de cátions  $Ag^+$ , tal espécie se liga a grupos funcionais presentes na parede celular bacteriana ocasionando eventos que levam morte celular (BARABADI *et al.*, 2021). Contudo, ao relacionar os tamanhos médios e formatos das AgNPs produzidas com a sensibilidade dos microrganismos à essas nanoestruturas metálicas, observa-se que a síntese de AgNPs em condição 1 de diluição de extrato de guaraná em pH 9,0 à T. ambiente apresentou formas correspondentes a esferoides facetados de maior tamanho médio



( $32,0 \pm 0,6$  nm) quando comparado às outras condições de síntese em pH 9,0, sendo esta condição a apresentar maior atividade antibacteriana para *S. aureus* e *E. coli*.

Neste sentido, a atividade antimicrobiana sendo avaliada ao correlacionar formatos e tamanhos de MNPs sintetizadas via abordagem verde traz consigo considerações acerca do extrato vegetal utilizado na síntese, uma vez que as moléculas orgânicas presentes nestes extratos são capazes de influenciar as características das MNPs produzidas (VISHWANATH; NEGI, 2021). Desta maneira, a ação antibacteriana do extrato aquoso de guaraná foi avaliada para os mesmos microrganismos testados para as AgNPs, não apresentando resposta microbicida para nenhuma bactéria. Adicionalmente, a solução de  $\text{AgNO}_3$  foi utilizada como controle negativo como apresentado na Figura 26, apresentando zona de inibição de  $9,1 \pm 0,6$  mm somente para *S. aureus*, portanto, a atividade antimicrobiana foi potencializada quando a prata estava na forma de nanopartículas.

**Figura 26** - Antibiograma contendo discos emergidos em: extrato aquoso de guaraná (1), solução aquosa de  $\text{AgNO}_3$  (2), solução de AgNPs produzidas em condição 2 em pH 9,0 à 70 °C (3) e antibiótico (4).



Fonte: A autora (2023).

Ao avaliar as AgNPS produzidas na condição 2 à temperatura elevada observa-se mediante micrografias TEM a diminuição nas dimensões das partículas, bem como NPs mais dispersas em comparação à síntese em T. ambiente. Esperava-se que essas AgNPs apresentassem maior ação antibacteriana, uma vez que as informações sobre maior atividade

antimicrobiana na literatura estão voltadas para NPs com tamanhos mais reduzidos, o qual terão maior área superficial, além de seus formatos serem voltados para esféricos. Contudo, não foi identificado zona de inibição em relação aos microrganismos testados para essa condição de síntese, como mostrado na Figura 26 (item 3).

## 6. CONCLUSÃO

Mediante o conhecimento prévio sobre a composição química do guaraná (*Paullinia cupana*) através de estudos sobre este extrato vegetal e dos resultados da espectroscopia eletrônica UV-Vis foi possível identificar possíveis grupos reativos de compostos orgânicos envolvidos no processo de redução dos íons prata para formação de AgNPs. A síntese das nanoestruturas metálicas mediadas por extratos aquosos de guaraná foi realizada investigando os efeitos dos parâmetros físico-químicos, como a influência da concentração do agente redutor, pH e temperatura do meio reacional.

Nesta perspectiva, o aumento gradual nos valores de pH do meio reacional somado à concentração do extrato de guaraná tiveram grande influência na estabilidade e quantidade de AgNPs produzidas, onde as condições de síntese de NPs em temperatura ambiente utilizando extratos aquosos mais diluídos em meio alcalino sugerem maiores taxas de formação de nanopartículas de menor diâmetro e mais uniformes. De forma geral, observa-se que o potencial de formação de AgNPs está atrelada à qualidade do extrato vegetal envolvido na síntese, uma vez que este fator é dependente da quantidade de compostos orgânicos presentes em sua composição.

Associados a espectroscopia UV-Vis, os resultados da análise TEM sugerem formatos e tamanhos distintos para diferentes condições de síntese das AgNPs. Ao contrário da síntese em meio ácido, NPs monodispersas com diâmetros bem reduzidos e formatos esferoidais foram produzidas em pH 9,0, em que o aumento na temperatura de síntese intensificou essas características, sendo observadas em conjunto aos resultados de potencial Zeta e DLS. O teste de halo de inibição indicou maior atividade antibacteriana das AgNPs produzidas em pH 9,0 em condição 1 à temperatura ambiente para *S. aureus* e *E. coli*. Tal condição de síntese apresentou formatos definidos, sendo esferoides facetados de diâmetro hidrodinâmico de  $32,0 \pm 0,6$  nm.

## 7. REFERÊNCIAS

ABBASI, E. *et al.* Silver nanoparticles: synthesis methods, bio-applications and properties. **Critical Reviews in Microbiology**, v. 42, n. 2, p. 173-180, 2016.

ABDUSSALAM-MOHAMMED, W. Review of Therapeutic Applications of Nanotechnology in Medicine Field and its Side Effects. **Journal of Chemical Reviews**, v. 1, n. 3, p. 243-251, 2019.

ADIL, S. F. *et al.* Biogenic synthesis of metallic nanoparticles and prospects toward green chemistry. **Dalton Transactions**, v. 44, n. 21, p. 9709-9717, 2015.

AHMADI, M. *et al.* Nanomaterials as sorbents for sample preparation in bioanalysis: A review. **Analytica Chimica Acta**, v. 958, p. 1-21, 2017.

AHMAD, S. A. *et al.* Bactericidal activity of silver nanoparticles: A mechanistic review. **Materials Science for Energy Technologies**, v. 1, n. 3, p. 756-769, 2020.

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.

ALBUKHARI, S. M. *et al.* Catalytic reduction of nitrophenols and dyes using silver nanoparticles@ cellulose polymer paper for the resolution of waste water treatment challenges. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v. 577, p. 548-561, 2019.

ALI, M. *et al.* Advancements in Plant and Microbe-Based Synthesis of Metallic Nanoparticles and Their Antimicrobial Activity against Plant Pathogens. **Nanomaterials**, v. 10, n. 6, artigo 1146, 2020.

ALNAYLI, R. S; AL HAMADANI, A. H.; YASEEN, S. A. Antimicrobial Effect of Diode Laser and Biosynthesis Silver Nanoparticles on *Escherichia coli in vitro*. **Al-Qadisiyah Medical Journal**, v. 13, n. 24, p. 87-93, 2017.

ALSAMMARRAIE, F. K. *et al.* Green synthesis of silver nanoparticles using turmeric extracts and investigation of their antibacterial activities. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 171, p. 398-405, 2018.

AMEEN, F. *et al.* Flavonoid dihydromyricetin-mediated silver nanoparticles as potential nanomedicine for biomedical treatment of infections caused by opportunistic fungal pathogens. **Research on Chemical Intermediates**, v. 44, n. 9, p. 5063-5073, 2018.

AMENDOLA, V.; BAKR, O. M.; STELLACCI, F. A study of the surface plasmon resonance of silver nanoparticles by the discrete dipole approximation method: effect of shape, size, structure, and assembly. **Plasmonics**, v. 5, n. 1, p. 85-97, 2010.

AMIRJANI, A.; FATMEHSARI, D. H. Colorimetric detection of ammonia using smartphones based on localized surface plasmon resonance of silver nanoparticles. **Talanta**, v. 176, p. 242-246, 2018.

ANANDA, A. P. *et al.* Assessment of antibacterial efficacy of a biocompatible nanoparticle PC@ AgNPs against *Staphylococcus aureus*. **Microbial pathogenesis**, v. 126, p. 27-39, 2019.

ATOMSSA, T.; GHOLAP, A. V. Characterization and determination of catechins in green tea leaves using UV-visible spectrometer. **Journal Engineering Technology Research**, v. 7, n. 1, p. 22-31, 2015.

ARAMPATH, P. C.; DEKKER, M. Bulk storage of mango (*Mangifera indica* L.) and pineapple (*Ananas comosus* L.) pulp: effect of pulping and storage temperature on phytochemicals and antioxidant activity. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 99, n. 11, p. 5157-5167, 2019.

ARAUJO, D. P. *et al.* The use of guarana (*Paullinia cupana*) as a dietary supplement for fatigue in cancer patients: a systematic review with a meta-analysis. **Supportive Care in Cancer**, v. 29, n. 12, p. 7171-7182, 2021.

AZAM, S. *et al.* Antioxidant and prooxidant properties of caffeine, theobromine and xanthine. **Medical Science Monitor: International Medical Journal of Experimental and Clinical Research**, v. 9, n. 9, p. 30-325, 2003.

BADI'AH, H. I. *et al.* Synthesis of silver nanoparticles and the development in analysis method. In: **IOP Conference Series: Earth and Environmental Science**, v. 217, n. 1, artigo 012005, 2019.

BANDEIRA, M. *et al.* Mechanism of formation, characterization and cytotoxicity of green synthesized zinc oxide nanoparticles obtained from *Ilex paraguariensis* leaves extract. **Nano-Structures & Nano-Objects**, v. 24, artigo 100532, 2020.

BARABADI, H. *et al.* Green synthesis, characterization, antibacterial and biofilm inhibitory activity of silver nanoparticles compared to commercial silver nanoparticles. **Inorganic Chemistry Communications**, v. 129, artigo 108647, 2021.

BAYDA, S. *et al.* The history of nanoscience and nanotechnology: From chemical–physical applications to nanomedicine. **Molecules**, v. 25, n. 1, artigo 112, 2020.

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

BOUHDADA, M.; AMANE, M. EL; HAMDANI, H. EL. Synthesis, characterization, antimicrobial activity, DFT and molecular docking studies of the N-salicylidene-glycinato and their metal mixed ligand complexes with caffeine. **Journal of Molecular Structure**, v. 1231, artigo 129679, 2021.

BUKHARI, S. B. *et al.* Synthesis, characterization and antioxidant activity copper–quercetin complex. **Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, v. 71, n. 5, p. 1901-1906, 2009.

CANDAN, İ. *et al.* Biosensor properties of plasmonic silver nanoparticles produced by the PLD mechanism. **Middle East Journal of Science**, v. 7, n. 2, p. 112-122, 2021.

CAO, X. L. *et al.* Preparation of silver nanoparticles with antimicrobial activities and the researches of their biocompatibilities. **Journal of Materials Science: Materials in Medicine**, v. 21, n. 10, p. 2861-2868, 2010.

CARVALHO, L. V. N. *et al.* Evaluation of antibacterial, antineoplastic, and immunomodulatory activity of *Paullinia cupana* seeds crude extract and ethyl-acetate fraction. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2016, artigo 1203274, 2016.

CHAVES, J. O. *et al.* Extraction of flavonoids from natural sources using modern techniques. **Frontiers in Chemistry**, v. 8, artigo 507887, 2020.

CHEON, J. Y. *et al.* Shape-dependent antimicrobial activities of silver nanoparticles. **International journal of nanomedicine**, v. 14, p. 2773-2780, 2019.

CHRISTOFFERSON, A. J. *et al.* Conformationally tuned antibacterial oligomers target the peptidoglycan of Gram-positive bacteria. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 580, p. 850-862, 2020.

CHUNFA, D. *et al.* Rapid and green synthesis of monodisperse silver nanoparticles using mulberry leaf extract. **Rare Metal Materials and Engineering**, v. 47, n. 4, p. 1089-1095, 2018.

DADA, A. O. *et al.* Exploring the effect of operational factors and characterization imperative to the synthesis of silver nanoparticles. *In*: Khan Maaz. (ed). **Silver Nanoparticles-Fabrication, Characterization and Applications**. IntechOpen Limited. London, p. 165-184, 2018.

DA SILVA, C. P. *et al.* Guarana as a source of bioactive compounds. **Journal of Food Bioactives**, v. 6, p. 1-5, 2019.

DA SILVA, G. S. *et al.* Chemical profiling of guarana seeds (*Paullinia cupana*) from different geographical origins using UPLC-QTOF-MS combined with chemometrics. **Food Research International**, v. 102, p. 700-709, 2017.

DECAROLIS, D. *et al.* Identification of the key steps in the self-assembly of homogeneous gold metal nanoparticles produced using inverse micelles. **Physical Chemistry Chemical Physics**, v. 22, n. 34, p. 18824-18834, 2020.

DHIVYA, S. M.; KALAICHELVI, K. UV-Vis spectroscopic and FTIR analysis of *Sarcostemma brevistigma*, wight. and arn. **International Journal of Herbal Medicine**, v. 9, n. 3, p. 46-49, 2017.

DONG, C. *et al.* Green synthesis of biocompatible silver nanoparticles mediated by *Osmanthus fragrans* extract in aqueous solution. **Optik**, v. 127, n. 22, p. 10378-10388, 2016.

ELAMAWI, R. M.; AL-HARBI, R. E.; HENDI, A. A. Biosynthesis and characterization of silver nanoparticles using *Trichoderma longibrachiatum* and their effect on phytopathogenic fungi. **Egyptian Journal of Biological Pest Control**, v. 28, n. 1, p. 1-11, 2018.

FANORO, O. T.; OLUWAFEMI, O. S. Bactericidal antibacterial mechanism of plant synthesized silver, gold and bimetallic nanoparticles. **Pharmaceutics**, v. 12, n. 11, p. 1044-1063, 2020.

FARZANA, B. A.; BANU, A. M.; AHAMED, K. R. Andrographis echioides leaves extract as an eco-friendly corrosion inhibitor for mild steel in acid medium. **Materials Today: Proceedings**, v. 47, p. 2080-2090, 2021.

FENG, W.; HAO, Z.; LI, M. Isolation and structure identification of flavonoids. *In*: JUSTINO, C. G (ed). **Flavonoids-From Biosynthesis to Human Health**. IntechOpen Limited. London, 2017, capítulo 1, p. 17-43.

GARDEA-TORRESDEY, J. L. *et al.* Alfalfa sprouts: a natural source for the synthesis of silver nanoparticles. **Langmuir**, v. 19, n. 4, p. 1357-1361, 2003.

GUIDELLI, E. J.; RAMOS, A. P.; BAFFA, O. Optically stimulated luminescence under plasmon resonance conditions enhances x-ray detection. **Plasmonics**, v. 9, n. 5, p. 1049-1056, 2014.

GÜZEL, R.; ERDAL, G. Synthesis of silver nanoparticles. *In*: MAAZ, K. (ed.) **Silver Nanoparticles - Fabrication, Characterization and Applications**. IntechOpen Limited. London, p. 3-20, 2018.

HAFEEZ, M. *et al.* Green synthesis of cobalt oxide nanoparticles for potential biological applications. **Materials Research Express**, v. 7, n. 2, artigo 025019, 2020.

HAGOS, M. *et al.* Correlation between caffeine contents of green coffee beans and altitudes of the coffee plants grown in southwest Ethiopia. **Bulletin of the Chemical Society of Ethiopia**, v. 32, n. 1, p. 13-25, 2018.

HUANG, C. C.; CHEN, W. A SERS method with attomolar sensitivity: a case study with the flavonoid catechin. **Microchimica Acta**, v. 185, n. 2, artigo 120, 2018.

HUSSAIN, M. *et al.* Applications of plant flavonoids in the green synthesis of colloidal silver nanoparticles and impacts on human health. **Iranian Journal of Science and Technology, Transactions A: Science**, v. 43, n. 3, p. 1381-1392, 2019.

HUSSAIN, S.; KHAN, Z. Epigallocatechin-3-gallate-capped Ag nanoparticles: preparation and characterization. **Bioprocess and Biosystems Engineering**, v. 37, n. 7, p. 1221-1231, 2014.

IRAVANI, S.; ZOLFAGHARI, B. Green synthesis of silver nanoparticles using *Pinus eldarica* bark extract. **BioMed Research International**, v. 2013, 2013.

ISMAIL, E. H. *et al.* Successful green synthesis of gold nanoparticles using a *Corchorus olitorius* extract and their antiproliferative effect in cancer cells. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 19, n. 9, artigo 2612, 2018.

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.

JANITSCHKE, D. *et al.* Unique role of caffeine compared to other methylxanthines (theobromine, theophylline, pentoxifylline, propentofylline) in regulation of ad relevant genes in neuroblastoma sh-sy5y wild type cells. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 21, n. 23, artigo 9015, 2020.



JEEVANANDAM, J. *et al.* Review on nanoparticles and nanostructured materials: history, sources, toxicity and regulations. **Beilstein Journal of Nanotechnology**, v. 9, n. 1, p. 1050-1074, 2018.

KAMALAKANNAN, R. *et al.* Caffeine-loaded gold nanoparticles conjugated with PLA-PEG-PLA copolymer for in vitro cytotoxicity and anti-inflammatory activity. **Journal of Industrial and Engineering Chemistry**, v. 51, p. 113-121, 2017.

KAUSHAL, S. *et al.* Strategies for the development of metallic-nanoparticle-based label-free biosensors and their biomedical applications. **ChemBioChem**, v. 21, n. 5, p. 576-600, 2020.

KATIYAR, N. K. *et al.* Stabilization of a highly concentrated colloidal suspension of pristine metallic nanoparticles. **Langmuir**, v. 35, n. 7, p. 2668-2673, 2019.

KEÇILI, R.; BÜYÜKTIRYAKI, S; HUSSAIN, C. M. Advancement in bioanalytical science through nanotechnology: Past, present and future. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, v. 110, p. 259-276, 2019.

KEJÍK, Z. *et al.* Iron complexes of flavonoids-antioxidant capacity and beyond. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 22, n. 2, artigo 646, 2021.

KHEZERLOU, A. *et al.* Nanoparticles and their antimicrobial properties against pathogens including bacteria, fungi, parasites and viruses. **Microbial Pathogenesis**, v. 123, p. 505-526, 2018.

KIM, J.; LEE, C.; RYU, J. H. Adhesive catechol-conjugated hyaluronic acid for biomedical applications: A mini review. **Applied Sciences**, v. 11, n. 1, artigo 21, 2020.

LEE, B. *et al.* Statistical characterization of the morphologies of nanoparticles through machine learning based electron microscopy image analysis. **ACS nano**, v. 14, n. 12, p. 17125-17133, 2020.

LEÓN-CARMONA, J. R.; GALANO, A. Is caffeine a good scavenger of oxygenated free radicals?. **The Journal of Physical Chemistry B**, v. 115, n. 15, p. 4538-4546, 2011.

LIAO, C.; LI, Y.; TJONG, S. C. Bactericidal and cytotoxic properties of silver nanoparticles. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 20, n. 2, artigo 449, 2019.

LIMA, N. D. S. *et al.* Modulatory effects of guarana (*Paullinia cupana*) on adipogenesis. **Nutrients**, v. 9, n. 6, p. 635, 2017.

LIN, J. *et al.* Durably antibacterial and bacterially antiadhesive cotton fabrics coated by cationic fluorinated polymers. **ACS Applied Materials & Interfaces**, v. 10, n. 7, p. 6124-6136, 2018.

LIU, C. *et al.* Spermine increases bactericidal activity of silver-nanoparticles against clinical methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. **Chinese Chemical Letters**, v. 29, n. 12, p. 1824-1828, 2018.

LIU, L. *et al.* Reversible assembly and dynamic plasmonic tuning of Ag nanoparticles enabled by limited ligand protection. **Nano Letters**, v. 18, n. 8, p. 5312-5318, 2018.

LUNARDI, C. e N. *et al.* Experimental methods in chemical engineering: Zeta potential. **The Canadian Journal of Chemical Engineering**, v. 99, n. 3, p. 627-639, 2021.

MACHADO, K. N. *et al.* A rapid simultaneous determination of methylxanthines and proanthocyanidins in Brazilian guaraná (*Paullinia cupana* Kunth.). **Food Chemistry**, v. 239, p. 180-188, 2018.

MAJHENIČ, L.; ŠKERGET, M.; KNEZ, Ž. Antioxidant and antimicrobial activity of guarana seed extracts. **Food Chemistry**, v. 104, n. 3, p. 1258-1268, 2007.

MAKAROV, V. V. *et al.* "Green" nanotechnologies: synthesis of metal nanoparticles using plants. **Acta Naturae**, v. 6, n. 1 (20), p. 35-44, 2014.

MALEKI, S. J.; CRESPO, J. F.; CABANILLAS, B. Anti-inflammatory effects of flavonoids. **Food Chemistry**, v. 299, artigo 125124, 2019.

MAOELA, Manki S. et al. Electroanalytical determination of catechin flavonoid in ethyl acetate extracts of medicinal plants. **International Journal of Electrochemical Science**, v. 4, p. 1497-1510, 2009.

MARQUES, L. L. M. et al. *Paullinia cupana*: a multipurpose plant—a review. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 29, n. 1, p. 77-110, 2019.

MARSLIN, G. et al. Secondary metabolites in the green synthesis of metallic nanoparticles. **Materials**, v. 11, n. 6, artigo 940, 2018.

MEVA, F.E. et al. Silver and palladium nanoparticles produced using a plant extract as reducing agent, stabilized with an ionic liquid: sizing by X-ray powder diffraction and dynamic light scattering. **Journal of Materials Research and Technology**, v. 8, n. 2, p. 1991-2000, 2019.

MOCK, J. J. et al. Shape effects in plasmon resonance of individual colloidal silver nanoparticles. **The Journal of Chemical Physics**, v. 116, n. 15, p. 6755-6759, 2002.

MOHAMMED, A. M.; HASSAN, K. T.; HASSAN, O. M. Assessment of antimicrobial activity of chitosan/silver nanoparticles hydrogel and cryogel microspheres. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 233, artigo 123580, 2023.

MUHAMMED, B. L.; SEID, Mohammed H.; HABTE, A. T. Determination of Caffeine and Hydrogen Peroxide Antioxidant Activity of Raw and Roasted Coffee Beans Around Habru Woreda, Ethiopia Using UV-Vis Spectroscopy. **Clinical Pharmacology: Advances and Applications**, v. 13, p. 101-113, 2021.

MUSINO, D. et al. Hydroxyl groups on cellulose nanocrystal surfaces form nucleation points for silver nanoparticles of varying shapes and sizes. **Journal of Colloid And Interface Science**, v. 584, p. 360-371, 2021.

NADAROGLU, H.; GÜNGÖR, A. A.; SELVI, İ. N. C. E. Synthesis of nanoparticles by green synthesis method. **International Journal of Innovative Research and Reviews**, v. 1, n. 1, p. 6-9, 2017.

NAGAR, N.; DEVRA, V. Green synthesis and characterization of copper nanoparticles using *Azadirachta indica* leaves. **Materials Chemistry and Physics**, v. 213, p. 44-51, 2018.

NAYAK, D. *et al.* Bark extract mediated green synthesis of silver nanoparticles: evaluation of antimicrobial activity and antiproliferative response against osteosarcoma. **Materials Science and Engineering: C**, v. 58, p. 44-52, 2016.

NINA, N. V. dos S. *et al.* Phytochemistry divergence among guarana genotypes as a function of agro-industrial characters. **Crop science**, v. 61, n. 1, p. 443-455, 2021.

NISAR, P. *et al.* Antimicrobial activities of biologically synthesized metal nanoparticles: an insight into the mechanism of action. **Journal of Biological Inorganic Chemistry**, v. 24, n. 7, p. 929-941, 2019.

NISTOR, M. *et al.* Anthocyanins as Key Phytochemicals Acting for the Prevention of Metabolic Diseases: An Overview. **Molecules**, v. 27, n. 13, artigo 4254, 2022.

NOVAKI, L. P. *et al.* Analysis of Consumer Products: Demonstrating the Power of LC-MS/MS for the Simultaneous Analysis of Caffeine and Other Methylxanthines in Guaraná Fruit Powder Extract. **Journal of Chemical Education**, v. 98, n. 6, p. 2083-2089, 2021.

OMIDI, S. *et al.* Biosynthesis of silver nanoparticles with *Adiantum capillus-veneris* L leaf extract in the batch process and assessment of antibacterial activity. **Green Chemistry Letters and Reviews**, v. 11, n. 4, p. 544-551, 2018.

OMOBAYO A. S. *et al.* Biogenic synthesis of silver nanoparticles; study of the effect of physicochemical parameters and application as nanosensor in the colorimetric detection of Hg<sup>2+</sup> in water. **International Journal of Environmental Analytical Chemistry**, v. 96, n. 8, p. 776-788, 2016.

PAIVA, L. *et al.* Variability of antioxidant properties, catechins, caffeine, L-theanine and other amino acids in different plant parts of Azorean *Camellia sinensis*. **Current Research in Food Science**, v. 3, p. 227-234, 2020.

PAJERSKI, W. *et al.* Attachment efficiency of gold nanoparticles by Gram-positive and Gram-negative bacterial strains governed by surface charges. **Journal of Nanoparticle Research**, v. 21, n. 8, artigo 186, 2019.

PAL, S.; TAK, Y. K.; SONG, J. M. Does the antibacterial activity of silver nanoparticles depend on the shape of the nanoparticle? A study of the gram-negative bacterium *Escherichia coli*. **Applied and environmental microbiology**, v. 73, n. 6, p. 1712-1720, 2007

PALLAVICINI, P. *et al.* Silver nanoparticles synthesized and coated with pectin: An ideal compromise for anti-bacterial and anti-biofilm action combined with wound-healing properties. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 498, p. 271-281, 2017.

PHAN, H. T.; HAES, A. J. What does nanoparticle stability mean?. **The Journal of Physical Chemistry C**, v. 123, n. 27, p. 16495-16507, 2019.

PANTIDOS, N.; HORSFALL, L. E. Biological synthesis of metallic nanoparticles by bacteria, fungi and plants. **Journal of Nanomedicine & Nanotechnology**, v. 5, n. 5, p. 1-10, 2014.

PATHAKOTI, K.; MANUBOLU, M.; HWANG, H. Nanotechnology applications for environmental industry. *In*: HUSSAIN, C. M. (ed.) **Handbook of Nanomaterials For Industrial Applications**. New Jersey: Elsevier, p. 894-907, 2018.

PAVIA, D. L. *et al.* **Introdução à Espectroscopia**. Tradução da 4ª edição norte-americana. São Paulo: Cengage Learning, capítulo 7, 2010.

PIRTARIGHAT, S.; GHANNADNIA, M.; BAGHSHAHI, S. Green synthesis of silver nanoparticles using the plant extract of *Salvia spinosa* grown in vitro and their antibacterial activity assessment. **Journal of Nanostructure in Chemistry**, v. 9, p. 1-9, 2019.

PRABHU, S.; POULOSE, E. K. Silver nanoparticles: mechanism of antimicrobial action, synthesis, medical applications, and toxicity effects. **International Nano Letters**, v. 2, n. 1, artigo n 32, 2012.

PRADEEP, M. *et al.* Uncovering the phytochemical basis and the mechanism of plant extract-mediated eco-friendly synthesis of silver nanoparticles using ultra-performance liquid chromatography coupled with a photodiode array and high-resolution mass spectrometry. **ACS Sustainable Chemistry & Engineering**, v. 10, n. 1, p. 562-571, 2021.

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.

PRATHNA, T. C. *et al.* Biomimetic synthesis of silver nanoparticles by *Citrus limon* (lemon) aqueous extract and theoretical prediction of particle size. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 82, n. 1, p. 152-159, 2011.

PU, F. *et al.* Nucleotide-based assemblies for green synthesis of silver nanoparticles with controlled localized surface plasmon resonances and their applications. **ACS Applied Materials & Interfaces**, v. 10, n. 12, p. 9929-9937, 2018.

QUINTEROS, M. A. *et al.* Biosynthesized silver nanoparticles: Decoding their mechanism of action in *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*. **The International Journal of Biochemistry & Cell Biology**, v. 104, p. 87-93, 2018.

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

RAHMAN, S. *et al.* Endophyte-mediated synthesis of silver nanoparticles and their biological applications. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 103, n. 6, p. 2551-2569, 2019.

RAMEŠOVÁ, Š. *et al.* On the stability of the bioactive flavonoids quercetin and luteolin under oxygen-free conditions. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 402, n. 2, p. 975-982, 2012.

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

RESTREPO, C. V.; VILLA, C. C. Synthesis of silver nanoparticles, influence of capping agents, and dependence on size and shape: A review. **Environmental Nanotechnology, Monitoring & Management**, v. 15, artigo 100428, 2021.

RIAZ, M. *et al.* Exceptional antibacterial and cytotoxic potency of monodisperse greener AgNPs prepared under optimized pH and temperature. **Scientific Reports**, v. 11, n. 1, artigo 2866, 2021.

ROGGIA, I. *et al.* Guarana: Stability-Indicating RP-HPLC method and safety profile using microglial cells. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 94, artigo 103629, 2020.

ROLIM, W. R. *et al.* Green tea extract mediated biogenic synthesis of silver nanoparticles: Characterization, cytotoxicity evaluation and antibacterial activity. **Applied Surface Science**, v. 463, p. 66-74, 2019.

SALAZAR-BRYAM, A. M. *et al.* Silver nanoparticles stabilized by ramnolipids: Effect of pH. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 205, artigo 111883, 2021.

SALOMÃO-OLIVEIRA, A. *et al.* Benefits and Effectiveness of Using *Paullinia cupana*: A Review Article. **Journal of Food and Nutrition Research**, v. 6, n. 8, p. 497-503, 2018.

SAMPAIO, S.; VIANA, J. C. Production of silver nanoparticles by green synthesis using artichoke (*Cynara scolymus* L.) aqueous extract and measurement of their electrical conductivity. **Advances in Natural Sciences: Nanoscience and Nanotechnology**, v. 9, n. 4, artigo 045002, 2018.

SANDHU, S. S.; SHUKLA, H.; SHUKLA, S. Biosynthesis of silver nanoparticles by endophytic fungi: Its mechanism, characterization techniques and antimicrobial potential. **African Journal of Biotechnology**, v. 16, n. 14, p. 683-698, 2017.

SANTANA, Á. L.; MACEDO, G. A. Effects of hydroalcoholic and enzyme-assisted extraction processes on the recovery of catechins and methylxanthines from crude and waste seeds of guarana (*Paullinia cupana*). **Food Chemistry**, v. 281, p. 222-230, 2019.

SANTANA, À L.; MACEDO, G. A. Health and technological aspects of methylxanthines and polyphenols from guarana: A review. **Journal of Functional Foods**, v. 47, p. 457-468, 2018.

SANTIAGO-MEDINA, F. J. *et al.* Polycondensation resins by flavonoid tannins reaction with amines. **Polymers**, v. 9, n. 2, artigo 37, 2017.

SANTOS, E. L. *et al.* Flavonoids: Classification, biosynthesis and chemical ecology. *In*: JUSTINO, C. G (ed). **Flavonoids-From Biosynthesis to Human Health**. IntechOpen Limited. London, 2017, capítulo 1, p. 3-16.

SARKAR, S.; SARKAR, S.C. Application of nanotechnology in Medicine. *In*:SARKAR, S.; SARKAR, S.C. (eds.) **Research Trends in Medical Sciences**. New Delhi: Akinik Publications, 2019, capítulo 4, p.49-72.

SEIFIPOUR, R.; NOZARI, M.; PISHKAR, L. Green synthesis of silver nanoparticles using *Tragopogon collinus* leaf extract and study of their antibacterial effects. **Journal of Inorganic and Organometallic Polymers and Materials**, v. 30, n. 8, p. 2926-2936, 2020.

SHANKAR, S. S.; AHMAD, A.; SASTRY, M. Geranium leaf assisted biosynthesis of silver nanoparticles. **Biotechnology Progress**, v. 19, n. 6, p. 1627-1631, 2003.

SILVA, P. V. *et al.* Toxicokinetics of pristine and aged silver nanoparticles in *Physa acuta*. **Environmental Science: Nano**, v. 7, n. 12, p. 3849-3868, 2020.

ŠIMUNKOVÁ, M. *et al.* Structure functionality relationship of flavonoids (myricetin, morin, taxifolin and 3', 4'-dihydroxyflavone). A computational study via the cupric ion probe. **Journal of Molecular Structure**, v. 1222, artigo 128923, 2020.

SINGH, A. *et al.* Green synthesis of metallic nanoparticles as effective alternatives to treat antibiotics resistant bacterial infections: A review. **Biotechnology Reports**, v. 25, artigo e00427, 2020.

SINGH, P.; MIJAKOVIC, I. Antibacterial effect of silver nanoparticles is stronger if the production host and the targeted pathogen are closely related. **Biomedicines**, v. 10, n. 3, artigo 628, 2022.



SMITHA, S. L. *et al.* Studies on surface plasmon resonance and photoluminescence of silver nanoparticles. **Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, v. 71, n. 1, p. 186-190, 2008.

SOOD, R.; CHOPRA, D. S. Metal–plant frameworks in nanotechnology: an overview. **Phytomedicine**, v. 50, p. 148-156, 2018.

SUI, M. *et al.* Strongly confined localized surface plasmon resonance (LSPR) bands of Pt, AgPt, AgAuPt nanoparticles. **Scientific Reports**, v. 9, n. 1, p. 1-14, 2019.

TAN, J. *et al.* Browning of epicatechin (EC) and epigallocatechin (EGC) by auto-oxidation. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 68, n. 47, p. 13879-13887, 2020.

TAVARES, T. D. *et al.* Activity of Specialized Biomolecules against Gram-Positive and Gram-Negative Bacteria. **Antibiotics**, v. 9, n. 6, artigo 314, 2020.

THOMAS, J. *et al.* Morphology dependent nonlinear optical and photocatalytic activity of anisotropic plasmonic silver. **RSC Advances**, v. 8, n. 72, p. 41288-41298, 2018.

TORMENA, R. P. I. *et al.* Evaluation of the antimicrobial activity of silver nanoparticles obtained by microwave-assisted green synthesis using *Handroanthus impetiginosus* (Mart. ex DC.) Mattos underbark extract. **RSC advances**, v. 10, n. 35, p. 20676-20681, 2020.

TORRES, E. A. F. S *et al.* Effects of the consumption of guarana on human health: A narrative review. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 21, n. 1, p. 272-295, 2022.

TRICAUD, S.; PINTON, F.; PEREIRA, H.S. Saberes e práticas locais dos produtores de guaraná (*Paullinia cupana* Kunth var. *sorbilis*) do médio Amazonas: duas organizações locais frente à inovação. **Boletim do Museu Paraense Emílio Goeldi. Ciências Humanas**, v. 11, n. 1, p. 33-53, 2016.

UEKANE, T. M.; ROCHA-LEÃO, M. H. M.; REZENDE, C. M. Compostos sulfurados no aroma do café: origem e degradação. **Revista Virtual de Química**, v. 5, n. 5, p. 891-911, 2013.

UIVAROSI, V.; MUNTEANU, A. Flavonoid complexes as promising anticancer metallodrugs. *In*: Gonçalo C. J. (ed.) **Flavonoids-from Biosynthesis to Human Health**. IntechOpen Limited. London p. 305-337, 2017.

VIEIRA, A. J. C.; GASPAR, E. M.; SANTOS, P. M. P. Mechanisms of potential antioxidant activity of caffeine. **Radiation Physics and Chemistry**, v. 174, artigo 108968, 2020.

VISHWANATH, R.; NEGI, B. Conventional and green methods of synthesis of silver nanoparticles and their antimicrobial properties. **Current Research in Green and Sustainable Chemistry**, v. 4, artigo 100205, 2021.

YADAV, M.; UPADHYAY, K. K. Nanoparticles of Coinage Metals as Nanoresonators and Their Applications in Analyte Sensing. **Journal of Scientific Research**, v. 64, n. 1, p. 307-313, 2020.

YADI, M. *et al.* Current developments in green synthesis of metallic nanoparticles using plant extracts: a review. **Artificial Cells, Nanomedicine, and Biotechnology**, v. 46, n. sup3, p. S336-S343, 2018.

YOUSAF, Z.; SALEH, N. Advanced concept of green synthesis of metallic nanoparticles by reducing phytochemicals. *In*: Javad, S., Butt, A. (eds). **Nanobotany**. Springer: Cham, capítulo 2, Pakistan, p. 17-36, 2018.

YUANN, J. P. *et al.* A study of catechin photostability using photolytic processing. **Processes**, v. 9, n. 2, artigo 293, 2021.

YUSUF, M. *et al.* Optimization of biogenic synthesis of silver nanoparticles from flavonoid-rich *Clinacanthus nutans* leaf and stem aqueous extracts. **Royal Society Open Science**, v. 7, n. 7, artigo 200065, 2020.

WANG, C. *et al.* Preparation, characterization and application of polysaccharide-based metallic nanoparticles: a review. **Polymers**, v. 9, n. 12, artigo 689, 2017.

WANG, Y. *et al.* Effect of slit width on surface plasmon resonance. **Results in Physics**, v. 15, artigo 102711, 2019.

ZHANG, L. *et al.* UV–Vis spectroscopy combined with chemometric study on the interactions of three dietary flavonoids with copper ions. **Food Chemistry**, v. 263, p. 208-215, 2018.