



UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA ANIMAL

Fitossíntese de nanopartículas de prata (AgNPs) utilizando extrato aquoso de partes vegetais de guaraná (*Paullinia cupana* Kunth): estudo dos parâmetros reacionais, caracterização e atividades biológicas *in vitro*

ALAN KELBIS OLIVEIRA LIMA

BRASÍLIA/DF
MARÇO DE 2024



UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA ANIMAL

Fitossíntese de nanopartículas de prata (AgNPs) utilizando extrato aquoso de partes vegetais de guaraná (*Paullinia cupana* Kunth): estudo dos parâmetros reacionais, caracterização e atividades biológicas *in vitro*

Tese apresentada ao programa de Pós-Graduação em Biologia Animal, do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade de Brasília, como parte integrante dos requisitos para a obtenção do título de Doutor em Biologia Animal.

Orientadora: Prof^a. Dra. Mônica Pereira Garcia

BRASÍLIA/DF
MARÇO DE 2024



UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA ANIMAL

ALAN KELBIS OLIVEIRA LIMA

Fitossíntese de nanopartículas de prata (AgNPs) utilizando extrato aquoso de partes vegetais de guaraná (*Paullinia cupana* Kunth): estudo dos parâmetros reacionais, caracterização e atividades biológicas *in vitro*

Tese apresentada ao programa de Pós-Graduação em Biologia Animal, do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade de Brasília, como parte integrante dos requisitos para a obtenção do título de Doutor em Biologia Animal.

COMISSÃO EXAMINADORA

Prof^a. Dra. Mônica Pereira Garcia – Orientadora
Universidade de Brasília – UnB

Prof^a. Dra. Laíse Rodrigues de Andrade
Universidade de Brasília – UnB

Prof^a. Dra. Patrícia Bento da Silva
PerkinElmer do Brasil Analítica

Prof. Dr. Gustavo Frigi Perotti
Universidade Federal do Amazonas – UFAM

Prof. Dr. João Paulo Figueiró Longo
Universidade de Brasília – UnB

A LENDA DO GUARANÁ

Na aldeia havia um casal de índios que tinha um filho. Neste resumiam-se todas as esperanças e felicidade do casal maué. Ele era bom, bom menino, espalhava o bem em derredor de si. Um dia o espírito do mal resolveu eliminar aquele prodígio da aldeia. Apesar da estreita vigilância exercida pela tribo em torno do curumim, este conseguiu iludi-la. Trepou a uma árvore, a fim de colher frutos. Iurupari transformou-se em cobra e atacou-o. Quando foram atrás do garoto, acharam-no morto, os olhos muito-muito abertos para o céu, com uma expressão de rara felicidade boiando neles. Nesse instante, tremenda descarga elétrica sacudiu a paisagem e um raio caiu nas proximidades, fazendo silenciar as lamentações da tribo, calando as carpideiras. Vai então, a mãe do menino falou, falou, explicando que Tupã manifestara-se, pedindo que enterrassem os olhos da criança. A mãe, porém, não poderia fazê-lo, cabendo essa obrigação a outrem. Ninguém na tribo se atrevia a tomar qualquer iniciativa. Recorreu-se à sorte. Uma vez enterrados os olhos do menino, deles brotou uma planta arbustiva. É por isso que as sementes do guaraná são semelhantes a olhos vivos.

Mário Ypiranga Monteiro em “Antropogeografia do guaraná”
Conselho Nacional de Pesquisas, Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia (1965)

Dedico essa pesquisa à minha mãe, Maria Lucimar de Oliveira e ao meu pai, Antônio Nogueira Lima. Por todo apoio, proteção, cuidado e amor – cada um da sua forma – ao longo de toda minha trajetória pessoal/universitária.

OBRIGADO!

AGRADECIMENTOS

A Deus por todas as bênçãos buscadas e alcançadas. Pelas alegrias, pelos desafios, pelos livramentos (...)

À minha família: minha mãe Maria Lucimar, meu pai Antônio, meu tio Miguel... Pelo apoio, pela compreensão, pelo amor (à maneira de cada um). Todos esses anos em Brasília seriam mais difíceis sem vocês. Agradeço ainda à minha irmã Aretha por estar sempre com eles em Santarém auxiliando e fazendo companhia.

À professora Mônica Pereira Garcia, minha gratidão por toda a orientação nesses anos de pós-graduação. Agradeço por sempre ser tão solícita e me guiar nas escritas científicas. Espero que nossa amizade seja para além da trajetória acadêmica.

Ao professor Ricardo Bentes de Azevedo por inicialmente aceitar me receber no laboratório e ser tão solícito ao longo dos anos. Também espero que a amizade fique para além dessa etapa de pós-graduação.

À banca avaliadora dessa tese, pela disposição e contribuição prestadas.

À equipe do GEM e Laboratório de Nanobiotecnologia do IB da UnB. Aos técnicos e aos professores que ao longo de todo esse tempo trocaram ideias, experiências e ensinamentos pelos corredores do Bloco F.

A todos os técnicos, colaboradores, professores parceiros de outras instituições de pesquisa do país, e que são citados no decorrer do texto, pela contribuição com essa pesquisa realizando testes/ensaios no intuito deixá-la mais completa.

Aos amigos que a UnB (que Brasília) me trouxe: Marina Sampaio, Joabe Lima, Lucas Santos, Thiago Malbar, Vitória Regina, Bruna Bulnes. Aos amigos de Santarém: Rafael Cavalcante, Denilson Santos, Aysla Mclane, Thiago Moss (...) Por toda a amizade, boas vibrações, momentos compartilhados de maneira única e inesquecível ao longo das minhas idas e vindas de uma cidade para outra... E aqui quero também expressar meus agradecimentos às pessoas que nesse período passaram pela minha vida e contribuíram fortemente para o homem que me tornei. Se somos o resultado das pessoas que amamos, eu sou um pouco de todos vocês e seria injusto e difícil escrever os nomes de cada um aqui.

Ao PPG em Biologia Animal e à Universidade de Brasília pelas oportunidades e condições de estudo oferecidas. Obrigado por me permitir realizar esse sonho!

À CAPES pela bolsa de doutorado concedida e à FAPDF pelos auxílios financeiros nos projetos desenvolvidos. Obrigado por me permitir realizar esse sonho!

RESUMO

A síntese de nanopartículas de prata (AgNPs) por rotas mais seguras e com menor impacto ao meio ambiente é de grande interesse por abordar métodos biocompatíveis que podem aumentar a escala de produção e é útil também porque pode ser utilizada em substituição aos métodos químicos potencialmente tóxicos. Sendo denominada de “síntese verde”, essa rota utiliza organismos biológicos ou parte deles e que, devido à presença dos seus metabólitos, são capazes de reduzir os íons de prata (Ag^+) e promover a estabilização da prata coloidal (Ag^0). Dessa forma, esse estudo propôs a síntese verde de AgNPs utilizando extratos aquosos de guaraná (*Paullinia cupana*), uma planta nativa da Amazônia, investigando fatores como (i) a parte da planta utilizada, (ii) o modo de preparação dos extratos, (iii) a época de coleta do material vegetal e (iv) os parâmetros envolvidos na síntese (concentração do extrato, concentração do sal metálico, temperatura e equipamento/fonte de energia) que podem exercer influência sob as propriedades físico-químicas, bem como nos ensaios biológicos aos quais as nanoestruturas foram submetidas. Os extratos aquosos das folhas e flores de guaraná foram caracterizados quanto ao perfil fitoquímico revelando a presença de ácidos fenólicos, alcaloides e flavonoides como compostos majoritários, enquanto nos ensaios bioquímicos observou-se maiores teores de fenóis totais e capacidade de eliminação de radicais livres nas amostras preparadas por decoção. Em relação à parte da planta utilizada e avaliando a sazonalidade, os resultados demonstraram que as AgNPs com características desejáveis tinham diâmetros hidrodinâmicos entre 68,5 e 107,3 nm quando sintetizadas com extratos dos folíolos do período seco (AgNPs-PS) e chuvoso (AgNPs-PC), respectivamente, e de 61,4 a 78,87 nm quando utilizado o extrato das flores (AgNPs-FL). A morfologia das AgNPs foi predominantemente esferoidal, com o potencial Zeta negativo para todas as amostras analisadas, alcançando cerca de -30 mV, o que indica boa estabilidade coloidal. As investigações realizadas a partir das alterações dos parâmetros reacionais envolvidos na síntese verde demonstrou a modulação na síntese das AgNPs e em suas características físico-químicas, com os melhores rendimentos sob as condições otimizadas a partir da concentração de 2 mg/mL do extrato aquoso de folíolos da planta e 2 mM do sal metálico, temperatura de 70 °C e com a síntese realizada em banho-maria. Quanto às bioatividades, as AgNPs exibiram ação antibacteriana contra cepas Gram-positivas e Gram-negativas e destacaram-se quanto à capacidade antioxidante contra os radicais DPPH e ABTS de maneira dependente da dose, além de demonstrarem efeitos anticâncer diminuindo a viabilidade celular de linhagens tumorais de câncer de pele não melanoma e de pulmão, mesmo que de forma inespecífica já que tais efeitos também foram descritos para linhagens não tumorais. As AgNPs apresentaram ainda atividade catalítica com degradação do corante azul de metileno em 40 minutos e laranja de metila em até 14 minutos. Em relações aos testes inseticidas, os menores valores de CL_{50} e CL_{90} das AgNPs confirmaram sua eficácia contra larvas e pupas do *Aedes aegypti* em comparação à ação observada pela solução do sal metálico a partir de diferentes tempos de exposição. Em suma, a partir desses resultados, é possível inferir que os extratos aquosos de *Paullinia cupana* se apresentaram como fonte biológica para a síntese de AgNPs evidenciando assim uma contribuição ao desenvolvimento de estudos relacionados à modulação das características finais das nanoestruturas, bem como de suas aplicações em diversas áreas, mostrando novos potenciais para uso dessa espécie da biodiversidade brasileira.

Palavras-chave: Amazônia. *Paullinia cupana*. Síntese verde. AgNPs. Atividade biológica.

ABSTRACT

The synthesis of silver nanoparticles (AgNPs) using safer routes with less impact on the environment is of great interest because it involves biocompatible methods that can increase the scale of production and is also useful because it can be used to replace potentially toxic chemical methods. Called as "green synthesis", this route uses biological organisms or parts of them which, due to the presence of their metabolites, can reduce silver ions (Ag^+) and promoting the stabilization of colloidal silver (Ag^0). Therefore, this study proposed the green synthesis of AgNPs using aqueous extracts of guaraná (*Paullinia cupana*), a plant native to the Amazon, investigating factors such as (i) the part of the plant used, (ii) the method of preparing the extracts, (iii) the plant material collected station and (iv) the parameters involved in the synthesis (concentration of the extract, concentration of the metal salt, temperature and equipment/energy source) which may influence the physicochemical properties, as well as the biological tests to which the nanostructures were subjected. The aqueous extracts of guarana leaves and flowers were characterized in terms of their phytochemical profile, revealing the presence of phenolic acids, alkaloids, and flavonoids as the main compounds, while the biochemical tests showed higher levels of total phenols and free radical scavenging capacity in the samples prepared by decoction. Regarding the part of the plant used and evaluating seasonality, the results showed that the AgNPs with desirable characteristics had hydrodynamic diameters of between 68.5 and 107.3 nm when synthesized with extracts from the leaves of the dry period (AgNPs-PS) and the rainy period (AgNPs-PC), respectively, and from 61.4 to 78.87 nm when using the extract from the flowers (AgNPs-FL). The morphology of the AgNPs was predominantly spheroidal, with a negative Zeta potential for all the samples analyzed, reaching around -30 mV, which indicates good colloidal stability. The investigations carried out by changing the reaction parameters involved in the green synthesis showed modulation in the synthesis of AgNPs and their physicochemical characteristics, with the best yields under the conditions optimized from the concentration of 2 mg/mL of the leaves aqueous extract and 2 mM of the metal salt, a temperature of 70 °C and with the synthesis carried out in a water bath. In terms of bioactivities, AgNPs showed antibacterial action against Gram-positive and Gram-negative strains and stood out in terms of antioxidant capacity against DPPH and ABTS radicals in a dose-dependent manner, as well as demonstrating anticancer effects by reducing the cell viability of non-melanoma skin cancer and lung cancer tumor cell lines, albeit in a non-specific manner, since these effects have also been described for non-tumor cell lines. The AgNPs also showed catalytic activity, degrading the dye methylene blue in 40 minutes and methyl orange in up to 14 minutes. In relation to the insecticide tests, the lower CL_{50} and CL_{90} values of the AgNPs confirmed their efficacy against *Aedes aegypti* larvae and pupae compared to the action observed with the metal salt solution at different exposure times. In short, based on these results, it is possible to infer that the aqueous extracts of *Paullinia cupana* were presented as a biological source for the synthesis of AgNPs, thus contributing to the development of studies related to the modulation of the final characteristics of nanostructures, as well as their applications in various areas, showing new potentials for the use of this species of Brazilian biodiversity.

Keywords: Amazon. *Paullinia cupana*. Green synthesis. AgNPs. Biological activity

LISTA DE FIGURAS

➤ Revisão bibliográfica e Material e Métodos

- Figura 1. Organismos biológicos utilizados na síntese verde de nanopartículas de prata (AgNPs) e suas possíveis aplicações em diversos setores.....6
- Figura 2. Estágios propostos para a síntese verde de nanopartículas de prata (AgNPs). (I) Íons metálicos de prata (Ag^+) reagem com as biomoléculas – redução. (II) Formação dos átomos neutros de prata (Ag^0) – nucleação. (III) Encontro dos átomos metálicos neutros e formação de clusters com maior tamanho – crescimento. (IV) AgNPs formadas e revestidas pela camada de cobertura biológica (em azul) advinda dos metabólitos vegetais – estabilização.....8
- Figura 3. Parâmetros que afetam as características dimensionais, morfológicas e físico-químicas das nanopartículas de prata (AgNPs).....14
- Figura 4. (A) Planta de guaraná destacando os ramos foliares. (B) Fruto de guaraná com cascas alaranjadas e cápsulas abertas com uma das sementes (preto) coberta pelo arilo (C) Inflorescências de guaraná com as flores brancas e cristas amarelas. (D) Fruto de guaraná maduro com as cascas vermelhas e cápsulas abertas.....17
- Figura 5. Partes vegetais de guaraná (*Paullinia cupana*) utilizadas na síntese verde de nanopartículas de prata (AgNPs). Os folíolos, denominados como F1, F2, F3, F4 e F5, foram identificados na mesma ordem, no sentido horário, para as folhas compostas coletadas nas duas épocas do ano.....21

➤ Capítulo I

- Figura I-1. UHPLC dos extratos aquosos de *Paullinia cupana* demonstrando os compostos eluídos e suas respectivas relações massa/carga (m/z) definidas pelos espectros de massas por meio do modo positivo de ionização ESI(+)-MS.....41-42
- Figura I-2. UHPLC dos extratos aquosos de *Paullinia cupana* demonstrando os compostos eluídos e suas respectivas relações massa/carga (m/z) definidas pelos espectros de massas por meio do modo negativo de ionização ESI(-)-MS.....44-45
- Figura I-3. Fórmulas estruturais das biomoléculas identificadas nos extratos de folíolos e flores de *Paullinia cupana* coletados no período seco e chuvoso.....47
- Figura I-4. Curvas cinéticas de monitoramento das reações de síntese de nanopartículas de prata (AgNPs) sintetizadas a partir de extratos aquosos dos folíolos F1, F2, F3, F4 e F5 de *Paullinia cupana* coletados no período seco (PS) preparados por agitação (A), decocção (D) e infusão (I) e seus controles (Ctr) durante 180 minutos a 450 nm.....54
- Figura I-5. Curvas de absorção na região do UV/Vis das nanopartículas de prata (AgNPs) sintetizadas a partir de extratos aquosos dos folíolos F1, F2, F3, F4 e F5 de *Paullinia cupana* coletados no período seco (PS) preparados por agitação (A), decocção (D) e infusão (I) e seus controles (Ctr) após 180 minutos e sete dias (D7).....55-56
- Figura I-6. Curvas cinéticas de monitoramento das reações da síntese de nanopartículas de prata (AgNPs) sintetizadas a partir de extratos aquosos das flores de *Paullinia cupana* coletadas no período seco (PS) preparados por agitação (A), decocção (D) e infusão (I) e seus controles (Ctr) durante 180 minutos a 450 nm.....57
- Figura I-7. Curvas de absorção na região de UV/Vis das nanopartículas de prata

(AgNPs) sintetizadas a partir de extratos aquosos das flores de *Paullinia cupana* coletadas no período seco (PS) preparados por agitação (A), decocção (D) e infusão (I) e seus controles (Ctr) após 180 minutos e sete dias (D7).....58

Figura I-8. Curvas cinéticas de monitoramento das reações de síntese de nanopartículas de prata (AgNPs) sintetizadas a partir de extratos aquosos dos folíolos F1, F2, F3, F4 e F5 de *Paullinia cupana* coletados no período chuvoso (PC) preparados por agitação (A), decocção (D) e infusão (I) e seus controles (Ctr) durante 180 minutos a 450 nm.....59-60

Figura I-9. Curvas de absorção na região de UV/Vis das nanopartículas de prata (AgNPs) sintetizadas a partir de extratos aquosos dos folíolos F1, F2, F3, F4 e F5 de *Paullinia cupana* coletados no período chuvoso (PC) preparados por agitação (A), decocção (D) e infusão (I) e seus controles (Ctr) após 180 minutos e sete dias (D7).....61

Figura I-10. Imagens obtidas por Microscopia Eletrônica de Transmissão (MET) e histogramas de distribuição de diâmetro referentes às AgNPs sintetizadas a partir do extrato aquoso do folíolo 2 – AgNPs-D-PS (A) e do extrato aquoso das flores de *Paullinia cupana* coletadas no período seco – AgNPs-FL-PS (B), além do extrato aquoso do folíolo 3 de *Paullinia cupana* coletado no período chuvoso – AgNPs-D-PC (C) preparados por decocção.....73-74

Figura I-11. Espectros por Energia Dispersiva de Raios X (EED) e mapa elementar mostrando a distribuição dos átomos presentes nas amostras de AgNPs sintetizadas a partir do extrato aquoso do folíolo 2 – AgNPs-D-PS, (A) do extrato aquoso das flores de *Paullinia cupana* coletadas no período seco – AgNPs-FL-PS (B) e do extrato aquoso do folíolo 3 de *Paullinia cupana* coletado no período chuvoso – AgNPs-D-PC (C) preparados por decocção.....76

➤ Capítulo II

Figura II-1. (A) Registro visual da coloração das suspensões de nanopartículas de prata (AgNPs) após 180 minutos de reação empregando diferentes concentrações do extrato aquoso das folhas de *Paullinia cupana*. (B) Curvas cinéticas de monitoramento da síntese de AgNPs a 450 nm, obtidas durante 180 minutos, a 70 °C em banho-maria, com AgNO₃ a 1 mM utilizando extrato aquoso (EA) das folhas de *Paullinia cupana* em diferentes concentrações.....81

Figura II-2. Curvas de absorção das nanopartículas de prata (AgNPs) após 180 minutos de síntese, a 70 °C em banho-maria, com AgNO₃ a 1 mM utilizando extrato aquoso (EA) das folhas de *Paullinia cupana* em diferentes concentrações.....82

Figura II-3. (A) Registro visual da coloração das suspensões de nanopartículas de prata (AgNPs) após 180 minutos de reação empregando 2 mg/mL de extrato aquoso das folhas de *Paullinia cupana* e diferentes concentrações do AgNO₃. (B) Curvas cinéticas de monitoramento da síntese de AgNPs a 450 nm, obtidas durante 180 minutos, a 70 °C em banho-maria, com 2 mg/mL de extrato aquoso das folhas de *Paullinia cupana* e diferentes concentrações do AgNO₃.....86

Figura II-4. Curvas de absorção das nanopartículas de prata (AgNPs) após 180 minutos de síntese, a 70 °C em banho-maria, empregando 2 mg/mL de extrato aquoso das folhas de *Paullinia cupana* e diferentes concentrações de AgNO₃.....86

Figura II-5. (A) Registro visual da coloração das suspensões de nanopartículas de prata

(AgNPs) após 180 minutos de reação empregando 2 mg/mL de extrato aquoso das folhas de *Paullinia cupana*, 2 mM de AgNO₃ e diferentes temperaturas de reação em banho-maria. (B) Curvas cinéticas de monitoramento da síntese de AgNPs a 450 nm, obtidas durante 180 minutos, com 2 mg/mL de extrato aquoso das folhas de *Paullinia cupana*, 2 mM de AgNO₃ e diferentes temperaturas de incubação em banho-maria.....91

Figura II-6. Curvas de absorção das nanopartículas de prata (AgNPs) após 180 minutos de síntese, empregando 2 mg/mL de extrato aquoso das folhas de *Paullinia cupana*, 2 mM de AgNO₃ e diferentes temperaturas de incubação em banho-maria.....92

Figura II-7. (A) Registro visual da coloração das suspensões de nanopartículas de prata (AgNPs) após o tempo especificado para cada rota de síntese empregando diferentes equipamentos e/ou fonte de energia. (B) Curvas cinéticas de monitoramento da síntese de AgNPs a 450 nm obtidas durante tempo especificado para cada condição de síntese, com 2 mg/mL de extrato aquoso das folhas de *Paullinia cupana* e 2 mM de AgNO₃ empregando diferentes equipamentos e/ou fonte de energia.....95

Figura II-8. Curvas de absorção das nanopartículas de prata (AgNPs) após o tempo especificado para cada rota de síntese, com 2 mg/mL de extrato aquoso das folhas de *Paullinia cupana* e 2 mM de AgNO₃ empregando diferentes equipamentos e/ou fonte de energia.....97

➤ Capítulo III

Figura III-1. Registro visual da síntese de nanopartículas de prata (AgNPs). (A) Solução aquosa de nitrato de prata (AgNO₃) a 2 mM. (B) Extrato aquoso das folhas de *Paullinia cupana* (2 mg/mL) coletadas no período seco (PS) e chuvoso (PC) em dois lotes diferentes (L1 e L2). (C) Suspensões de AgNPs sintetizadas a partir da mistura do sal metálico com os extratos aquosos.....102

Figura III-2. Curvas cinéticas de monitoramento das reações de síntese de nanopartículas de prata (AgNPs) a 450 nm e seus controles durante 180 minutos utilizando extrato aquoso (EA) de folhas de *Paullinia cupana* coletadas no período seco (PS) e período chuvoso (PC) em dois diferentes lotes (L1 e L2).....104

Figura III-3. Curvas de absorção na região do UV/Vis de nanopartículas de prata (AgNPs) a 450 nm e seus controles durante 180 minutos sintetizadas utilizando extrato aquoso (EA) de folhas de *Paullinia cupana* coletadas no período seco (PS) e período chuvoso (PC) em dois diferentes lotes (L1 e L2) logo após a síntese – D0 (A) e após 365 dias – D365 (B).....105

Figura III-4. Imagens obtidas por Microscopia Eletrônica de Transmissão (MET) e histogramas de distribuição de diâmetro referentes às nanopartículas de prata (AgNPs) sintetizadas a partir do extrato aquoso de folhas de *Paullinia cupana* coletadas no período seco (A) e período chuvoso (B).....112-113

Figura III-5. Espectros por Energia Dispersiva de Raios X (EED) e mapa elementar mostrando a distribuição dos átomos presentes nas amostras de nanopartículas de prata (AgNPs) sintetizadas a partir do extrato aquoso de folhas de *Paullinia cupana* coletadas no período seco (A) e período chuvoso (B).....114

Figura III-6. Atividade antioxidante de nanopartículas de prata (AgNPs) sintetizadas a partir do extrato aquoso de folhas de *Paullinia cupana* coletadas no período seco (PS) e período chuvoso (PC), além de seus respectivos extratos aquosos (EPS e EPC) e da solução aquosa de ácido ascórbico (AA) contra o radical livre

DPPH.....	118
Figura III-7. Atividade antioxidante de nanopartículas de prata (AgNPs) sintetizadas a partir do extrato aquoso de folhas de <i>Paullinia cupana</i> coletadas no período seco (PS) e período chuvoso (PC), além de seus respectivos extratos aquosos (EPS e EPC) e da solução aquosa de ácido ascórbico (AA) contra o radical livre ABTS.....	120
Figura III-8. Viabilidade celular da linhagem A431 (câncer de pele não-melanoma) após incubação por 24 horas com diferentes concentrações de nanopartículas de prata (AgNPs) sintetizadas a partir do extrato aquoso de folhas de <i>Paullinia cupana</i> coletadas no período seco (PS) e período chuvoso (PC), além de seus respectivos extratos aquosos (EPS e EPC) e da solução aquosa de nitrato de prata (AgNO ₃).....	122
Figura III-9. Viabilidade celular da linhagem HaCaT (queratinócitos de pele humana) após incubação por 24 horas com diferentes concentrações de nanopartículas de prata (AgNPs) sintetizadas a partir do extrato aquoso de folhas de <i>Paullinia cupana</i> coletadas no período seco (PS) e período chuvoso (PC), além de seus respectivos extratos aquosos (EPS e EPC) e da solução aquosa de nitrato de prata (AgNO ₃).....	123
Figura III-10. Viabilidade celular da linhagem A549 (adenocarcinoma de pulmão) após incubação por 24 horas com diferentes concentrações de nanopartículas de prata (AgNPs) sintetizadas a partir do extrato aquoso de folhas de <i>Paullinia cupana</i> coletadas no período seco (PS) e período chuvoso (PC), além de seus respectivos extratos aquosos (EPS e EPC) e da solução aquosa de nitrato de prata (AgNO ₃)....	124
Figura III-11. Viabilidade celular da linhagem HNTMC (fibroblastos) após incubação por 24 horas com diferentes concentrações de nanopartículas de prata (AgNPs) sintetizadas a partir do extrato aquoso de folhas de <i>Paullinia cupana</i> coletadas no período seco (PS) e período chuvoso (PC), além de seus respectivos extratos aquosos (EPS e EPC) e da solução aquosa de nitrato de prata (AgNO ₃).....	125
Figura III-12. Curva dose-resposta (mortalidade – %) das larvas de <i>Aedes aegypti</i> após exposição por 24, 48 e 72 horas a diferentes concentrações de nanopartículas de prata sintetizadas a partir do extrato aquoso de folhas de <i>Paullinia cupana</i> coletadas no período seco (AgNPs-PS).....	130
Figura III-13. Curva dose-resposta (mortalidade – %) das larvas de <i>Aedes aegypti</i> após exposição por 24, 48 e 72 horas à solução aquosa de nitrato de prata (AgNO ₃).....	130
Figura III-14. Curva dose-resposta (mortalidade – %) das pupas de <i>Aedes aegypti</i> após exposição por 24 e 48 horas a diferentes concentrações de nanopartículas de prata sintetizadas a partir do extrato aquoso de folhas de <i>Paullinia cupana</i> coletadas no período seco (AgNPs-PS).....	133
Figura III-15. Curva dose-resposta (mortalidade – %) das pupas de <i>Aedes aegypti</i> após exposição por 24 e 48 horas à solução aquosa de nitrato de prata (AgNO ₃).....	134
Figura III-16. (A) Espectros de UV/Vis do corante azul de metileno (AM) (linha preta) e sua degradação na ausência dos nanocatalisadores. (B) Degradação do corante na presença das nanopartículas de prata sintetizadas a partir do extrato aquoso de folhas de <i>Paullinia cupana</i> coletadas no período seco (AgNPs-PS) e (C) período	

chuvoso (AgNPs-PC). (D) Imagens das soluções aquosas do AM com o substrato (à esquerda) e das soluções após as reações com os nanocatalisadores (ao centro e à direita).....136

Figura III-17. (A) Degradação catalítica (%) do corante azul de metileno (AM) nos diferentes tempos de exposição aos nanocatalisadores. (B) Gráfico cinético de segunda ordem da regressão linear do logaritmo de absorvância *versus* tempo (minutos) da degradação do AM na presença das nanopartículas de prata sintetizadas a partir do extrato aquoso de folhas de *Paullinia cupana* coletadas no período seco (AgNPs-PS). (C) Gráfico cinético de primeira ordem da regressão linear do logaritmo de absorvância *versus* tempo (minutos) da degradação do AM na presença das nanopartículas de prata sintetizadas a partir do extrato aquoso de folhas de *Paullinia cupana* coletadas no período chuvoso (AgNPs-PC).....137

Figura III-18. (A) Espectros de UV/Vis do corante laranja de metila (LM) (linha preta) e sua degradação na ausência dos nanocatalisadores. (B) Degradação do corante na presença das nanopartículas de prata sintetizadas a partir do extrato aquoso de folhas de *Paullinia cupana* coletadas no período seco (AgNPs-PS) e (C) período chuvoso (AgNPs-PC). (D) Imagens das soluções aquosas do LM com o substrato (à esquerda) e das soluções após as reações com os nanocatalisadores (ao centro e à direita).....140

Figura III-19. (A) Degradação catalítica (%) do corante laranja de metila (LM) nos diferentes tempos de exposição aos nanocatalisadores. (B) Gráfico cinético de segunda ordem da regressão linear do logaritmo de absorvância *versus* tempo (minutos) da degradação do LM na presença das nanopartículas de prata sintetizadas a partir do extrato aquoso de folhas de *Paullinia cupana* coletadas no período seco (AgNPs-PS). (C) Gráfico cinético de primeira ordem da regressão linear do logaritmo de absorvância *versus* tempo (minutos) da degradação do LM na presença das nanopartículas de prata sintetizadas a partir do extrato aquoso de folhas de *Paullinia cupana* coletadas no período chuvoso (AgNPs-PC)..... 141

Figura III-20. Mecanismo proposto para a degradação catalítica de diferentes corantes na presença do substrato borohidreto de sódio (NaBH_4) e das nanopartículas de prata (AgNPs) sintetizadas a partir do extrato aquoso de folhas de *Paullinia cupana* coletadas no período seco e chuvoso. (I) Etapa de doação de elétrons (e^-) do BH_4^- para a superfície das AgNPs. (II) Transferência de elétrons para os corantes, causando modificações na estrutura química dos poluentes. (III) Formação dos produtos de degradação com coloração incolor.....144

LISTA DE TABELAS

➤ Revisão bibliográfica e Material e Métodos

Tabela 1. Biomoléculas vegetais relatadas em estudos prévios e envolvidas na síntese verde de nanopartículas de prata (AgNPs).....	10
Tabela 2. Área de plantio e de coleta, produção e rendimento médio na safra de guaraná no Brasil no período de 2019-2022.....	18
Tabela 3. Extratos aquosos preparados a partir das partes vegetais de guaraná (<i>Paullinia cupana</i>), com variação da parte da planta utilizada, do método de preparação do extrato vegetal e do período sazonal de coleta.....	22-23

➤ Capítulo I

Tabela I-1. Quantificação dos teores de compostos fenólicos presentes nos extratos aquosos de <i>Paullinia cupana</i>	49
Tabela I-2. Atividade antioxidante dos extratos aquosos de <i>Paullinia cupana</i> pelo método de sequestro do radical DPPH.....	51
Tabela I-3. Atividade antioxidante dos extratos aquosos de <i>Paullinia cupana</i> pelo método de sequestro do radical ABTS.....	52
Tabela I-4. Valores de diâmetro hidrodinâmico (DH), índice de polidispersividade (PdI) e potencial Zeta de superfície (PtZ) de nanopartículas de prata (AgNPs) sintetizadas a partir de extratos aquosos dos folíolos de <i>Paullinia cupana</i> (F1 a F5) coletados no período seco preparados por agitação logo após a síntese (D0) e depois de 24 horas armazenadas sob temperatura ambiente (D1 – TA) e em geladeira (D1 – GEL).....	64
Tabela I-5. Valores de diâmetro hidrodinâmico (DH), índice de polidispersividade (PdI) e potencial Zeta de superfície (PtZ) de nanopartículas de prata (AgNPs) sintetizadas a partir de extratos aquosos dos folíolos de <i>Paullinia cupana</i> (F1 a F5) coletados no período seco preparados por decocção logo após a síntese (D0) e depois de 24 horas armazenadas sob temperatura ambiente (D1 – TA) e em geladeira (D1 – GEL).....	65
Tabela I-6. Valores de diâmetro hidrodinâmico (DH), índice de polidispersividade (PdI) e potencial Zeta de superfície (PtZ) de nanopartículas de prata (AgNPs) sintetizadas a partir de extratos aquosos dos folíolos de <i>Paullinia cupana</i> (F1 a F5) coletados no período seco preparados por infusão logo após a síntese (D0) e depois de 24 horas armazenadas sob temperatura ambiente (D1 – TA) e em geladeira (D1 – GEL).....	66
Tabela I-7. Valores de diâmetro hidrodinâmico (DH), índice de polidispersividade (PdI) e potencial Zeta de superfície (PtZ) de nanopartículas de prata (AgNPs) sintetizadas a partir de extratos aquosos das flores de <i>Paullinia cupana</i> coletadas no período seco preparados por agitação, decocção e infusão, logo após a síntese (D0) e depois de 24 horas armazenadas sob temperatura ambiente (D1 – TA) e em geladeira (D1 – GEL).....	67
Tabela I-8. Valores de diâmetro hidrodinâmico (DH), índice de polidispersividade (PdI) e potencial Zeta de superfície (PtZ) de nanopartículas de prata (AgNPs)	

sintetizadas a partir de extratos aquosos dos folíolos de *Paullinia cupana* (F1 a F5) coletados no período chuvoso e preparados por agitação logo após a síntese (D0) e depois de 24 horas armazenadas sob temperatura ambiente (D1 – TA) e em geladeira (D1 – GEL).....69

Tabela I-9. Valores de diâmetro hidrodinâmico (DH), índice de polidispersividade (PdI) e potencial Zeta de superfície (PtZ) de nanopartículas de prata (AgNPs) sintetizadas a partir de extratos aquosos dos folíolos de *Paullinia cupana* (F1 a F5) coletados no período chuvoso e preparados por decocção logo após a síntese (D0) e depois de 24 horas armazenadas sob temperatura ambiente (D1 – TA) e em geladeira (D1 – GEL).....70

Tabela I-10. Valores de diâmetro hidrodinâmico (DH), índice de polidispersividade (PdI) e potencial Zeta de superfície (PtZ) de nanopartículas de prata (AgNPs) sintetizadas a partir de extratos aquosos dos folíolos de *Paullinia cupana* (F1 a F5) coletados no período chuvoso e preparados por infusão logo após a síntese (D0) e depois de 24 horas armazenadas sob temperatura ambiente (D1 – TA) e em geladeira (D1 – GEL).....71

Tabela I-11. Valores do diâmetro médio e concentração de nanopartículas de prata (AgNPs) sintetizadas a partir do extrato aquoso do folíolo 2 (AgNPs-D-PS) e das flores (AgNPs-FL-PS) de *Paullinia cupana* coletados no período seco e do extrato aquoso do folíolo 3 (AgNPs-D-PC) de *Paullinia cupana* coletado no período chuvoso preparados por decocção, obtidos por Análise de Rastreamento de Nanopartículas (ARN).....72

Tabela I-12. Atividade antibacteriana de nanopartículas de prata (AgNPs) sintetizadas a partir do extrato aquoso do folíolo 2 (AgNPs-D-PS) e das flores (AgNPs-D-FL) de *Paullinia cupana* coletados no período seco e do extrato aquoso do folíolo 3 (AgNPs-D-PC) coletado no período chuvoso preparados por decocção.....77

➤ Capítulo II

Tabela II-1. Valores de diâmetro hidrodinâmico (DH), índice de polidispersividade (PdI) e potencial Zeta de superfície (PtZ) de nanopartículas de prata (AgNPs) sintetizadas a partir de extratos aquosos dos folíolos de *Paullinia cupana* em diferentes concentrações, no dia da síntese (D0) e após 24 horas com armazenamento à temperatura ambiente (D1 – TA) e em geladeira (D1 – GEL)....83

Tabela II-2. Valores de diâmetro hidrodinâmico (DH), índice de polidispersividade (PdI) e potencial Zeta de superfície (PtZ) de nanopartículas de prata (AgNPs) sintetizadas a partir de extratos aquosos dos folíolos de *Paullinia cupana* em diferentes concentrações do AgNO₃, no dia da síntese (D0) e após 24 horas com armazenamento à temperatura ambiente (D1 – TA) e em geladeira (D1 – GEL)....88

Tabela II-3. Valores de diâmetro hidrodinâmico (DH), índice de polidispersividade (PdI) e potencial Zeta de superfície (PtZ) de nanopartículas de prata (AgNPs) sintetizadas a partir de extratos aquosos dos folíolos de *Paullinia cupana* sob diferentes temperaturas em banho-maria, no dia da síntese (D0) e após 24 horas com armazenamento à temperatura ambiente (D1 – TA) e em geladeira (D1 – GEL).....93

Tabela II-4. Valores de diâmetro hidrodinâmico (DH), índice de polidispersividade

(PdI) e potencial Zeta de superfície (PtZ) de nanopartículas de prata (AgNPs) sintetizadas a partir de extratos aquosos dos folíolos de *Paullinia cupana* a 2 mg/mL e 2 mM do AgNO₃, empregando diferentes equipamentos e/ou fonte de energia, no dia da síntese (D0) e após 24 horas com armazenamento à temperatura ambiente (D1 – TA) e em geladeira (D1 – GEL).....98

➤ **Capítulo III**

Tabela III-1. Valores de diâmetro hidrodinâmico (DH), índice de polidispersividade (PdI) e potencial Zeta de superfície (PtZ) ao longo de 365 dias das nanopartículas de prata (AgNPs) sintetizadas utilizando extrato aquoso de folhas de *Paullinia cupana* coletadas no período seco (PS) em dois diferentes lotes (L1 e L2) e armazenadas à temperatura ambiente (TA) e em geladeira (GEL).....107

Tabela III-2. Valores de diâmetro hidrodinâmico (DH), índice de polidispersividade (PdI) e potencial Zeta de superfície (PtZ) ao longo de 365 dias das nanopartículas de prata (AgNPs) sintetizadas utilizando extrato aquoso de folhas de *Paullinia cupana* coletadas no período chuvoso (PC) em dois diferentes lotes (L1 e L2) e armazenadas à temperatura ambiente (TA) e em geladeira (GEL).....109

Tabela III-3. Diâmetro médio e concentração de nanopartículas de prata (AgNPs) sintetizadas a partir do extrato aquoso de folhas de *Paullinia cupana* coletadas no período seco (PS) e período chuvoso (PC) obtidos por Análise de Rastreamento de Nanopartículas (ARN).....111

Tabela III-4. Atividade antibacteriana de nanopartículas de prata (AgNPs) sintetizadas a partir do extrato aquoso de folhas de *Paullinia cupana* coletadas no período seco (PS), período chuvoso (PC) e da solução aquosa de nitrato de prata (AgNO₃).....116

Tabela III-5. Atividade inseticida das nanopartículas de prata sintetizadas a partir do extrato aquoso de folhas de *Paullinia cupana* coletadas no período seco (AgNPs-PS) e da solução aquosa de nitrato de prata (AgNO₃) após 24, 48 e 72 horas de exposição em larvas do terceiro instar de *Aedes aegypti*.....128

Tabela III-6. Atividade inseticida das nanopartículas de prata sintetizadas a partir do extrato aquoso de folhas de *Paullinia cupana* coletadas no período seco (AgNPs-PS) e da solução aquosa de nitrato de prata (AgNO₃) após 24 e 48 horas de exposição em pupas de *Aedes aegypti*.....132

Tabela III-7. Comparação dos resultados deste estudo com a eficiência catalítica de nanopartículas de prata (AgNPs) biogênicas em relação à degradação do corante orgânico azul de metileno (AM).....138

Tabela III-8. Comparação dos resultados deste estudo com a eficiência catalítica de nanopartículas de prata (AgNPs) biogênicas em relação à degradação do corante orgânico laranja de metila (LM).....142

LISTA DE APÊNDICES

Apêndice 1. Certidão de cadastro de acesso ao patrimônio genético ou conhecimento tradicional associado no Conselho de Gestão do Patrimônio Genético (CGen).....	178
Apêndice 2. Exsicata da planta de guaraná com as folhas, flores e frutos.....	179
Apêndice 3. Espectros de massas e vias de fragmentação propostas para os compostos obtidos pelo modo positivo de ionização e identificados nos extratos aquosos de folíolos e flores de <i>Paullinia cupana</i>	180
Apêndice 4. Espectros de massas e vias de fragmentação propostas para os compostos obtidos pelo modo negativo de ionização e identificados nos extratos aquosos de folíolos e flores de <i>Paullinia cupana</i>	185
Apêndice 5. Curva padrão de ácido gálico (AG) nas concentrações de 0 a 10 µg/mL versus as absorvâncias lidas a 760 nm para quantificação de fenóis totais.....	190
Apêndice 6. Curva padrão de ácido gálico (AG) nas concentrações de 0 a 2 µg/mL versus as absorvâncias lidas a 517 nm para determinação da capacidade antioxidante frente ao radical DPPH.....	190
Apêndice 7. Curva padrão de ácido gálico (AG) nas concentrações de 0 a 2 µg/mL versus as absorvâncias lidas a 734 nm para determinação da capacidade antioxidante frente ao radical ABTS.....	190
Apêndice 8. Registro visual das suspensões de AgNPs sintetizadas com extratos aquosos dos folíolos de <i>Paullinia cupana</i> coletados no período seco (PS) após 180 minutos de reação pelas três formas de preparação do extrato.....	191
Apêndice 9. Registro visual das suspensões de AgNPs sintetizadas com extratos aquosos das flores de <i>Paullinia cupana</i> coletadas no período seco (PS) após 180 minutos de reação pelas três formas de preparação do extrato.....	191
Apêndice 10. Registro visual das suspensões de AgNPs sintetizadas com extratos aquosos dos folíolos de <i>Paullinia cupana</i> coletados no período chuvoso (PC) após 180 minutos de reação pelas três formas de preparação do extrato.....	192
Apêndice 11. Histogramas de distribuição e gráficos 3D da concentração/intensidade versus diâmetro hidrodinâmico das AgNPs sintetizadas por folíolos e flores de <i>Paullinia cupana</i> coletados no período seco (PS) e chuvoso (PC) preparados por decocção obtidos por Análise de Rastreamento de Nanopartículas (ARN).....	193
Apêndice 12. Histogramas de distribuição e gráficos 3D da concentração/intensidade versus diâmetro hidrodinâmico das AgNPs-PS (A) e AgNPs-PC (B) obtidos por Análise de Rastreamento de Nanopartículas (ARN) após a etapa de otimização.....	194
Apêndice 13. Diferentes modelos de equações lineares e seus respectivos valores de coeficiente de regressão linear (R^2) e constantes de velocidade (k) para os poluentes azul de metileno (AM) (A) e laranja de metila (LM) (B) após tratamento com as AgNPs.....	194

LISTA DE ABREVIATURAS

- A431 – Linhagem de câncer de pele não melanoma humano
A549 – Linhagem de adenocarcinoma de pulmão humano
AA – Ácido ascórbico
ABTS – 2,2-azino-bis(3-ethylbenzo-thiazoline-6-ácido sulfônico)
Ag⁺ – Prata iônica
Ag⁰ – Prata
AgNO₃ – Nitrato de prata
AgNPs-A – Nanopartículas de prata sintetizadas com extrato aquoso por agitação
AgNPs-D – Nanopartículas de prata sintetizadas com extrato aquoso por decocção
AgNPs-D-PC – Nanopartículas de prata sintetizadas a partir do extrato aquoso do folíolo 3 de *Paullinia cupana*
AgNPs-D-PS – Nanopartículas de prata sintetizadas a partir do extrato aquoso do folíolo 2 de *Paullinia cupana*
AgNPs-FL-PS – Nanopartículas de prata sintetizadas a partir do extrato aquoso das flores de *Paullinia cupana*
AgNPs-I – Nanopartículas de prata sintetizadas com extrato aquoso por infusão
AgNPs-PC – Nanopartículas de prata sintetizadas com extratos dos folíolos do período chuvoso após otimização
AgNPs-PS – Nanopartículas de prata sintetizadas com extratos dos folíolos do período seco após otimização
AM – Azul de metileno
ARN – Análise de rastreamento de nanopartículas
CBM – Concentração bactericida mínima
CIM – Concentração inibitória mínima
CL₅₀ – Concentração letal 50%
CL₉₀ – Concentração letal 90%
DH – Diâmetro hidrodinâmico
DLS – *Dynamic Light Scattering*
DPPH – 2,2-difenil-1-picrihidrazil
EA-A-PC – Extrato aquoso do folíolo 3 coletado no período chuvoso preparado por agitação
EA-A-PS – Extrato aquoso do folíolo 2 coletado no período seco preparado por agitação
EA-D-FL – Extrato aquoso de flores coletadas no período seco preparado por decocção
EA-D-PC – Extrato aquoso do folíolo 3 coletado no período chuvoso preparado por decocção
EA-D-PS – Extrato aquoso do folíolo 2 coletado no período seco preparado por decocção
EA-I-PC – Extrato aquoso do folíolo 1 coletado no período chuvoso preparado por infusão
EA-I-PS – Extrato aquoso do folíolo 2 coletado no período seco preparado por infusão
EED – Espectroscopia por energia dispersiva de raios X
EPC – Extrato aquoso do folíolo 3 coletado no período chuvoso preparado por decocção

EPS – Extrato aquoso do folíolo 2 coletado no período seco preparado por decocção

F1 – Folíolo 1

F2 – Folíolo 2

F3 – Folíolo 3

F4 – Folíolo 4

F5 – Folíolo 5

FL-PS – Flores coletadas no período seco

F-PC – Folha composta do guaranazeiro coletada no período chuvoso

F-PS – Folha composta do guaranazeiro coletada no período seco

GEL – Geladeira

HaCaT – Linhagem de queratinócitos de pele humana

HNTMC – Linhagem de fibroblastos da polpa dental humana

IC₅₀ – Concentração inibitória 50%

L1 – Lote 1

L2 – Lote 2

LED – *Light Emitting Diode*

LM – Laranja de metila

MET – Microscopia eletrônica de transmissão

NaBH₄ – Borohidreto de sódio

PC – Período chuvoso

PdI – Índice de polidispersividade

PS – Período seco

PtZ – Potencial Zeta

RPS – Ressonância plasmônica de superfície

TA – Temperatura ambiente

UHPLC-HRMS/MS – Cromatografia líquida de ultra eficiência acoplada a espectrometria de massas de alta resolução

UV/Vis – Ultravioleta na região do visível

SUMÁRIO

RESUMO	iv
ABSTRACT	v
LISTA DE FIGURAS	vi
LISTA DE TABELAS	xi
LISTA DE APÊNDICES	xiv
LISTA DE ABREVIATURAS	xv
1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	3
2.1 Nanotecnologia e Nanopartículas de prata (AgNPs)	3
2.2 Métodos de síntese das AgNPs	5
2.3 Síntese de AgNPs utilizando plantas	6
<i>2.3.1 Mecanismo de síntese biológica de AgNPs utilizando plantas</i>	7
2.4 Metabólitos vegetais envolvidos na síntese verde de AgNPs	9
2.5 Parâmetros de otimização na síntese verde de AgNPs	11
<i>2.5.1 Concentração do extrato vegetal</i>	12
<i>2.5.2 Concentração do nitrato de prata (AgNO₃)</i>	12
<i>2.5.3 Temperatura</i>	13
<i>2.5.4 pH</i>	13
2.6 Guaraná	15
<i>2.6.1 História</i>	15
<i>2.6.2 Aspectos botânicos da planta</i>	16
<i>2.6.3 Importância da guaraná</i>	17
<i>2.6.4 Composição química do guaraná</i>	18
3. MATERIAL E MÉTODOS	20
3.1 Coleta do material vegetal do guaraná	20
3.2 Preparação dos extratos vegetais de folhas e flores de guaraná	20
3.3 Caracterização fitoquímica e atividade antioxidante dos extratos aquosos vegetais de guaraná	23
<i>3.3.1 Cromatografia Líquida de Ultra Eficiência acoplada a Espectrometria de Massas de Alta Resolução (UHPLC-HRMS/MS)</i>	24
<i>3.3.2 Quantificação de fenóis totais pelo método de Folin-Ciocalteu</i>	25
<i>3.3.3 Atividade antioxidante pelos métodos de DPPH e ABTS</i>	26

3.4 Prospecção do material vegetal de guaraná na síntese verde de AgNPs...	26
3.4.1 Síntese com variação na concentração do extrato aquoso de <i>Paullinia cupana</i>	27
3.4.2 Síntese com variação na concentração de AgNO ₃	27
3.4.3 Síntese com variação de temperatura.....	27
3.4.4 Síntese com variação no equipamento e/ou fonte de energia.....	28
3.5 Caracterização das AgNPs.....	28
3.5.1 Análise de inspeção visual e espectrofotometria de UV/Vis.....	28
3.5.2 Espalhamento de luz dinâmico e potencial Zeta de superfície.....	29
3.5.3 Análise de Rastreamento de Nanopartículas (ARN).....	29
3.5.4 Microscopia Eletrônica de Transmissão (MET).....	30
3.5.5 Espectroscopia por Energia Dispersiva de Raios X (EED).....	31
3.6 Atividade antibacteriana.....	31
3.7 Atividade antioxidante.....	32
3.8 Atividade anticâncer.....	33
3.8.1 Linhagens celulares.....	33
3.8.2 Manutenção e subcultivo celular.....	34
3.8.3 Plaqueamento celular.....	34
3.8.4 Ensaio de viabilidade celular pelo método de MTT.....	35
3.9 Atividade larvicida e pupicida.....	36
3.9.1 Manutenção da colônia e criação de <i>Aedes aegypti</i>	36
3.9.2 Avaliação da atividade larvicida.....	36
3.9.3 Avaliação da atividade pupicida.....	37
3.10 Atividade catalítica.....	37
3.11 Análises estatísticas.....	39
 CAPÍTULO I - Prospecção e caracterização do material botânico vegetal de <i>Paullinia cupana</i> para a síntese verde de AgNPs	
1. OBJETIVOS DO CAPÍTULO I	40
2. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	41
2.1 Caracterização dos extratos aquosos por UHPLC-HRMS/MS.....	41
2.2 Quantificação de fenóis totais e atividade antioxidante.....	48
2.2.1 Fenóis totais.....	48
2.2.2 DPPH.....	50

2.2.3 ABTS.....	52
2.3 Análises espectrofotométricas e inspeção visual das AgNPs.....	53
2.3.1 <i>Período seco</i>	53
2.3.2 <i>Período chuvoso</i>	59
2.4 Análises por espalhamento de luz dinâmico e potencial Zeta.....	63
2.4.1 <i>Período seco</i>	63
2.4.2 <i>Período chuvoso</i>	69
2.5 Análise de Rastreamento de Nanopartículas (ARN).....	72
2.6 Microscopia Eletrônica de Transmissão (MET).....	73
2.7 Espectroscopia por Energia Dispersiva de Raios X (EED).....	75
2.8 Avaliação da atividade antibacteriana.....	77
3. CONCLUSÃO.....	78

CAPÍTULO II - Otimização dos parâmetros reacionais na síntese verde de AgNPs

1. OBJETIVOS DO CAPÍTULO II.....	79
2. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	79
2.1 Síntese com variação na concentração do extrato aquoso.....	80
2.1.1 <i>Análises visuais e espectrofotométricas por UV/Vis</i>	80
2.1.2 <i>Avaliação por meio de DLS e potencial Zeta de superfície</i>	83
2.2 Síntese com variação na concentração de AgNO₃.....	85
2.2.1 <i>Análises visuais e espectrofotométricas por UV/Vis</i>	85
2.2.2 <i>Avaliação por meio de DLS e potencial Zeta de superfície</i>	87
2.3 Síntese com variação de temperatura.....	90
2.3.1 <i>Análises visuais e espectrofotométricas por UV/Vis</i>	90
2.3.2 <i>Avaliação por meio de DLS e potencial Zeta de superfície</i>	93
2.4 Síntese com variação no equipamento e/ou fonte de energia.....	94
2.4.1 <i>Análises visuais e espectrofotométricas por UV/Vis</i>	94
2.4.2 <i>Avaliação por meio de DLS e potencial Zeta de superfície</i>	98
3. CONCLUSÃO.....	100

CAPÍTULO III - Aplicações *in vitro* de AgNPs sintetizadas com extratos aquosos de folhas de *Paullinia cupana* coletados em diferentes períodos sazonais

1. OBJETIVOS DO CAPÍTULO III.....	101
--	------------

2. RESULTADOS E DISCUSSÃO	102
2.1 Análises visuais e espectrofotométricas das AgNPs	102
2.2 Avaliação da estabilidade coloidal por meio de DLS e potencial Zeta de superfície das AgNPs sintetizadas a partir de diferentes lotes	106
2.3 Análise de Rastreamento de Nanopartículas (ARN)	110
2.4 Microscopia Eletrônica de Transmissão (MET) e Espectroscopia por Energia Dispersiva de Raios X (EED)	111
2.5. Aplicações biológicas e catalíticas das AgNPs-PS e AgNPs-PC	114
2.5.1 <i>Atividade antibacteriana</i>	114
2.5.2 <i>Atividade antioxidante</i>	117
2.5.2.1 <i>DPPH</i>	117
2.5.2.2 <i>ABTS</i>	119
2.5.3 <i>Atividade anticâncer</i>	121
2.5.4 <i>Atividade inseticida</i>	127
2.5.4.1 <i>Ensaio em larvas de Aedes aegypti</i>	128
2.5.4.2 <i>Ensaio em pupas de Aedes aegypti</i>	132
2.5.5 <i>Atividade catalítica</i>	134
2.5.5.1 <i>Azul de metileno (AM)</i>	135
2.5.5.2 <i>Laranja de metila (LM)</i>	139
3. CONCLUSÃO	145
CONSIDERAÇÕES FINAIS	147
PRODUÇÃO CIENTÍFICA	148
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	149
APÊNDICES	178

1. INTRODUÇÃO

A nanotecnologia é um campo emergente em todo o mundo, especialmente na produção e manipulação de estruturas em nanoescala, onde geralmente uma de suas dimensões deve estar na faixa de 1 a 100 nm (Ettadili *et al.*, 2022; Huq *et al.*, 2022). As nanopartículas de prata (AgNPs) são um dos tipos de nanomateriais que mais se destacam devido ao potencial antimicrobiano desse metal nobre que é extensivamente relatado desde os tempos antigos, além de congregar características gerais que incluem a alta relação superfície-volume e a elevada estabilidade sob diferentes condições (Abdelghany *et al.*, 2018; Mathur *et al.*, 2018).

Diversas metodologias físico-químicas são empregadas para a síntese de AgNPs, no entanto esses métodos não são considerados biocompatíveis ambientalmente uma vez que podem gerar subprodutos tóxicos tanto para o meio ambiente quanto para a saúde humana (Tortella *et al.*, 2020; Zhang *et al.*, 2021). Nesse cenário, a síntese verde, como é conhecida, tem ganhado muita atenção por ser uma abordagem em que organismos biológicos são explorados para a obtenção de AgNPs visando desenvolver um processo mais seguro, além de sintetizar nanoestruturas em menor tempo e com menores custos (Aboyewa *et al.*, 2021).

A utilização dos extratos vegetais de diversas partes das plantas (folhas, flores, cascas, sementes, frutos) tem se destacado por ser um método relativamente simples, tornando a síntese rápida e reprodutível, com a possibilidade de otimização de várias condições reacionais a fim de produzir nanoestruturas biogênicas com características e aplicações distintas. Essa perspectiva, chamada de fitossíntese, é considerada mais eficiente devido à alta disponibilidade das plantas e ainda é mais atraente pelo fato de pular as etapas de isolamento, manutenção de cultura e crescimento de microrganismos (micossíntese) (Chand *et al.*, 2020).

A floresta amazônica concentra uma grande biodiversidade de plantas e o guaraná (*Paullinia cupana* Kunth), pertencente à família Sapindaceae, destaca-se como um dos compostos nativos mais promissores (Miranda; Metzner, 2010; Silva *et al.*, 2015). Os relatos de utilização dessa planta pelos povos tradicionais da etnia Sateré-Mawé, localizada na região da cidade de Maués, no interior do estado do Amazonas, são descritos há muito tempo, principalmente na forma de bebida em virtude de seus efeitos estimulantes e terapêuticos contra dores de cabeça, febre e infecções (Schimpl *et al.*, 2013). Estas propriedades certamente estão relacionadas com a composição fitoquímica

do guaraná, que incluem metabólitos como a cafeína, teobromina, teofilina, catequina, epicatequina, proantocianidinas (Klein; Longhini; De Mello, 2012; Pinaffi *et al.*, 2020; Schimpl *et al.*, 2014) e que podem também ser fortes candidatos a atuarem como agentes biológicos na síntese verde de AgNPs.

Neste sentido, no Capítulo I deste trabalho são sintetizadas AgNPs utilizando extratos aquosos de folíolos e flores de *Paullinia cupana* preparados por diferentes métodos e coletados em períodos sazonais distintos. Os extratos foram caracterizados quanto ao seu perfil fitoquímico e antioxidante, enquanto as AgNPs foram testadas em relação à atividade antibacteriana. No Capítulo II foram otimizados os parâmetros reacionais (concentração do extrato vegetal, concentração do sal metálico de prata, temperatura de reação e equipamento e/ou fonte de energia) envolvidos nas reações de síntese verde das AgNPs a partir das folhas de *Paullinia cupana*. Tais parâmetros são importantes para modular as características físico-químicas das AgNPs e ajudam a compreender como as diferentes condições reacionais atuam em conjunto para sintetizar nanoestruturas com propriedades satisfatórias. O Capítulo III aborda as aplicações biológicas e catalíticas das AgNPs sintetizadas a partir da utilização dos extratos aquosos de folhas de *Paullinia cupana* coletadas no período seco e no período chuvoso após a otimização dos parâmetros reacionais, visando, dessa forma, realizar um *screening* de suas potencialidades. Vale ressaltar que parte deste estudo foi recentemente publicada na revista *Biomass Conversion and Biorefinery* (fator de impacto – 2023: 4) tendo como título “*Phytosynthesis of silver nanoparticles using guarana (Paullinia cupana Kunth) leaf extract employing different routes: characterization and investigation of in vitro bioactivities*” (DOI: 10.1007/s13399-023-05250-1).

Portanto, é relevante ainda mencionar que esse estudo é pioneiro em diversos aspectos científicos, contendo um amplo espectro de investigações sobre a natureza dos extratos vegetais de *Paullinia cupana* que, além do ponto de vista botânico, econômico e social, podem ser utilizados como fonte de componentes biológicos para a síntese verde de AgNPs. Além disso, as abordagens apresentadas suportam pesquisas em diversas áreas da ciência aplicada e explorar de maneira racional as informações aqui descritas representa a possibilidade de avançar em fronteiras do conhecimento, principalmente quanto às espécies nativas da biodiversidade brasileira, em especial da Amazônia. Adicionalmente, este trabalho demonstra que a aliança com a nanotecnologia contribui para agregar ainda mais valor ao uso sustentável dos recursos naturais dessa região do Brasil.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. Nanotecnologia e Nanopartículas de prata (AgNPs)

O termo “nanotecnologia” deriva do grego, significa “anão”, e é comumente relacionado a uma tecnologia que utiliza estruturas com pelo menos uma das dimensões na faixa entre 1 a 100 nm, representando a bilionésima parte do metro (10^9 nm) e que exibem fenômenos dependentes da dimensão (Baig; Kammakakam; Falath, 2021). As nanopartículas (NPs) podem ser classificadas, em termos gerais, como orgânicas e inorgânicas onde o primeiro grupo constitui nanopartículas à base de carbono, como fulereno, pontos quânticos e nanotubos, enquanto o segundo grupo inclui nanopartículas semicondutoras (ZnO, ZnS, CdS), nanopartículas magnéticas (Co, Fe, Ni) e nanopartículas metálicas (Au, Ag, Cu, Al) (Rafique *et al.*, 2017).

A nanotecnologia aplica conhecimentos científicos de diversas áreas, manipulando materiais constituídos por átomos individuais, moléculas e aglomerados moleculares para criar estruturas com propriedades diferentes ou novas (Saleh, 2020). O seu conceito foi introduzido, em 1959, pelo físico americano Richard Feynman que discutiu a manipulação da matéria a nível atômico, no entanto, foi o pesquisador engenheiro japonês Norio Taniguchi que, em 1971, primeiramente incorporou esse termo para descrever processos de semicondutores que ocorriam na ordem nanométrica (Bayda *et al.*, 2019). De acordo com Mourdikoudis *et al.* (2021), essa ciência multifacetada é considerada um avanço extremo com potencial para inúmeras inovações que irão mudar os avanços tecnológicos em diversos campos e isso é possível uma vez que a síntese, caracterização e a manipulação de materiais na escala nanométrica geram características únicas que podem ser utilizadas de forma racional para as aplicações pretendidas (Beyene *et al.*, 2017).

A prata é um metal nobre com um longo histórico de uso sob diferentes formas e para diversos fins. Durante muito tempo suas propriedades antimicrobianas e anti-inflamatórias foram relatadas por vários povos, como por exemplo os egípcios, romanos e macedônios, no processo de cicatrização de feridas e tratamento de úlceras e infecções (Alexander, 2009; McGillicuddy *et al.*, 2017). É atribuído ao médico alemão Carl Credé a primeira publicação científica sobre o uso terapêutico da prata, no final do século XIX, que versa sobre o uso de um colírio contendo solução de nitrato de prata a 1% para tratar infecções oculares em recém-nascidos (Schaller; Klauss, 2001).

As nanopartículas de prata (AgNPs) são muito estudadas devido suas propriedades como a elevada estabilidade, forte absorção na região do ultravioleta visível, baixa toxicidade e amplo potencial para aplicações biológicas (Das *et al.*, 2021; Nguyen; Lai, 2022). Tais características se tornam possível devido à significativa relação superfície-volume que dá às partículas em nanoescala atribuições diferentes daquelas em maior escala, como por exemplo a possibilidade que elas se coordenem com um grande número de ligantes, formando complexos orgânicos e inorgânicos favorecidos pelos seus estados de oxidação mais estáveis +0 e +1 (Reidy *et al.*, 2013). Por sua vez, a forma, tamanho, distribuição e aspectos relacionados à superfície das AgNPs são determinados pelas concentrações dos agentes redutores, precursores metálicos e estabilizadores utilizados durante a síntese (Ali *et al.*, 2022; Parmar; Sanyal, 2022).

As AgNPs são mais amplamente utilizadas na agricultura, biomedicina, meio ambiente, revestimentos têxteis e na área da saúde. As propriedades antimicrobianas e antioxidantes são prevalentes, destacando-se suas aplicações no desenvolvimento de embalagens resistentes a microrganismos, na tecnologia de sensores, em engenharia de tecidos e na cicatrização de lesões, como, por exemplo, danos causados por queimaduras (Al-Halhouli *et al.*, 2019; Calderón-Jiménez *et al.*, 2017; Cheng *et al.*, 2021; Prakash *et al.*, 2013). Sendo assim, diante destas e de outras evidências exploradas por muitos pesquisadores que investigam o potencial biotecnológico e terapêutico das AgNPs, torna-se possível sugerir que a indústria médica é a que mais faz uso de seus efeitos significativos, mesmo que os mecanismos de ação para tais aplicações nos diferentes sistemas biológicos não sejam totalmente conhecidos.

2.2. Métodos de síntese das AgNPs

As propriedades das AgNPs podem ser influenciadas pelo processo de síntese e pelas condições experimentais empregadas uma vez que manipulando tais condições se torna possível produzir nanoestruturas com características controladas e ainda melhorar as suas aplicações (Sajid; Płotka-Wasyłka, 2020). Dentre as abordagens mais comuns para a síntese de AgNPs estão os métodos físicos (pirólise, ablação a laser, litografia, sonicação) e químicos (sol-gel, redução química, microemulsão, vapor químico) que, no geral, utilizam reagentes caros e potencialmente tóxicos à saúde humana e ao meio ambiente, além de ainda requerer o uso de equipamentos robustos com elevado gasto de energia e sob altas temperaturas, o que torna os processos reacionais dispendiosos, demorados, pouco escalonáveis e com riscos iminentes (Gudikandula; Charya Maringanti, 2016; Iravani *et al.*, 2014).

Apesar das AgNPs terem diversas aplicações, existem algumas limitações que precisam ser ressaltadas e dentre elas estão a dificuldade em expandir a escala dos processos de síntese, a necessidade de melhorar a reprodutibilidade dos processos biológicos e o entendimento dos mecanismos que envolvem à formação e provável toxicidade visando uma regulação adequada de suas propriedades para posteriores aplicações específicas (Bélteky *et al.*, 2021). Neste sentido, foram descobertos caminhos que utilizam fontes naturais e seus derivados para sintetizar nanoestruturas com propriedades dimensionais e morfológicas desejáveis e que, em comparação aos métodos físico-químicos, tornam-se alternativas promissoras e adequadas (Githala; Trivedi, 2023; Vadakkan *et al.*, 2024). Essa nova abordagem minimiza os perigos advindos dos métodos anteriormente postulados por reunir características similares aos bioprocessos delimitados pela Química Verde (Alabdallah; Hasan, 2021; Hernández-Pinero *et al.*, 2016) e devido a relação custo-benefício e aos conceitos referentes à sustentabilidade, as rotas biológicas utilizam plantas, bactérias, fungos, algas e enzimas como agentes de biorredução dos íons metálicos, com aplicações relatadas em diversas áreas (FIGURA 1) (Garg *et al.*, 2020; Ghosh *et al.*, 2021; Roy *et al.*, 2019).

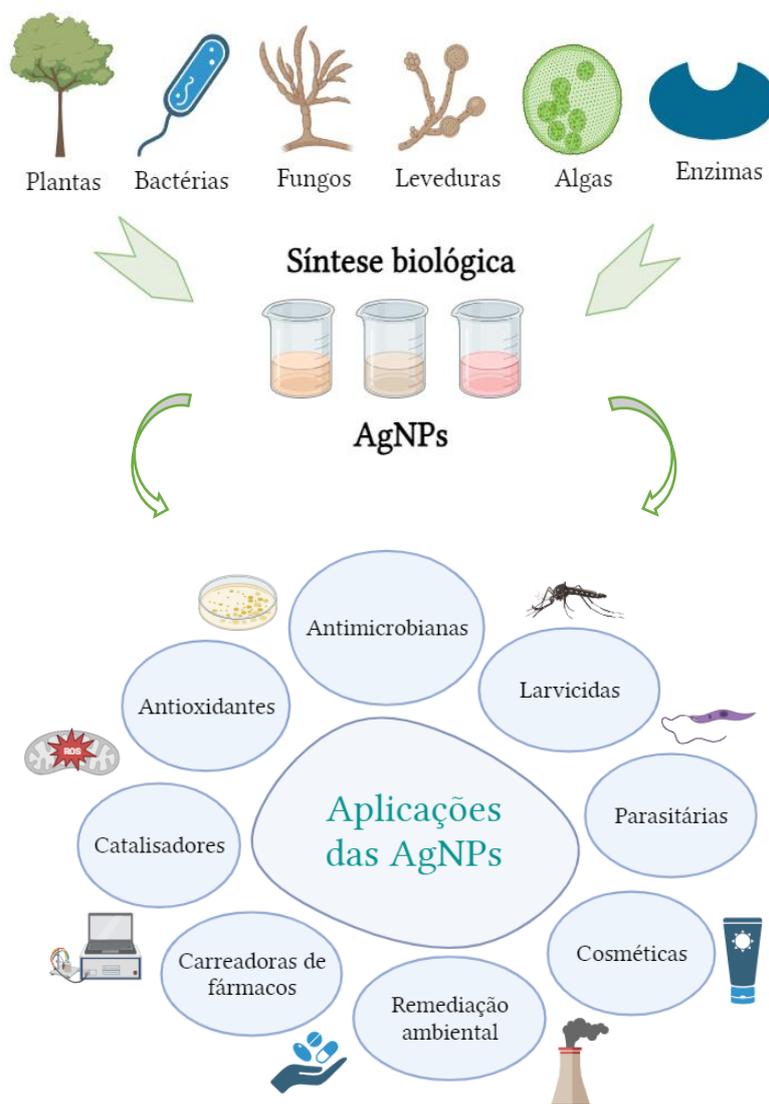


Figura 1. Organismos biológicos utilizados na síntese verde de nanopartículas de prata (AgNPs) e suas possíveis aplicações em diversos setores.

2.3. Síntese de AgNPs utilizando plantas

As plantas são uma rica fonte de metabólitos secundários que desempenham uma ampla gama de funções vitais para o seu crescimento e metabolismo. A fim de cumprir os requisitos e padrões ambientais, o conceito que envolve a síntese de AgNPs usando materiais naturais ganhou muita popularidade com os avanços da ciência e tecnologia e pode ser denominado de síntese verde ou fitossíntese (Pal; Rai; Pandey, 2019). Dessa forma, a utilização de plantas e seus extratos estabeleceu-se como um novo e importante campo na nanobiotecnologia ganhando destaque devido sua natureza ecológica e econômica, além de menor toxicidade quando comparada aos outros métodos existentes (Zhang *et al.*, 2021).

O interesse na síntese verde de AgNPs tem recebido interesse crescente devido ao fato de ser um método escalável, rápido, simples e por exercer efeito considerável principalmente sobre o tamanho e a forma das nanoestruturas resultantes (Makarov *et al.*, 2014; Mittal *et al.*, 2013). Várias partes de uma mesma planta podem ser exploradas na síntese de AgNPs com características distintas, como por exemplo a folha, a casca, a flor, a semente, o fruto, o rizoma, o caule (Bouafia *et al.*, 2021). No entanto, as folhas são consideradas um dos materiais mais comumente utilizados e mais eficientes na fitossíntese devido ao alto volume de extração, além de um maior acúmulo de biomoléculas em sua composição (Zhang *et al.*, 2023).

A síntese de AgNPs à base de plantas é mais amplamente utilizada em comparação às técnicas baseadas em microrganismos devido não requerer culturas de células vivas, o que possibilita maior chance de contaminação, além de métodos de cultivo prolongados e de difícil manutenção (Chandraker *et al.*, 2021; Mohamad *et al.*, 2014). Ao utilizar extratos vegetais, muitas pesquisas indicam que há melhor biorredução e estabilização dos íons metálicos, além de maior segurança nos processos de produção, com menos gasto energético e de reagentes. Adicionalmente, a abundância de plantas na natureza oferece uma grande variedade de espécies que têm composições químicas complexas e oferecem possibilidade de estudos quanto à obtenção de nanoestruturas com características físico-químicas otimizadas (Mustapha *et al.*, 2022; Zuhrotun; Oktaviani; Hasanah, 2023).

Algumas limitações importantes, principalmente em sínteses de menor escala ou em laboratórios de pesquisa, também devem ser consideradas, como por exemplo a reprodutibilidade das sínteses biológicas, o ambiente de armazenamento dos extratos vegetais e a variação entre os lotes produzidos que pode ser resultado de fatores ambientais bióticos e abióticos, como por exemplo o local de coleta das plantas e a sazonalidade (Ahmed *et al.*, 2016; Durán; Nakazato; Seabra *et al.*, 2016).

2.3.1. Mecanismo de síntese biológica de AgNPs utilizando plantas

Em geral, o mecanismo de síntese verde de AgNPs utilizando os extratos vegetais consiste inicialmente na mistura da solução precursora, normalmente o sal metálico, com os extratos vegetais ricos em metabólitos ativos que, por meio de suas biomoléculas, principalmente grupos carbonilas e hidroxilas, transferem elétrons aos íons metálicos e por um processo de quelação com a prata catiônica (Ag^+) fazem a sua conversão para a forma coloidal (Ag^0). Em seguida ocorre o acondicionamento sob

condições controladas até que a reação esteja completa, o que é indicado pela mudança da cor da mistura reacional e por um conjunto de outras técnicas de caracterização. Em alguns casos, a solução resultante é centrifugada e lavada no intuito de purificar as AgNPs sintetizadas. A Figura 2 mostra uma representação dos mecanismos gerais propostos para a síntese verde de AgNPs mediada por metabólitos vegetais.

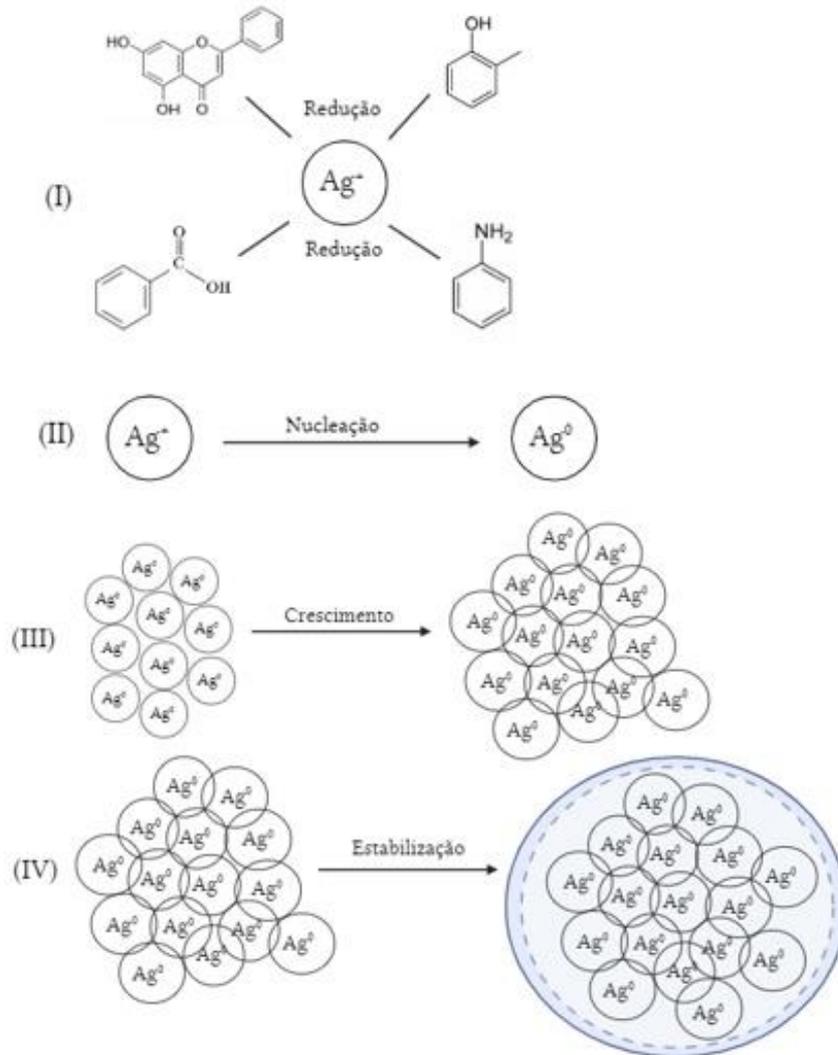


Figura 2. Estágios propostos para a síntese verde de nanopartículas de prata (AgNPs). (I) Íons metálicos de prata (Ag^+) reagem com as biomoléculas – redução. (II) Formação dos átomos neutros de prata (Ag^0) – nucleação. (III) Encontro dos átomos metálicos neutros e formação de *clusters* com maior tamanho – crescimento. (IV) AgNPs formadas e revestidas pela camada de cobertura biológica (em azul) advinda dos metabólitos vegetais – estabilização.

De acordo com a Figura 2, as etapas principais são (i) a redução dos íons metálicos de prata pela ação de grupos funcionais presentes nas biomoléculas das plantas, (ii) início da formação dos átomos neutros de prata que foram reduzidos – nucleação (partículas de pequeno tamanho agregadas), (iii) a fase de crescimento na

qual as partículas menores formam, espontaneamente, *clusters* com núcleos de maior tamanho e (iv) o estágio de estabilização e formação de uma cobertura ao redor da superfície das nanoestruturas recém-formadas pela ação dos compostos fitoquímicos vegetais, impedindo a agregação e auxiliando na determinação da morfologia e estabilidade (Alwhibi *et al.*, 2022; Silva; Pereira; Bonatto, 2019; Srikar *et al.*, 2016). É importante ressaltar que os mecanismos para a síntese das AgNPs biogênicas podem ser alterados dependendo da composição do extrato vegetal, do precursor metálico e das demais condições de reação em cada pesquisa.

2.4. Metabólitos vegetais envolvidos na síntese verde de AgNPs

Nas plantas são encontrados grupos de metabólitos secundários que têm a habilidade de proteção contra patógenos devido suas propriedades antibióticas, anticâncer e anti-inflamatórias no controle de diversas doenças (Sahu *et al.*, 2016; Urnukhsaikhani *et al.*, 2021). Além disso, a capacidade dessas biomoléculas em quelar íons metálicos e produzir complexos estáveis na síntese de AgNPs impulsiona inúmeras pesquisas na área de produtos naturais e nanobiotecnologia verde. A ligação AgNPs-fitoquímicos fornece uma oportunidade de estabelecer uma relação entre os tipos de nanoestruturas e as principais classes de metabólitos envolvidos nas reações uma vez que, ao serem utilizados, desempenham um papel importante na biorredução de íons metálicos, auxiliando no processo de estabilização das AgNPs, ligando-se em sua superfície e impedindo a agregação (Marslin *et al.*, 2018).

Uma diversidade de compostos fitoquímicos podem ser empregados nas reações de síntese verde de AgNPs, entre eles estão os alcalóides, flavonóides, polissacarídeos, vitaminas, aminoácidos, proteínas, taninos, saponinas, terpenóides, carboidratos, ácidos orgânicos que são podem ser identificados nos extratos vegetais a partir de técnicas analíticas diversas (Fenfen *et al.*, 2014; Ovais *et al.*, 2018). Vale ressaltar que, devido à composição química ou mesmo indefinida dos compostos fitoquímicos em extratos vegetais, é difícil prever a maneira exata da participação de cada um desses grupos na síntese verde de AgNPs e até mesmo selecionar ou isolar biomoléculas ativas para a ligação com os íons metálicos durante as reações conduzidas (Hussain *et al.*, 2019).

A Tabela 1 mostra alguns exemplos de biomoléculas vegetais utilizadas como agentes de biorredução e estabilização na síntese verde de AgNPs.

Tabela 1. Biomoléculas vegetais relatadas em estudos prévios e envolvidas na síntese verde de nanopartículas de prata (AgNPs).

Planta	Biomoléculas	Referência
<i>Datura metel</i> (saia roxa)	Plastohidroquinona	Kesharwani <i>et al.</i> (2009)
<i>Lawsonia inermis</i> (hena)	Apiína	Kasthuri; Veerapandian; Rajendiran (2009)
<i>Lippia citriodora</i> (erva cidreira)	Verbascosídeo, Isoverbascosídeo, Luteolina-7-O-diglucoronídeo, Crisoeriol-7-O-diglucoronídeo	Cruz <i>et al.</i> (2010)
<i>Pelargonium endlicherianum</i> (pelargônio)	Ácido gálico, apocinina, quercetina	Karatoprak <i>et al.</i> (2017)
<i>Madhuca longifolia</i> (mahua)	Miricitrina, bilobalida, hirsutrina, esculina, Isorhamnetina-3-glucosídeo-4'-Glucosídeo	Sarkar <i>et al.</i> (2018)
<i>Abelmoschus esculentus</i> (quiabo)	Quercetina-4"-O-metil-3-O- β -D-glucopiranosídeo	Roddu <i>et al.</i> (2019)
–	Epicatequina	Moulton <i>et al.</i> (2010)
–	Capsaicina	Amruthraj; Preetam Raj; Lebel (2015)
–	Curcumina	El Khoury <i>et al.</i> (2015)
–	Ácido tânico	Kim <i>et al.</i> (2016)

– : biomoléculas adquiridas comercialmente.

Os flavonoides são considerados os principais agentes de redução biológica presentes nos extratos de plantas e esta propriedade pode estar diretamente relacionada à sua capacidade de doação de elétrons ou átomos de hidrogênio reativos durante a conversão ceto-enol de algumas moléculas dessa classe ou ainda por meio da oxidação de grupos hidroxilas a grupos carbonilas (Ahmad *et al.*, 2019; Ghoreishi; Behpour; Khayatkashani, 2011). Por sua vez, os ácidos fenólicos, pertencentes à família dos polifenóis, possuem uma estrutura química que pode favorecer a quelação dos íons

metálicos por meio do efeito de ressonância de elétrons livres e ainda pode ocorrer a formação de complexos entre os íons de prata com grupos hidroxilas dos anéis aromáticos, levando à oxidação e posterior biorredução (Edison; Sethuraman, 2012; Wang *et al.*, 2007).

Os terpenóides são uma classe de compostos orgânicos de baixo peso molecular responsáveis pelo aroma, cor e sabor de várias espécies de plantas. Grupos funcionais hidroxilas de alguns terpenos já foram relatados como os principais responsáveis pela síntese de AgNPs, com efeito melhorado a partir da utilização de grupos metóxi e alil que retiram elétrons livres presentes nas posições *para* e *orto* de hidroxilas (Shankar *et al.*, 2003; Singh *et al.*, 2010). As proteínas também podem ligar-se aos íons metálicos por meio dos seus grupamentos amino, tiol ou carboxilato livres, além da interação com resíduos de porções laterais de alguns aminoácidos como a tirosina e o triptofano (Daima *et al.*, 2014; Si; Mandal, 2007).

Alguns estudos descrevem a influência dos açúcares redutores, entre eles os polissacarídeos, na síntese e estabilização das AgNPs dado o processo de transferência de elétrons para os íons metálicos com posterior oxidação de grupos aldeídos em ácidos carboxílicos, além de possuírem grupos hidroxilas em abundância e uma extremidade hemiacetal que são capazes de reduzir os sais metálicos precursores (Jiménez Pérez *et al.*, 2017; Park *et al.*, 2011). Os alcaloides e ácidos orgânicos também são relatados como agentes na fitossíntese de nanoestruturas metálicas por meio de mecanismos que envolvem a liberação de hidrogênio reativo e a tautomerização de moléculas da sua forma ceto para a forma enol (Konwarh *et al.*, 2011; Tamuly *et al.*, 2014).

2.5. Parâmetros de otimização na síntese verde de AgNPs

A síntese de AgNPs envolve vários parâmetros que podem influenciar o tamanho, a forma, a composição, a estabilidade e outras características/propriedades das nanoestruturas e por isso precisam ser cuidadosamente otimizados a fim de compreender como suas possíveis combinações podem melhorar/alterar as características finais das AgNPs. No geral, esses parâmetros compreendem a concentração dos reagentes (sal metálico e extratos vegetais), o pH, a temperatura reacional e o tempo de reação (FIGURA 3). Outros parâmetros que influenciam fortemente a síntese de AgNPs incluem a escolha dos solventes, as condições de mistura ou agitação, a presença ou ausência de surfactantes e a funcionalização de superfície (Drummer; Madzimbamuto; Chowdhury, 2021; Javed; Mashwani, 2020).

2.5.1. Concentração do extrato vegetal

A concentração dos extratos vegetais utilizados como fonte de biomoléculas na síntese biológica desempenha um papel vital sob as características das nanoestruturas (Soto-Robles *et al.*, 2019). Esses compostos fitoquímicos encontrados nas plantas possuem grande afinidade com a superfície das AgNPs, o que aumenta a estabilidade, evita a agregação e por conseguinte pode melhorar as atividades biológicas (Jabir *et al.*, 2021; Willian *et al.*, 2020). No entanto, um aspecto fundamental de salientar é que os metabólitos em uma mesma planta estão distribuídos de maneira não uniforme entre suas partes e isso pode resultar em características distintas já que não são todos os compostos químicos presentes nos extratos que têm a capacidade de reduzir os íons metálicos (Akther *et al.*, 2019; Mittal *et al.*, 2014).

Ao empregar concentrações altas de extrato vegetal pode-se haver um rápido e desordenado crescimento das AgNPs podendo levar a interações secundárias entre as biomoléculas e os núcleos da prata coloidal (Ag^0), resultando em agregação e tamanhos maiores das partículas (Borase *et al.*, 2014; Choudhary *et al.*, 2018). Por sua vez, ao adicionar mais do que a quantidade considerada ideal do extrato, as biomoléculas ficam acumuladas, resultando na síntese de nanoestruturas instáveis (amadurecimento de Ostwald) (Khan *et al.*, 2013; Sunita; Palaniswamy, 2017).

2.5.2. Concentração do nitrato de prata (AgNO_3)

O nitrato de prata (AgNO_3) utilizado como precursor metálico na síntese das AgNPs apresenta massa molar de 169,87 g/mol e quando dissolvido em água dissocia-se em cátion Ag^+ e ânion NO_3^- (Kang *et al.*, 2018). As concentrações de íons metálicos desempenham um papel crucial na síntese de AgNPs. Elas podem afetar os processos de nucleação e crescimento das partículas, levando a variações dimensionais, morfológicas e composicionais. Com a utilização de quantidade ideal do agente precursor, há uma redução total dos íons Ag^+ com posterior síntese das nanoestruturas com bom rendimento e em menor tempo (Arya *et al.*, 2018; Manosalva *et al.*, 2019).

Ao utilizar concentrações mais altas de AgNO_3 pode-se haver polidispersão das populações das partículas, com provável aumento de tamanho e isso pode ser devido ao menor efeito de recobrimento biológico sob tais concentrações uma vez que íons livres podem se acumular na solução (Hosseingholian *et al.*, 2023; Rodríguez-León *et al.*, 2013; Zayed *et al.*, 2019). Do contrário, baixas concentrações do sal metálico podem ser insuficientes e esgotarem rapidamente os íons Ag^+ a serem reduzidos e com isso há a

síntese de AgNPs com tamanho e formato instáveis (Karekalammanavar; David, 2018; Sila *et al.*, 2019).

2.5.3. Temperatura

A temperatura de reação tem um papel promissor na síntese verde de AgNPs por fornecer a energia de ativação que é necessária para o início da reação química, e por favorecer a colisão molecular entre os reagentes na mistura reacional, resultando em um processo acelerado de biorredução. Em resumo, esse parâmetro tende a oferecer algum tipo de ambiente físico-químico que melhora os processos de síntese das AgNPs, potencializando suas propriedades (Amin *et al.*, 2012; Lotfy *et al.*, 2021).

Normalmente, reações conduzidas sob temperatura ambiente são menos vantajosas e requerem mais tempo ao compará-las com reações empregando altas temperaturas. Ao aumentar a temperatura de síntese, muitos pesquisadores relatam a diminuição no diâmetro das partículas que é causada pela nucleação homogênea dos núcleos de Ag^+ que são consumidos rapidamente (Aadil *et al.*, 2016; Pereira *et al.*, 2015). Por outro lado, as elevadas temperaturas podem desnaturar algumas biomoléculas, entre elas as proteínas, que atuam formando a camada de estabilização das AgNPs e como resultado pode haver agregação e aumento do tamanho das partículas, com posterior perda da estabilidade coloidal (Birla *et al.*, 2013; Hussein; Salah; Anter, 2015). De acordo com Guan; Xia e Li (2019), a solubilidade das biomoléculas vegetais, principalmente de polifenóis e compostos heterocíclicos, também é afetada a partir da modulação da temperatura de reação uma vez que alguns compostos presentes nos extratos podem ser evaporados quando estão sob altas temperaturas e com isso pode-se presumir que biomoléculas vegetais com termoestabilidade são importantes para proporcionar rendimentos maiores.

2.5.4. pH

A síntese biogênica de AgNPs é relatada em diferentes faixas de pH, o que faz com que suas características morfológicas e dimensionais variem bastante. O pH altera os estados eletrostáticos, ou seja, a ionização, das biomoléculas presentes nos extratos vegetais e isso afeta a adsorção na superfície dos íons metálicos, a capacidade de estabilização e, posteriormente, o crescimento das partículas (Javed *et al.*, 2020; Khalil *et al.*, 2014; Vijayaraghavan; Ashokkumar, 2017).

A síntese das AgNPs pode ser conduzida sob pH neutro, bem como demonstrado por Li *et al.* (2020) que o relataram como ideal para as reações de redução. Um ponto a

ser destacado é que os compostos polifenólicos presentes em extratos de plantas podem ser agentes redutores fortes sob pH neutro, levando à rápida nucleação e crescimento, resultando na síntese de AgNPs com características satisfatórias (Sana; Dogiparthi, 2018).

De forma geral, o pH ácido é pouco empregado nas reações de fitossíntese devido à nucleação lenta dos íons de prata causada pelo fenômeno de repulsão eletrostática dos ânions presentes na solução, resultando em AgNPs de maior tamanho, e ainda por meio da inativação da capacidade redutora/estabilizante das biomoléculas dos extratos vegetais (Esmail; Koohestani; Abdollah-Pour, 2020; Sadalage *et al.*, 2021). Por outro lado, à medida em que o pH se torna básico é maior o número de núcleos que permitem a ligação entre os compostos fitoquímicos e os íons metálicos, aprimorando a síntese das AgNPs. Segundo Singh; Sinha e Mandal (2009), compostos fenólicos possuem alta força de ionização quando estão expostos a um meio alcalino sendo que nesse ambiente há mais grupos funcionais disponíveis para a ligação com a prata catiônica, levando à síntese de AgNPs estáveis e de menor tamanho (Iravani *et al.*, 2013; Jain; Mehata, 2017).

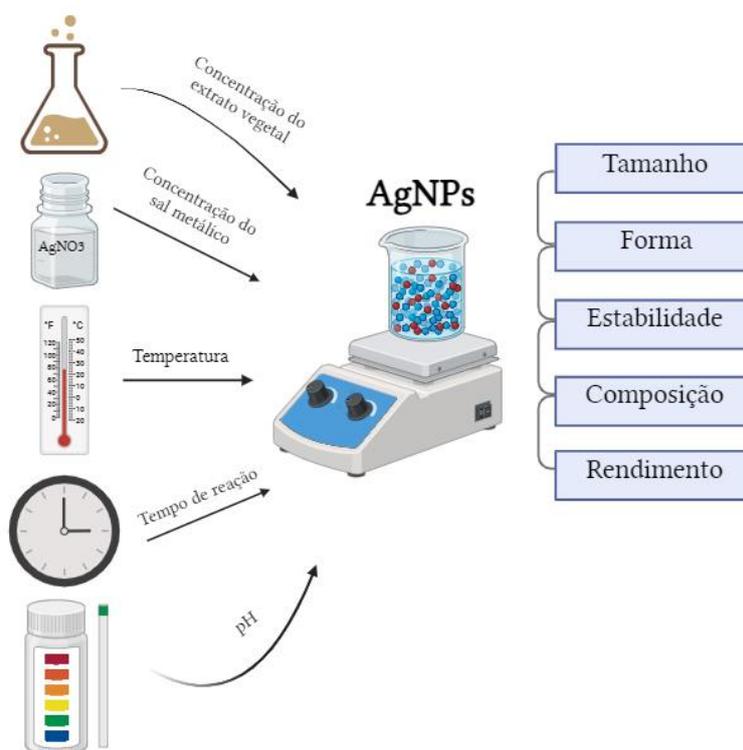


Figura 3. Parâmetros que afetam as características dimensionais, morfológicas e físico-químicas das nanopartículas de prata (AgNPs).

2.6. Guaraná

O Brasil está entre os países com maior biodiversidade mundial abrigando mais de 46 mil espécies de plantas, o que representa cerca de 20% das espécies de todo o mundo. A riqueza dessas plantas com propriedades fitoterápicas diversas, conhecidas ou não, são frequentes na medicina popular uma vez que o conhecimento etnobotânico e etnofarmacológico vindo da miscigenação da população constitui uma vantagem no processo de desenvolvimento de matérias-primas utilizadas no avanço de tecnologias em diferentes setores (BRASIL, 2021).

O guaraná (*Paullinia cupana*) é uma planta nativa da região amazônica e é considerada uma das mais promissoras da biodiversidade brasileira, tendo também sua ocorrência registrada em alguns países da América do Sul (Miranda; Metzner, 2010; Silva *et al.*, 2015). É uma planta pertencente à família Sapindaceae que, por sua vez, está distribuída por todo o mundo sendo composta por cerca de 140 gêneros e 1900 espécies (Acevedo-Rodríguez *et al.*, 2017; Buerki *et al.*, 2021). Além disso, algumas espécies do gênero *Paullinia* são consideradas de alto valor econômico e pelo menos nove espécies são nativas do Brasil (Ângelo *et al.*, 2008). Atualmente, o nome oficialmente aceito para o guaraná é *Paullinia cupana* Kunth, segundo a plataforma global *The World Flora Online* (WFO).

2.6.1. História

O nome “guaraná” tem origem indígena “uaraná” que significa “o início de todo conhecimento”, mas também tem origem tupi “Wara’ná” que significa “árvore que sobe apoiada em outra” (Miranda, 2008; Sousa, 2016). A primeira descrição escrita do guaraná foi feita pelo missionário jesuíta luxemburguês João Felipe Bettendorf em 1669. Em expedição à região amazônica ele observou que os povos tradicionais da etnia Sateré-Mawé localizada no território da cidade de Maués, tinham o hábito de ingerir uma bebida feita de guaraná e relatavam efeitos estimulantes e diuréticos a partir desse consumo, como por exemplo melhoras contra a dor de cabeça, febres e câibras (Shimpl *et al.*, 2013; Smith *et al.*, 2010). Além disso, o missionário relatou que o guaraná dava muita energia, de modo que eles eram capazes de caçar na floresta por dois dias sem sentir fome e, mais tarde, em meados do século XVIII, outros relatos descreveram o uso do guaraná com efeito antidiarreico e ainda no alívio do estresse causado pelo intenso calor (Atroch, 2009; Salomão-Oliveira *et al.*, 2018).

A nomenclatura da planta homenageia Christian Franz Paullini, um botânico e médico alemão que viveu no século XVIII, mas é uma espécie descrita inicialmente pelo botânico alemão Karl Sigismund Kunth, em 1821, com base em um material coletado em 1810 às margens do rio Orinoco na Venezuela por Alexander Von Humboldt, geógrafo alemão e Aimé Bonpland, médico francês (Kuri, 2008; Miranda, 2008). Há relatos de que o botânico alemão Carl Von Martius encontrou a planta de guaraná no estado do Amazonas, mais precisamente na região leste, na cidade de Maués, em 1818, e julgando ser uma variedade distinta da anteriormente encontrada, a nomeou diferente (Stark *et al.*, 2007). Foi Adolpho Ducke, botânico austríaco, mas com trabalhos pioneiros realizados na Amazônia brasileira, um dos primeiros a estudar o guaraná, que classificou a espécie em duas subespécies ou variedades geográficas: *Paullinia cupana* (Kunth) var. *typica*, relatada principalmente na Venezuela e Colômbia e *Paullinia cupana* (Kunth) var. *sorbilis* [(Mart.) Ducke], de ocorrência principalmente na flora brasileira (Atroch; Do Nascimento Filho, 2018).

2.6.2. Aspectos botânicos da planta

O guaranazeiro presente na Amazônia brasileira é um arbusto de baixo crescimento, com ocorrência em regiões de menor altitude, clima tropical quente e úmido de precipitação pluviométrica de 1500 a 3000 mm/ano, sendo caracterizado por suas folhas alternas, imparipenadas, verde-escuras divididas em cinco folíolos, com flores pequenas e pétalas brancas (Patrick *et al.*, 2019; Pereira, 2005; Pereira *et al.*, 2016). O fruto está disposto em cachos e apresenta uma característica única que se assemelha a um olho humano que se abre parcialmente deixando à mostra uma de suas sementes de cor castanho-escuro e a parte inferior coberta pelo mesocarpo (arilo branco) (Kuskoski *et al.*, 2005; Torres *et al.*, 2022) (FIGURA 4). A colheita do guaraná é realizada nesse estágio para que as cascas não se abram totalmente, evitando assim a queda da semente sendo que, ao amadurecer, a casca muda de coloração laranja-amarelada para uma cor vermelha intensa (Silva *et al.*, 2018; Smith *et al.*, 2010).

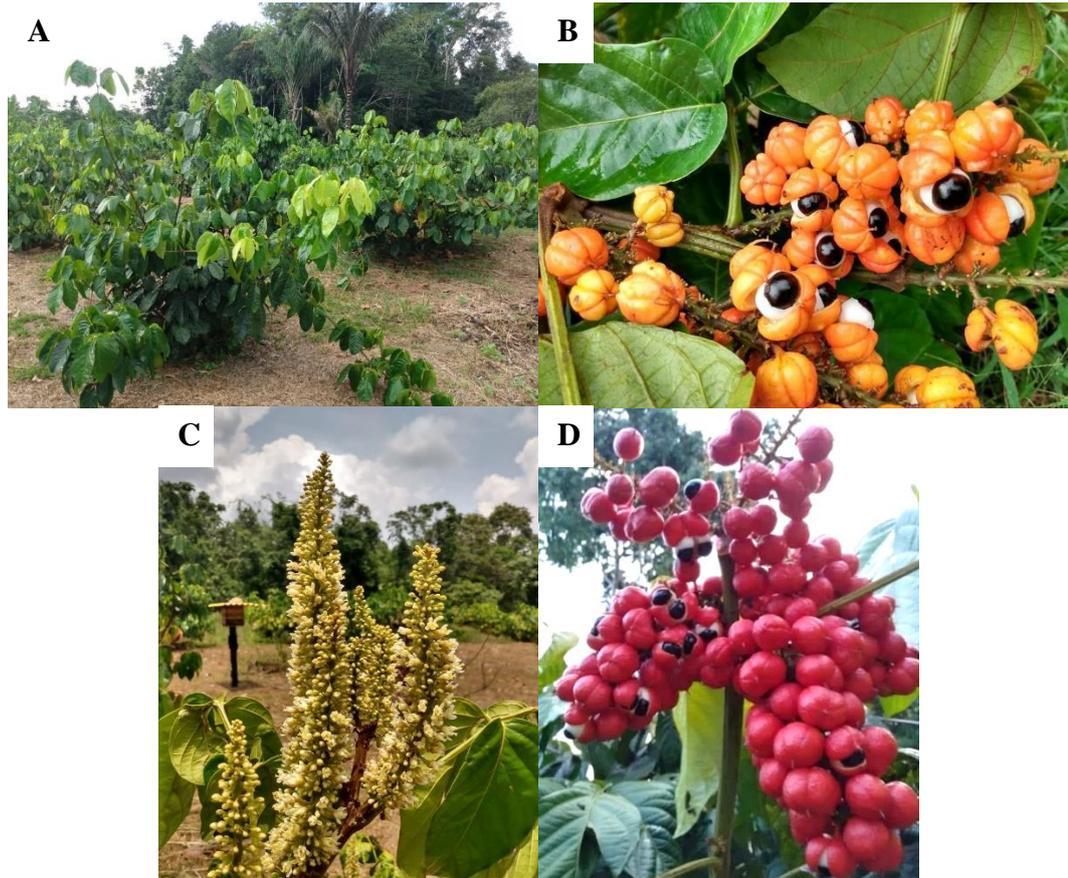


Figura 4. (A) Planta de guaraná destacando os ramos foliares. (B) Fruto de guaraná com cascas alaranjadas e cápsulas abertas com uma das sementes (preto) coberta pelo arilo (C) Inflorescências de guaraná com as flores brancas e cristas amarelas. (D) Fruto de guaraná maduro com as cascas vermelhas e cápsulas abertas. Fonte: O autor.

2.6.3. Importância do guaraná

O Brasil é o maior produtor de guaraná do mundo e, até a década de 80, o estado do Amazonas era o líder nessa produção. No entanto, devido ao aumento da demanda, os grandes agricultores de outras localidades foram estimulados a cultivar o guaraná. Em muitos casos, essa é uma atividade socioeconômica realizada por produtores com mão de obra familiar, seja como monocultura ou associada a outros cultivos (Atroch; Do Nascimento Filho, 2018; Marques *et al.*, 2019). No geral, o desenvolvimento do guaraná está relacionado à precipitação pluviométrica tendo em vista que seu plantio ocorre no período de chuvas e a floração no período mais seco do ano, com frutificação até três meses depois (Santos; Saraiva; Atroch, 2021).

De acordo com dados do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE), no ano de 2022 as plantações de guaraná no Brasil ocuparam uma área de 10.762 hectares, distribuídos nos estados da Bahia (5.538 hectares), Amazonas (4.729

hectares), Mato Grosso (329 hectares), Rondônia (101 hectares) e Pará (65 hectares), totalizando uma produção de 2.460 toneladas (IBGE, 2022). Conforme demonstrado na Tabela 2, os dados da produção nacional de guaraná nos últimos quatro anos revelam que o rendimento médio, que leva em consideração a produção pela área plantada, foi similar mesmo havendo um pequeno aumento nas áreas plantadas entre o ano mais distante e mais recente analisados.

Tabela 2. Área de plantio e de coleta, produção e rendimento médio na safra de guaraná no Brasil no período de 2019-2022.

Ano	Área plantada (ha)	Área colhida (ha)	Produção (t)	Rendimento médio (kg/ha)
2019	10.097	10.078	2761	274
2020	10.416	10.405	2704	260
2021	10.103	10.101	2743	272
2022	10.762	10.391	2460	237

ha: hectares. t: toneladas. kg/ha: quilogramas por hectare. Fonte: IBGE.

2.6.4. Composição química do guaraná

As primeiras investigações científicas sobre a natureza química do guaraná foram realizadas pelo farmacêutico alemão Theodoro Von Martius, em 1826. Ele trouxe para o Brasil os materiais para os testes e isolou do guaraná uma substância amarga cristalina branca com propriedades fisiológicas consideradas extraordinárias que foi denominada de guaranina, uma metilxantina com estrutura química semelhante à cafeína. Mais tarde, em 1840, os químicos franceses Marcellin Berthelot e Jules Auguste Dechastelus ao analisarem o guaraná demonstraram que a guaranina não era apenas um isômero da cafeína, mas idêntica a esse alcaloide e que havia sido descoberta anteriormente pelo químico alemão Friedlieb Runge, em 1820 (Bezerra, 2015).

A composição fitoquímica do guaraná é considerada altamente complexa, tendo inúmeros estudos se dedicando à essa elucidação uma vez que as propriedades funcionais advindas dessa planta podem ser atribuídas a esses compostos ativos. No geral, essas pesquisas destacam a cafeína que, em alguns casos, está presente em várias partes da planta com teor pelo menos quatro vezes maior quando comparada ao café, ao chá verde e ao cacau. Além disso, essa composição contém proporções de outras metilxantinas, como por exemplo a teobromina e a teofilina que em conjunto oferecem

diversos atributos benéficos ao guaraná (Edwards *et al.*, 2005; Schimpl *et al.*, 2014; Tfouni *et al.*, 2007; Yamaguti-Sasaki *et al.*, 2007).

São relatadas ainda a presença de polifenóis, como catequina e epicatequina, além de taninos, principalmente proantocianidinas (Klein; Longhini; De Mello, 2012; Pinaffi *et al.*, 2020; Sousa *et al.*, 2010), bem como a ocorrência de lipídios, polissacarídeos e proteínas (Avato *et al.*, 2003; Dalonso; Petkowicz, 2012; Santana; Macedo, 2018). Tendo em vista as inúmeras aplicações inerentes ao guaraná, a importância do controle de qualidade torna-se relevante e partir disso De Gois *et al.* (2016) realizaram um estudo que identificou alguns elementos traço como manganês, rubídio, níquel e estrôncio em amostras de guaraná comercial. Além disso, devido ao amplo uso dessa planta, o guaraná é descrito na Farmacopeia Brasileira desde 1977 e em 2005 ele foi reconhecido como alimento seguro pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) pela *Food and Drug Administration* (FDA) (Duchan; Patel; Feucht, 2010; Marques *et al.*, 2019).

É importante ressaltar que o metabolismo das plantas e, por conseguinte, a presença/concentração das biomoléculas vegetais pode variar consideravelmente dependendo de processos bioquímicos, fisiológicos, ecológicos e evolutivos, entre eles as alterações relacionadas aos métodos de cultivo, condições de extração, regiões de plantio, sazonalidade, fatores ambientais e genéticos, entre outras características como a idade da planta, radiação ultravioleta, altitude, poluição atmosférica e armazenamento (Da Silva *et al.*, 2016; Gobbo-Neto; Lopes, 2007; Marques, 2016; Nina *et al.*, 2021).

3. MATERIAL E MÉTODOS

Tendo em vista que as metodologias utilizadas no decorrer da presente Tese se repetem ao longo dos Capítulos e ainda no intuito de evitar redundância na escrita ao longo do documento, os materiais e métodos são descritos a seguir. Vale ressaltar que tais metodologias são utilizadas nos Capítulos I, II e III, sendo que algumas técnicas e experimentos foram conduzidos em parceria com grupos de pesquisas em diferentes instituições, enquanto os demais experimentos foram conduzidos em laboratórios de pesquisa da Universidade de Brasília.

3.1. Coleta do material vegetal de guaraná

Os materiais botânicos de *Paullinia cupana* (folhas e flores) foram coletados em uma propriedade particular (Sítio Putitanga – 03°22'07" S e 57°41'27" O) localizada no município de Maués, estado do Amazonas, Brasil. A coleta foi realizada de acordo com o preconizado pelo Conselho de Gestão do Patrimônio Genético (CGen), com número de autorização A5C4D66 (APÊNDICE 1). As folhas foram coletadas em dois meses do ano – agosto e fevereiro, correspondendo ao período seco (PS) e ao período chuvoso (PC) na região amazônica ou ainda às estações de inverno e verão nessa região, respectivamente. Para as flores, seguiu-se a demanda espontânea nas plantas, portanto, em relação aos meses de coleta somente foi possível coletá-las no mês de agosto (período seco). Vale ressaltar que as folhas e flores foram coletadas da mesma planta, independente da época do ano e sempre durante o turno da manhã. Após as coletas, os materiais botânicos foram colocados em embalagens plásticas escuras a fim de evitar oxidação e transportados por via marítima e aérea, sob temperatura ambiente, até o Laboratório de Nanobiotecnologia do Instituto de Ciências Biológicas da UnB. Ao chegar, os materiais vegetais foram armazenados sob a temperatura de -80 °C até o momento de sua utilização. A identificação botânica (exsicata) da planta foi realizada no Herbário da Universidade Federal do Oeste do Pará (HSTM – UFOPA) pela professora Thaís Elias Almeida e recebeu o número de tombo 14711 (APÊNDICE 2).

3.2. Preparação dos extratos vegetais de folhas e flores de guaraná

Para a preparação dos extratos aquosos, os materiais vegetais das duas coletas foram retirados do freezer a -80 °C e passaram pelo processo de descongelamento à temperatura ambiente. Os extratos aquosos foram preparados, individualmente, a partir dos cinco folíolos da folha composta do guaranzeiro coletados no período seco (F-PS),

no período chuvoso (F-PC) e com as flores (FL-PS), de acordo com a Figura 5, sendo os folíolos identificados sequencialmente no sentido horário. Cada parte vegetal (cerca de um grama) *in natura* foi lavada com solução aquosa do detergente neutro Extran 1% por cinco minutos, sendo novamente lavada, mas com água ultrapura, por cinco minutos e posteriormente seca sob temperatura ambiente com o auxílio de papel toalha.

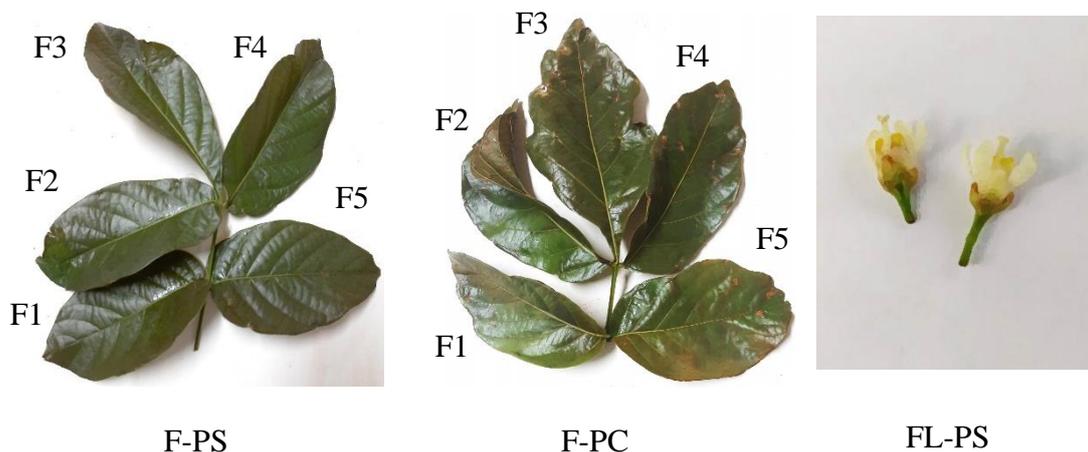


Figura 5. Partes vegetais de guaraná (*Paullinia cupana*) utilizadas na síntese verde de nanopartículas de prata (AgNPs). Os folíolos, denominados como F1, F2, F3, F4 e F5, foram identificados na mesma ordem, no sentido horário, para as folhas compostas coletadas nas duas épocas do ano. F-PS: folha composta coletada no período seco, F-PC: folha composta coletada no período chuvoso, FL-PS: flores coletadas no período seco.

Os extratos aquosos foram sempre preparados imediatamente antes do uso com os materiais vegetais sendo cortados em pequenos fragmentos (aproximadamente 5×5 mm) e três métodos de preparação dos extratos vegetais foram testados para investigar qual poderia apresentar melhor capacidade extrativa dos compostos fitoquímicos essenciais para a síntese verde das AgNPs.

O primeiro método consistiu em (i) agitação magnética (A) onde as partes vegetais foram imersas em água ultrapura e mantidas em agitador (761-5, Fisatom, Brasil) por 30 minutos a 1000 rpm à temperatura ambiente; (ii) no segundo, por decocção (D), o material vegetal foi adicionado em água ultrapura, sob ebulição, permanecendo por três minutos sob fervura com temperatura em torno de 60°C em uma chapa de aquecimento (RH Basic 2, IKA) e (iii) no terceiro método, por infusão (I), as partes vegetais de guaraná foram imersas em água ultrapura fervente recém ebulida a 60°C permanecendo em repouso por 10 minutos. Após cada preparo, os extratos foram filtrados em papel filtro qualitativo (Whatman n°1) e centrifugados a 6000 rpm por cinco minutos sob temperatura ambiente em uma microcentrífuga a fim de separar os

restos teciduais presentes mesmo após a filtração (Mikro 220R, Hettich Instruments). O volume de água ultrapura adicionado a cada material vegetal em todos os métodos de preparação do extrato foi de 10 mL, alcançando assim uma concentração de 100 mg/mL de extrato aquoso (1:10 m/v). Todos esses procedimentos foram realizados no Laboratório de Nanobiotecnologia do Instituto Ciências Biológicas da UnB. A Tabela 3 apresenta um resumo de cada experimento de preparo, pelos diferentes métodos empregados, dos extratos aquosos de folíolos ou flores guaraná coletados nos dois períodos sazonais.

Tabela 3. Extratos aquosos preparados a partir das partes vegetais de guaraná (*Paullinia cupana*), com variação da parte da planta utilizada, do método de preparação do extrato vegetal e do período sazonal de coleta.

Extrato aquoso	Parte da planta	Método de preparação	Período sazonal
1	Folíolo 1	Agitação	Seco
2	Folíolo 1	Decocção	Seco
3	Folíolo 1	Infusão	Seco
4	Folíolo 2	Agitação	Seco
5	Folíolo 2	Decocção	Seco
6	Folíolo 2	Infusão	Seco
7	Folíolo 3	Agitação	Seco
8	Folíolo 3	Decocção	Seco
9	Folíolo 3	Infusão	Seco
10	Folíolo 4	Agitação	Seco
11	Folíolo 4	Decocção	Seco
12	Folíolo 4	Infusão	Seco
13	Folíolo 5	Agitação	Seco
14	Folíolo 5	Decocção	Seco
15	Folíolo 5	Infusão	Seco
16	Flor	Agitação	Seco
17	Flor	Decocção	Seco
18	Flor	Infusão	Seco

(Continua)

(Continuação)

Extrato aquoso	Parte da planta	Método de preparação	Período sazonal
19	Folíolo 1	Agitação	Chuvoso
20	Folíolo 1	Decocção	Chuvoso
21	Folíolo 1	Infusão	Chuvoso
22	Folíolo 2	Agitação	Chuvoso
23	Folíolo 2	Decocção	Chuvoso
24	Folíolo 2	Infusão	Chuvoso
25	Folíolo 3	Agitação	Chuvoso
26	Folíolo 3	Decocção	Chuvoso
27	Folíolo 3	Infusão	Chuvoso
28	Folíolo 4	Agitação	Chuvoso
29	Folíolo 4	Decocção	Chuvoso
30	Folíolo 4	Infusão	Chuvoso
31	Folíolo 5	Agitação	Chuvoso
32	Folíolo 5	Decocção	Chuvoso
33	Folíolo 5	Infusão	Chuvoso

3.3. Caracterização fitoquímica e atividade antioxidante dos extratos aquosos vegetais de guaraná

Os extratos aquosos vegetais (concentração bruta de 100 mg/mL) preparados por diferentes métodos foram analisados quanto à caracterização dos compostos fitoquímicos em sua composição, teor de compostos fenólicos e ainda a partir da atividade antioxidante pelo mecanismo de sequestro de radicais livres.

Para essa etapa, os extratos aquosos analisados foram preparados por agitação, decocção e infusão a partir do folíolo 2 coletado no período seco (extratos 4, 5 e 6 da Tabela 3), além do extrato preparado por decocção utilizando as flores (extrato 17 da Tabela 3). Por sua vez, os extratos aquosos dos folíolos coletados no período chuvoso foram aqueles preparados por agitação e decocção utilizando o folíolo 3 (extratos 25 e 26 da Tabela 3) e por infusão a partir do folíolo 1 (extrato 21 da Tabela 3).

3.3.1. Cromatografia Líquida de Ultra Eficiência acoplada a Espectrometria de Massas de Alta Resolução (UHPLC-HRMS/MS)

O perfil dos compostos fitoquímicos presentes em cada um dos extratos aquosos das diferentes partes de guaraná foi estabelecido em um cromatógrafo líquido de ultra eficiência (UHPLC) (Nexera X2, Shimadzu Corporation, JPN) composto por bomba quaternária, auto mostrador e forno de coluna acoplado a um espectrômetro de massas de alta resolução que utiliza ionização por *electrospray* e tecnologia de quadrupolo e tempo de voo (ESI-qTOF-HRMS) (MaXis 4G, Bruker). Essas análises foram realizadas no Laboratório de Química de Biomassa e Biocombustíveis (LQB) da Embrapa Agroenergia, em Brasília/DF sob supervisão do analista José Antônio de Aquino Ribeiro e do pesquisador Clenilson Martins Rodrigues.

Inicialmente, os extratos foram diluídos até a concentração de 2 mg/mL em água ultrapura, centrifugados a 13.200 rpm por 10 minutos e transferidos para frascos do tipo *vial*. As separações cromatográficas foram realizadas utilizando coluna Acquity UPLC HSS-T3 (150 x 2.1 mm, 1.8 μ m), com gradiente exploratório de eluição a 1 minuto (100% A; 0% B), 9 minutos (75% A; 25% B); 14 minutos (50% A; 50% B); 17 minutos (0% A; 100% B); 20 minutos (0% A; 100% B e 100% A; 0% B) e 25 minutos (100% A; 0% B) onde o solvente A era o ácido fórmico a 0,1% em água (v/v), o solvente B era o ácido fórmico a 0,1% em acetonitrila (v/v) e a vazão foi de 0,4 mL/minuto. A coluna foi mantida a 40 °C e o volume de injeção foi de 1 μ L.

O espectrômetro de massas foi operado em ambas as polaridades (positivo e negativo), em modo de aquisição Auto MS/MS. A aquisição e o processamento dos dados das análises foram feitos usando o pacote *Compass 1.7 (Bruker Daltonics)*, composto pelos softwares *OtofControl 3.4* e *HyStar 3.2*. Os dados brutos foram processados utilizando o software *DataAnalysis 4.2 (Bruker Daltonics)*. Os espectros obtidos em cada cromatograma foram calibrados internamente utilizando solução de formiato de sódio 5 mM, inserida no começo de cada injeção cromatográfica por meio do uso de uma *divert valve*. A recalibração de massas foi feita utilizando as listas de referência “*Na Formate pos*” e “*Na Formate neg*”, no modo *High-Performance Computing (HPC)*, com desvio padrão máximo de 0,7 ppm.

Os espectros de primeira ordem (MS) foram avaliados com o auxílio das ferramentas *SmartFormula* e *Compound Crowler*, integrantes do software *Data Analysis*. O *SmartFormula* permite calcular possíveis fórmulas moleculares para um

dado valor medido de massa/carga (m/z). A ferramenta *Compound Crowler* é utilizada subsequentemente ao *SmartFormula* para realizar buscas das fórmulas candidatas em bancos de dados *online* disponíveis, tais como *Metlin* e *Kegg*, sendo um passo preliminar para identificação putativa dos compostos detectados. Os espectros de segunda ordem (MS/MS) foram avaliados com o auxílio da ferramenta *MetFrag* (<https://msbi.ipb-halle.de/MetFragBeta/>), um software gratuito baseado na *web* para anotação de espectros de massas em tandem de alta resolução de metabólitos, que é uma etapa adicional essencial para aumentar a confiabilidade na predição estrutural dos compostos fitoquímicos investigados. Moléculas candidatas de diferentes bancos de dados são fragmentadas *in silico* e comparadas com os valores de massa/carga obtidos nos espectros das amostras analisadas. Uma pontuação (*score*), calculada usando as correspondências de pico de fragmento, fornece informações sobre a qualidade da atribuição do espectro candidato. As estruturas sugeridas de forma putativa por meio da avaliação dos espectros de primeira e segunda ordem foram comparadas, quando possível, com dados da literatura científica para maior assertividade quanto aos compostos identificados previamente.

3.3.2. *Quantificação de fenóis totais pelo método de Folin-Ciocalteu*

O ensaio colorimétrico utilizando o reagente Folin-Ciocalteu (Dinâmica, Brasil) foi realizado para quantificar o teor de compostos fenólicos totais presentes nos extratos aquosos vegetais por meio de espectroscopia de UV/Vis, logo após a preparação e sem diluição prévia. A construção da curva padrão para determinação da equação da reta contou com seis concentrações distintas do ácido gálico (200 $\mu\text{g/mL}$) (Dinâmica, Brasil) com os volumes de cada componente pré-determinado, segundo a metodologia de Pires *et al.* (2017a) para um volume final de 300 μL em microplacas de 96 poços. O ensaio com as amostras de extratos vegetais teve como base esse mesmo estudo e utilizou os mesmos volumes dos reagentes descritos, sendo que os extratos foram testados com um volume de 20 μL . Tanto nos ensaios para a construção da curva padrão quanto nos de quantificação do teor de fenóis totais, foram feitos três experimentos independentes em triplicata por concentração do padrão/amostra, com as microplacas sendo incubadas por 20 minutos no escuro, sob temperatura ambiente antes das leituras de absorbância a 760 nm em um espectrofotômetro conjugado a uma leitora de microplacas (M3, Molecular Devices) no Laboratório de Enzimologia do Instituto de Ciências Biológicas da UnB. O

teor de substâncias redutoras foi expresso em equivalentes do padrão (ácido gálico) por massa do extrato vegetal ($\mu\text{gEAG/gEA}$).

3.3.3. Atividade antioxidante pelos métodos de DPPH e ABTS

A atividade antioxidante dos extratos aquosos vegetais foi avaliada por meio do método de sequestro de radicais livres utilizando o radical DPPH (2,2-difenil-1-picrihidrazil) (Sigma-Aldrich, Brasil) e o radical ABTS (2,2-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-ácido sulfônico) (Sigma-Aldrich, Brasil), conforme metodologias adaptadas de Pires *et al.* (2017b) e Torres *et al.* (2017). Resumidamente, os dois testes foram conduzidos em proporções de reagentes similares às indicadas nas metodologias acima, em microplacas de 96 poços, com o ácido gálico como padrão na concentração de 100 $\mu\text{g/mL}$ para o ensaio de DPPH e 200 $\mu\text{g/mL}$ para o ensaio com o ABTS. As curvas padrões foram obtidas com cinco pontos de concentração, além do branco (utilizando apenas metanol), com posterior determinação da equação da reta. Todos esses experimentos foram conduzidos em triplicata por concentração do padrão/amostra, em três experimentos independentes, com as microplacas em repouso no escuro por 30 minutos, sob temperatura ambiente e posterior leitura de absorvância dos poços a 517 nm (DPPH) ou com incubação no escuro por 20 minutos, sob temperatura ambiente e posterior leitura de absorvância dos poços a 734 nm (ABTS) em um espectrofotômetro conjugado a uma leitora de microplacas (M3, Molecular Devices) no Laboratório de Enzimologia do Instituto de Ciências Biológicas da UnB. O potencial antioxidante nos dois métodos foi expresso em equivalentes do padrão (ácido gálico) por massa do extrato vegetal ($\mu\text{gEAG/gEA}$).

3.4. Prospecção do material vegetal de guaraná na síntese verde de AgNPs

Como procedimento padrão adotado inicialmente, as reações de síntese de AgNPs foram realizadas utilizando uma solução aquosa de nitrato de prata (AgNO_3 ; Sigma-Aldrich, Brasil) a 1 mM (aproximadamente 170 $\mu\text{g/mL}$) recém preparada e os extratos aquosos do material vegetal (numerados de 1 a 33, conforme a Tabela I-1) na concentração de 1 mg/mL em relação ao volume final. Além disso, também foram produzidos controles experimentais: (i) controle do AgNO_3 (sal metálico a 1 mM e água ultrapura) e (ii) controle do extrato (água ultrapura e o extrato correspondente àquela síntese na concentração de 1 mg/mL). Posteriormente, os tubos de ensaio de vidro contendo cada mistura reacional foram protegidos com papel alumínio para evitar foto-

oxidação da prata e a evaporação do líquido durante a reação, que ocorreu sob o abrigo de luz, com incubação em banho-maria (555, Fisatom, Brasil) a 70 °C por 180 minutos.

Em relação à etapa de otimização da síntese verde, diferentes parâmetros foram avaliados para determinar a condição ideal levando em consideração a possível influência da (i) concentração de extrato aquoso, (ii) concentração de AgNO₃, (iii) temperatura da síntese e (iv) do equipamento e/ou fonte de energia empregados durante a síntese que podem se correlacionar com as características finais das AgNPs sintetizadas pela rota biogênica. Todos esses procedimentos foram conduzidos no Laboratório de Nanobiotecnologia do Instituto de Ciências Biológicas da UnB

3.4.1. Síntese com variação na concentração do extrato aquoso de *Paullinia cupana*

Foi avaliado o efeito da concentração do extrato aquoso de folhas de *Paullinia cupana* (0,5, 1, 2, 4, 8 mg/mL) durante a síntese verde das AgNPs. Volumes equivalentes às diferentes concentrações do extrato aquoso foram adicionados em tubos de ensaios de vidro que foram cobertos por papel alumínio contendo solução aquosa de AgNO₃ a 1 mM (v/v). Nessa etapa, as suspensões foram incubadas separadamente em banho-maria sob temperatura de 70 °C por 180 minutos.

3.4.2. Síntese com variação na concentração de AgNO₃

Foi avaliado o efeito da concentração final de AgNO₃ (0,5, 1, 2, 3, 4 mM) durante a síntese verde das AgNPs. Volumes equivalentes às diferentes concentrações de AgNO₃ foram adicionados em tubos de ensaios de vidro que foram cobertos por papel alumínio com o extrato aquoso das folhas de *Paullinia cupana* na concentração de 2 mg/mL (v/v). Nessa etapa, as suspensões foram incubadas separadamente em banho-maria sob temperatura de 70 °C por 180 minutos.

3.4.3. Síntese com variação de temperatura

Foi avaliado o efeito da temperatura empregada em banho-maria (37 °C, 50 °C, 70 °C, 90 °C) durante a síntese verde das AgNPs. O extrato aquoso das folhas de *Paullinia cupana* foi utilizado na concentração final de 2 mg/mL e a solução aquosa de AgNO₃ a 2 mM (v/v), em tubos de ensaio de vidro que foram cobertos por papel alumínio, por 180 minutos.

3.4.4. Síntese com variação no equipamento e/ou fonte de energia

Foi avaliado o efeito do equipamento e/ou fonte de energia durante a síntese verde das AgNPs. O extrato aquoso das folhas de *Paullinia cupana* foi utilizado na concentração final de 2 mg/mL e a solução aquosa de AgNO₃ a 2 mM (v/v). As suspensões foram incubadas por 180 minutos em banho-maria (BM) (555, Fisatom) (fonte de energia térmica) e banho de ultrassom (U) (Q5.9/40, Ultronique Eco-Sonics; frequência 40 kHz; potência 132 W) (fonte de energia sonoquímica) a 70 °C; sob luz solar (S) (fonte de energia luminosa) com temperatura entre 24 a 29 °C e sob luz UV em um equipamento emissor de luz LED (LED) ($\lambda = 660$ nm; potência 55W/m²) (fonte de energia fotoquímica), sob temperatura ambiente, desenvolvido pelo professor Paulo Eduardo Narciso de Souza, do Instituto de Física da Universidade de Brasília – IF/UnB. A síntese das AgNPs também foi investigada com o uso de aquecimento e pressão em autoclave (A) (Fabbe, 103) (fonte de energia hidrotermal) por um ciclo completo (90 minutos) a 121 °C e com a irradiação por aquecimento em micro-ondas (M) (MEF28, Electrolux; potência 1150 W; frequência 2450 MHz) (fonte de energia eletromagnética) por 1,5 minuto, com a temperatura não quantificada.

Após avaliar como a alteração dos parâmetros reacionais poderia exercer influência sob as propriedades físico-químicas e coloidais das AgNPs com base nas variáveis demonstradas acima, foram realizadas novas sínteses a partir das condições otimizadas de cada parâmetro para posterior aplicação nos ensaios de atividades biológicas e catalíticas.

3.5. Caracterização das AgNPs

3.5.1. Análise de inspeção visual e espectrofotometria por UV/Vis

Ao longo da etapa de síntese das AgNPs, as mudanças de coloração dos meios reacionais foram inspecionadas e as cinéticas de síntese das AgNPs foram monitoradas em espectrofotômetro de UV/Vis (UV1800PC, Phenix) no Laboratório de Nanobiotecnologia do Instituto de Ciências Biológicas da UnB com a absorbância lida em 450 nm a cada 30 minutos durante 180 minutos ou ainda de acordo com o tempo das leituras espectrofotométricas variando a partir das especificações de cada equipamento utilizado como rota de síntese verde. Ao término das reações, foram construídas curvas de absorção na faixa entre 350 e 550 nm de comprimento de onda, com intervalos de 10 nm, no intuito de analisar a banda máxima de absorção de cada amostra e seus

controles. Os dados adquiridos foram transferidos para o software *GraphPrism 8* (*GraphPad software*, EUA) para a construção dos gráficos.

3.5.2. Espalhamento de luz dinâmico e potencial Zeta de superfície

As suspensões de AgNPs foram analisadas quanto ao seu diâmetro hidrodinâmico (DH), índice de polidispersividade (PdI) e potencial Zeta (PtZ), no equipamento ZetaSizer Nano ZS (*Malvern Instruments*, Reino Unido) no Laboratório de Nanobiotecnologia do Instituto de Ciências Biológicas da UnB. As amostras foram diluídas na proporção 1:10 (v/v) em água ultrapura até um volume final de 1 mL (100 μ L de amostra e 900 μ L de água) e colocadas em cubetas de poliestireno que eram então introduzidas no equipamento previamente configurado para realizar as leituras em um ângulo de 90°, laser de hélio-neônio de 633 nm, com 120 segundos de estabilização antes do início das medições, na temperatura de 25 °C e realizando 10 leituras em triplicata. Os dados foram representados por meio da média \pm desvio padrão da média, processados pelo software *ZetaSizer 7.13* desenvolvido pelo mesmo fabricante do equipamento e os gráficos construídos no software *GraphPrism 8* (*GraphPad software*, EUA).

Para avaliar o efeito do armazenamento, alíquotas de cada suspensão coloidal das AgNPs foram separadas e deixadas sob condições distintas: temperatura ambiente (\sim 22 °C) e em geladeira (\sim 8 °C). As medições foram realizadas no dia da síntese e, a fim de monitorar a estabilidade coloidal, foram repetidas um dia depois da síntese inicial e após 7, 14, 40, 60, 90, 180, 270 e 365 dias a depender das amostras de AgNPs analisadas, nas duas condições de armazenamento. Vale ressaltar que para os testes de caracterização e atividades biológicas descritos ao longo desta tese, independente do capítulo, foram utilizadas as alíquotas de AgNPs armazenadas em geladeira.

3.5.3. Análise de Rastreamento de Nanopartículas (ARN)

A técnica de ARN foi realizada a fim de determinar o diâmetro médio e a concentração das AgNPs. As amostras de AgNPs sintetizadas com os extratos aquosos dos folíolos e flores coletados no período seco foram diluídas na proporção de 1:1000 em água bidestilada e as análises foram realizadas com microscópio digital LM10 HS System (*NanoSight*, *Wiltshire*, Reino Unido). As medições foram feitas em um único obturador manual e modo de ganho por 60 segundos com ganho, brilho e ajustes de limiar em temperatura ambiente. As imagens de vídeo das partículas, movendo-se sob movimento browniano, foram capturadas e analisadas pelo software de análise de

imagem NTA 2.0 *NanoSight* LM10 HS (*NanoSight* Ltd., *Minton Park, Amesbury, Wiltshire* SP47RT, Reino Unido). Essas medidas foram realizadas pelo doutor Victor Hugo Sousa Araújo na Universidade Estadual de São Paulo (UNESP).

Para as AgNPs sintetizadas com os extratos dos folíolos coletados no período chuvoso e para as amostras obtidas após a otimização dos parâmetros reacionais, a metodologia seguiu o estudo de Ribeiro *et al.* (2022). Resumidamente, a determinação de tamanho médio e de concentração de AgNPs foi feita em um equipamento *NanoSight* NS300 (*Malvern Instruments, Worcestershire*, Reino Unido) equipado com um laser de diodo de 532 nm (verde) que recebeu as AgNPs diluídas 1000 vezes em água ultrapura, em triplicata, sendo injetadas com seringas estéreis na câmara de amostra. Essas medidas foram realizadas pelo doutorando Alberto Gomes Tavares Junior, na Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade Estadual de São Paulo (UNESP).

3.5.4. *Microscopia Eletrônica de Transmissão (MET)*

As AgNPs foram submetidas a análises por MET para determinação da morfologia e diâmetro seco. Para as amostras sintetizadas a partir dos extratos aquosos dos folíolos e flores de guaraná antes da etapa de otimização, foram utilizados 10 µL de cada suspensão de AgNPs que foram gotejados sobre uma tela de cobre recoberta com filme de Formvar[®] depositada em papel filtro dentro de uma placa de Petri de vidro. Após o gotejamento, as amostras foram secas em estufa a 60 °C por 1 hora e em seguida analisadas em um microscópio eletrônico de transmissão (FEI, Tecnai) operando a 120 kV. Os experimentos foram realizados no Instituto de Estudos Avançados do Mar na UNESP (IEAMar/UNESP) pelos professores Dayane Batista Tada e Hugo de Campos Braga e pelo técnico Eduardo do Valle Ricardo.

Para as amostras sintetizadas após as condições de síntese otimizadas, a caracterização morfológica das AgNPs foi investigada em microscópio eletrônico de transmissão JEM-1011 (JEOL, JPN) operando a 80 kV no Laboratório de Microscopia e Microanálise (LMM) do Instituto de Ciências Biológicas da UnB pela técnica Ingrid Graciele. Para as análises no MET, 5 µL das suspensões de AgNPs foram colocados sobre uma tela de cobre recoberta com filme de Formvar[®] e após 24 horas secando sob temperatura ambiente as amostras foram observadas no microscópio.

As imagens das nanoestruturas foram obtidas de forma aleatória e os histogramas de distribuição de diâmetro foram construídos pelo software *OriginPro* 8.5

(*OriginLab Corporation*, EUA) a partir da contagem das partículas de cada grupo de AgNPs com o auxílio do software *Image J* (*National Institute of Health*, EUA).

3.5.5. Espectroscopia por Energia Dispersiva de Raios X (EED)

A técnica de EED foi realizada acoplada a um microscópio eletrônico de varredura (FEI, INSPECT S50 com detector *Everhart-Thornley*) operando a 10 kV após as suspensões de AgNPs serem gotejadas sobre suportes de alumínio (*stubs*), sem metalização, e secas por três dias em recipientes fechados. A partir da incidência do feixe de luz nas amostras, os elétrons mudam de nível energético e ao retornarem liberam energia que pode ser mensurada por meio de um detector. Como os elétrons de cada átomo apresentam energias distintas, os elementos químicos presentes nas amostras podem ser identificados. As análises foram feitas no Núcleo de Apoio à Pesquisa em Ciência e Engenharia de Materiais da Universidade Federal de São Paulo (NAPCEM/UNIFESP), com o apoio dos professores Dayane Batista Tada e Hugo de Campos Braga.

3.6. Atividade antibacteriana

O método de microdiluição em caldo foi realizado de acordo com o *Clinical Laboratory Standard Institute* (CLSI, 2015) para determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM) das amostras testadas frente às bactérias Gram-negativas *Acinetobacter baumannii* (ATCC 19606), *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Klebsiella pneumoniae* (ATCC 700603), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 9027) e *Salmonella enterica* (ATCC 13076) e Gram-positivas *Bacillus cereus* (isolado ambientalmente), *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) e *Staphylococcus epidermidis* (ATCC 12228). Esses ensaios foram realizados no Laboratório de Bacteriologia, da Universidade Estadual de Londrina (UEL) sob supervisão do doutorando Lucas Marcelino dos Santos Souza e do professor Gerson Nakazato.

As bactérias foram semeadas em meio de cultura Ágar Muller-Hinton (MH) (*Difco*), com incubação a 37 °C por 24 horas. Após isso, foram coletadas das placas de 2 a 5 colônias bacterianas e colocadas em solução salina (0,85% de NaCl) até ajustar a 0,5 na escala de *McFarland* ou $1,5 \times 10^8$ UFC/mL. A microdiluição em caldo consistiu na adição de 50 µL de MH em poços de uma microplaca com 96 poços e posteriormente, colocou-se 50 µL de cada amostra no primeiro poço da placa, totalizando 100 µL. 50 µL dessa solução foram coletados e colocados no próximo poço e sucessivamente em todos os poços, realizando assim uma diluição seriada com sete

faixas de diluições tanto para as AgNPs e o AgNO₃ (42,5 – 0,33 µg/mL) quanto para os extratos vegetais (25000 – 50 µg/mL). A solução salina com as bactérias foi diluída à concentração de 1×10^6 UFC/mL em MH. 50 µL dessa solução bacteriana foram colocados em cada poço, completando assim o volume das amostras em cada poço.

As placas foram incubadas à 37 °C por 18 a 24 horas e posteriormente a leitura foi feita visualmente, avaliada de acordo com a turvação do meio de cultura, onde a ausência de turbidez indicava a inibição do crescimento do microrganismo. Todos os testes foram feitos em triplicata por concentração, com controle positivo (apenas bactérias) e negativo (apenas meio de cultura). Foi realizada também a mensuração da Concentração Bactericida Mínima (CBM), considerando-se a CBM quando a quantidade de morte bacteriana estava $\geq 99,9$ % após 24 horas de tratamento.

3.7. Atividade antioxidante

O ensaio de atividade antioxidante, baseado no sequestro de radicais livres, foi realizado utilizando o reagente DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazil) (Sigma-Aldrich, Brasil) e conduzido com base nos estudos de Hemlata *et al.* (2020) e Patra, Das e Shin (2019), com modificações. O teste com DPPH foi realizado em microplacas de 96 poços, onde 150 µL de uma solução de DPPH (0,1 mM) em metanol (Dinâmica, Brasil) recém preparada foram depositados nos poços e em seguida adicionados, em cada poço, 150 µL das AgNPs-PC ou AgNPs-PS (nas concentrações de 12,5, 25, 50, 75, 100 e 150 µg/mL), dos extratos vegetais (nas concentrações de 125, 250, 500, 750, 1000 e 1500 µg/mL) ou do ácido ascórbico (controle positivo) nas mesmas concentrações das AgNPs. Em seguida, as microplacas foram recobertas com papel alumínio, incubadas por 30 minutos no escuro sob temperatura ambiente (22-25° C) e após esse período as leituras foram realizadas a 517 nm em um espectrofotômetro conjugado a uma leitora de microplacas (M3, Molecular Devices). O controle negativo consistiu em 150 µL da solução metanólica de DPPH (0,1 mM) com 150 µL de metanol (J.T.Baker[®], Brasil) e como branco experimental foram utilizados 300 µL de metanol.

Além desse ensaio, o radical livre ABTS⁺ também foi testado a partir da sua obtenção por meio da mistura de soluções aquosas do reagente ABTS (ácido 2,2'-azino-bis(3-etilbenzotiazolína-6-sulfônico)) (7 mM) (Sigma-Aldrich, Brasil) e de persulfato de potássio (K₂S₂O₈) (140 mM) (LabSynth, Brasil) recém preparadas, segundo Torres *et al.* (2017). O teste com o ABTS⁺ foi realizado de acordo com as metodologias propostas por Abdullah *et al.* (2021) e Hu *et al.* (2022), com algumas modificações, em

microplacas de 96 poços, onde 250 µL de uma solução aquosa de ABTS⁺ foram depositados nos poços e em seguida adicionados 50 µL das AgNPs-PC e AgNPs-PS (nas concentrações de 12,5, 25, 50, 75, 100 e 150 µg/mL), dos extratos vegetais (nas concentrações de 125, 250, 500, 750, 1000 e 1500 µg/mL) ou do ácido ascórbico (controle positivo) nas mesmas concentrações das AgNPs. Em seguida, as microplacas foram recobertas com papel alumínio, incubadas por 7 minutos no escuro sob temperatura ambiente (22-25° C) e após esse período as leituras foram realizadas a 734 nm em um espectrofotômetro conjugado a uma leitora de microplacas (M3, Molecular Devices). O controle negativo foi 250 µL de ABTS⁺ com 50 µL de K₂S₂O₈ e como branco foram utilizados 300 µL de K₂S₂O₈.

Estes experimentos foram realizados em triplicata, por concentração para cada amostra, com três experimentos independentes, no Laboratório de Enzimologia do Instituto de Ciências Biológicas da UnB. Os resultados são apresentados como a média ± desvio padrão da média, com as atividades antioxidantes expressas em porcentagem de inibição dos radicais livres (%) baseados nos valores de absorbância corrigidos pelos seus respectivos brancos. As atividades antioxidantes foram calculadas a partir da fórmula abaixo:

$$\% \text{ de inibição} = \frac{(\text{Absorbância do controle} - \text{Absorbância da amostra})}{\text{Absorbância do controle}} \times 100 \quad (1)$$

3.8. Atividade anticâncer

Todos os procedimentos descritos nesse tópico estão de acordo com protocolos experimentais pré-estabelecidos no Laboratório de Nanobiotecnologia do Instituto de Ciências Biológicas da UnB e foram realizados no mesmo laboratório.

3.8.1. Linhagens celulares

Para esses ensaios foram utilizadas as linhagens de células tumorais imortalizadas humanas A431 (carcinoma de pele não-melanoma) e A549 (adenocarcinoma de pulmão), além das linhagens não tumorais HaCaT (queratinócitos humanos) e HNTMC (fibroblastos da polpa dental humana). Alíquotas das células se encontravam em nitrogênio líquido e são provenientes do Banco de Células do Rio de Janeiro (BCRJ), enquanto os fibroblastos são advindos de cultura primária da polpa dentária de voluntários saudáveis, cuja coleta foi aprovada pelo Comitê de Ética Humana da UnB (UnBDOC 104934/2008). Todos os ensaios *in vitro* foram realizados

em incubadora de células (Thermo Scientific, EUA) à temperatura de 37 °C, com 80% de umidade e 5% de CO₂.

3.8.2. *Manutenção e subcultivo celular*

As células foram cultivadas, após descongelamento, em garrafas de cultura (Greiner Bio-one, Brasil) de 25 cm² contendo 5 mL de meio de cultivo DMEM (*Dulbecco's Modified Eagle Medium*) (Gibco, EUA) estéril tamponado com bicarbonato de sódio (NaHCO₃) e pH entre 7,2 e 7,4 suplementado com 10% (v/v) de soro fetal bovino (SFB) e 1% (v/v) de solução de antibióticos (100 U/mL de penicilina e 100 µg/mL de streptomina). O meio de cultivo foi trocado a cada 48 horas e para o início dos experimentos considerou-se como ideal uma confluência celular em torno de 80%.

Como as linhagens celulares escolhidas são aderentes, foram adicionados 2 mL de uma solução de tripsina a 0,25% (Gibco, EUA) para desprender as células da superfície das garrafas de cultivo e, logo após, estas foram incubadas por 5 minutos na incubadora. Decorrido esse período, as células soltas foram observadas em microscópio de luz invertido (Ck 2, Olympus, JPN) e adicionados na garrafa 2 mL de meio de cultivo suplementado com o intuito de inativar a tripsina. O conteúdo da garrafa foi então transferido para um tubo tipo *falcon* de 15 mL e este levado à centrífuga (90-1, Coleman) por 3 minutos com rotação de 1000 rpm, sob temperatura ambiente. Após centrifugação, o sobrenadante foi descartado e o *pellet* de células foi ressuspensionado em 1 mL de meio de cultura suplementado para a continuação dos experimentos.

3.8.3. *Plaqueamento celular*

A determinação do número de células viáveis para a utilização nos ensaios *in vitro* consistiu na retirada de 10 µL das células anteriormente ressuspensionadas e deposição em um microtubo do tipo *ependorf* de 0,6 mL com a adição de 90 µL do corante azul de tripan a 0,4% em PBS (Sigma-Aldrich, EUA). Após ressuspender o conteúdo do *ependorf*, foram retirados 10 µL e colocados em uma câmara de Neubauer, sendo que a quantidade de células/mL foi determinada baseando-se na contagem das células nos quatro quadrantes laterais a partir da fórmula abaixo:

$$\text{Número de células em 1 mL} = \frac{\text{Número de células contadas}}{\text{Número de quadrantes contados}} \times \text{Fator de diluição} \times 10^4 \quad (2)$$

Após a contagem foi realizado o plaqueamento das células em microplacas de 96 poços com a disposição de 200 µL do meio de cultivo contendo as células A431, A549

ou HaCaT na densidade de 1×10^4 células/poço, enquanto para os fibroblastos o plaqueamento foi de 5×10^3 células/poço. As placas foram colocadas na incubadora por 24 horas para aderências das células nos poços.

Decorrido esse tempo, o meio de cultivo foi descartado dos poços e estes lavados com PBS. Em seguida, de acordo com o planejamento experimental, as células foram tratadas com 200 μL das amostras de AgNPs-PC, AgNPs-PS ou AgNO_3 (nas concentrações de 2, 4, 6, 8, 10 e 20 $\mu\text{g/mL}$) ou dos extratos vegetais (nas concentrações de 200, 400, 600, 800, 1000 e 2000 $\mu\text{g/mL}$), previamente diluídos em meio de cultivo suplementado. O controle negativo foi preparado apenas com meio de cultivo, sem qualquer tratamento. As placas eram então novamente incubadas por 24 horas para avaliação da possível citotoxicidade das amostras.

3.8.4. Ensaio de viabilidade celular pelo método de MTT

Após 24 horas de exposição, o conteúdo dos poços foi descartado e em seguida estes foram lavados com PBS para em seguida, após descartá-lo, serem adicionados em cada poço 150 μL de uma solução de MTT (brometo de 3-(4,5-dimetil-2-tiazolil)-2,5-difenil-2H-tetrazólio) a 10% (0,5 mg/mL) (Invitrogen, EUA) em meio de cultivo suplementado (15 μL de MTT diluídos em 135 μL de meio de cultivo). Novamente as placas foram levadas à incubadora de células, dessa vez cobertas com papel alumínio, onde permaneceram em repouso por duas horas. Em seguida, o MTT foi retirado dos poços e substituído por 150 μL de dimetilsulfóxido (DMSO) (Dinâmica, Brasil) para dissolver os cristais de formazan que, durante o tempo de incubação com o MTT, foram formados. O conteúdo dos poços foi homogeneizado e após cinco minutos a absorbância mensurada a 595 nm em um espectrofotômetro conjugado a uma leitora de microplacas (Multiskan FC, Thermo Scientific).

Foram realizados, para cada linhagem celular, três experimentos independentes, com repetições em quadruplicata por concentração para cada amostra. Os resultados obtidos foram expressos como porcentagem de viabilidade celular (%) com base nos valores de absorbância corrigidos pelo controle (poços com meio DMEM suplementado, sem nenhum tratamento, com viabilidade celular definida em 100%) e apresentados como a média \pm desvio padrão da média. A fórmula abaixo foi utilizada para o cálculo de viabilidade celular no presente estudo:

$$\% \text{ de viabilidade celular} = \left(\frac{\text{Absorbância da amostra}}{\text{Absorbância do controle}} \right) \times 100 \quad (3)$$

3.9. Atividade larvívica e pupívica

Nesses ensaios, o extrato aquoso utilizado foi o proveniente do folíolo 2 de *Paullinia cupana* coletado no período seco e preparado por decocção, conforme descrito na Tabela 3 do tópico “Material e Métodos”. Por sua vez, as AgNPs-PS sintetizadas com o extrato aquoso citado acima foi a amostra utilizada nos ensaios. Como controle positivo foi utilizada a solução aquosa de AgNO₃ a 2 mM.

3.9.1. Manutenção da colônia e criação de *Aedes aegypti*

As colônias de mosquitos de *Aedes aegypti* (cepa Rockefeller) foram mantidas, sem a exposição a qualquer inseticida, no Insetário ArboControl – Laboratório Prof. José Elias de Paula que é um anexo do Laboratório de Farmacognosia da UnB. O insetário, coordenado pelas professoras Lorena Carneiro Albernaz e Laila Salmen Espíndola, possui salas estruturadas com manutenção da umidade relativa em 70 ± 10% e temperatura a 28 ± 2 °C, além de um fotoperíodo de 12 horas claro e 12 horas escuro onde são mantidas as gaiolas dos mosquitos. Insetos adultos foram alimentados com solução de açúcar a 10% (v/v) embebida em papel filtro (Whatman, Canterbury, Reino Unido), trocado duas vezes por semana e para as fêmeas ainda era disponibilizado, por meio de um alimentador artificial, sangue equino fornecido pelo Hospital Veterinário de Brasília (HVET) três vezes por semana para a produção e maturação dos ovos.

A eclosão dos ovos aconteceu com o auxílio de uma câmara a vácuo e as larvas eclodidas foram transferidas para bandejas de plástico contendo água da torneira e alimentadas todos os dias com 0,5 gramas de ração de peixe. Após a transformação em pupas, estas foram separadas em machos e fêmeas utilizando um microscópio óptico (Leica M205 FA, EUA) e para a montagem das gaiolas foi utilizada a proporção 1:3 de machos e fêmeas, respectivamente. Por fim, os ovos não utilizados nos experimentos eram coletados para serem utilizados em novas eclosões e manutenção de colônias.

3.9.2. Avaliação da atividade larvívica

Os ensaios larvívicos foram realizados de acordo com as recomendações das diretrizes da OMS (*World Health Organization* – WHO, 2005), com modificações. Inicialmente, 25 larvas do terceiro estágio de desenvolvimento (L3) com idades entre 72 e 96 horas foram transferidas para copos de plástico de 500 mL contendo diferentes concentrações das AgNPs-PS ou do AgNO₃ (na faixa entre 0,1 – 20 µg/mL) ou ainda do extrato vegetal (na faixa entre 200 – 2000 µg/mL), sendo que o volume final foi

completado até 120 mL/copo com água da torneira a fim de obter uma coluna de água de 5 cm. A mortalidade (%) foi avaliada e registrada após 24, 48 e 72 horas de exposição às diferentes amostras, sendo consideradas não vivas as larvas que não se movimentavam e/ou não reagiam a estímulos após leve agitação do copo. Como controle negativo foi utilizada apenas água da torneira no mesmo volume dos copos com as amostras-teste. Foram realizados quatro experimentos independentes em quadruplicata por amostra testada, cada um utilizando lotes diferentes de larvas.

3.9.3. Avaliação da atividade pupicida

Os ensaios pupicidas foram realizados de acordo com os protocolos experimentais desenvolvidos pela equipe do Insetário ArboControl. Neles, 10 pupas recém-transformadas e com no máximo um dia de vida foram transferidas para copos de plástico de 50 mL, recobertos com uma tela fina. Em cada copo foram adicionadas diferentes concentrações das AgNPs-PS ou AgNO₃ (na faixa entre 0,156 – 30 µg/mL), sendo que o volume final foi completado até 20 mL/copo com água da torneira. A mortalidade (%) foi avaliada e registrada após 24 e 48 horas de exposição às amostras (tempo limite para que as pupas do controle não se transformassem em mosquito), sendo consideradas não vivas as pupas que não se movimentavam e/ou não reagiam a estímulos após leve agitação do copo. Como controle negativo foi utilizada apenas água da torneira no mesmo volume dos copos com as amostras-teste. Foram realizados quatro experimentos independentes em quadruplicata por amostra testada, cada um utilizando lotes diferentes de pupas.

3.10. Atividade catalítica

Os experimentos catalíticos foram realizados no Laboratório de Espectroscopia Óptica do Instituto de Física da UnB em um espectrofotômetro UV/Vis (UV-2600, Shimadzu). Todas as soluções e misturas reacionais utilizadas nessa etapa da pesquisa foram incubadas, à temperatura ambiente (25 °C), sob o abrigo de luz direta.

As AgNPs foram testadas na remoção de corantes orgânicos que causam poluição ambiental. Neste trabalho foi utilizado o corante azul de metileno (AM) ($\lambda=664$ nm) (Dinâmica, Brasil), seguindo a metodologia proposta por Vijayan, Joseph e Mathew (2019), com modificações. Foram utilizadas soluções de 2,5 mL do corante (0,08 mM), acrescidas de 0,5 mL do substrato borohidreto de sódio (NaBH₄) (60 mM) (Alphatec, Brasil), ambas recém preparadas em água ultrapura. Em seguida, 0,5 mL das suspensões de AgNPs-PC ou AgNPs-PS (100 µg/mL) foram adicionados e as reações

de degradação foram acompanhadas por meio de leituras das absorvâncias obtidas pelos espectros de UV-Vis na faixa de 200 a 800 nm em intervalos de 5 minutos. A partir do tempo de contato entre os nanocatalisadores com o corante e substrato, há o processo de descoloração das misturas reacionais e o término das reações definido pelo aspecto transparente das soluções e a diminuição da intensidade das bandas de absorção características do corante.

Adicionalmente, a redução catalítica do corante laranja de metila (LM) ($\lambda = 464$ nm) (Dinâmica, Brasil) foi realizada a partir da mistura de 2,5 mL do corante orgânico (0,08 mM) com 0,5 mL de NaBH₄ (60 mM), ambas soluções recém-preparadas em água ultrapura, de acordo com Paramesh *et al.* (2021), com alterações. Em seguida, 20 μ L dos nanocatalisadores AgNPs-PC e AgNPs-PS (20 μ g/mL) foram adicionados às misturas e logo após iniciados os registros das absorvâncias obtidas pelos espectros de UV-Vis na faixa de 200 a 700 nm com leituras em intervalos de 2 minutos a fim de avaliar o progresso nas reações de degradação ao longo do tempo que eram concluídas a partir do momento em que a cor se tornava menos intensa e a banda de absorção característica do corante diminuía de intensidade.

Com os dados de absorvância obtidos em cada tempo de leitura, estimativas da porcentagem de degradação de cada poluente foram realizadas de acordo com a equação 4 e as cinéticas químicas das reações de cada corante foram obtidas por meio de três modelos cinéticos: ordem zero, 1ª ordem e 2ª ordem conforme as equações 5, 6 e 7, respectivamente (Alamier *et al.*, 2022; Srećković *et al.*, 2023).

$$\% \text{ de degradação} = \frac{(A_0 - A_t)}{A_0} \times 100 \quad (4)$$

$$A_0 - A_t = kt \quad (5)$$

$$\ln\left(\frac{A_t}{A_0}\right) = -kt \quad (6)$$

$$\frac{1}{A_t} - \frac{1}{A_0} = kt \quad (7)$$

Onde k é a constante da taxa de velocidade da reação, t é o tempo final de reação, A_0 é a absorvância inicial dos poluentes no tempo igual a 0 e A_t é a absorvância dos poluentes no tempo t . Sendo A_0 e A_t as absorvâncias a 664 e 464 nm para o AM e LM, respectivamente, no tempo zero e nos referidos intervalos de leitura em UV/Vis durante cada reação.

A partir das curvas construídas por meio de regressão linear foram definidos os valores de k , assim como os coeficientes de correlação (R^2) e com isso foi escolhido o

modelo cinético mais apropriado para cada reação envolvendo as AgNPs, o substrato e os poluentes testados.

3.11. Análises estatísticas

As análises estatísticas dos dados quantitativos obtidos a partir da caracterização coloidal das AgNPs após as leituras por espalhamento de luz dinâmico e potencial Zeta de superfície foram realizadas pelo teste One-Way ANOVA, seguido pelo teste de Tukey, com nível de significância de 95% ($p < 0,05$) utilizando o programa estatístico *GraphPrism 8 (GraphPad software, EUA)*.

Os valores de IC_{50} nos ensaios de atividade antioxidante e anticâncer, além dos dados de concentração letal 50% (CL_{50}) e concentração letal 90% (CL_{90}) nos testes de ação inseticida foram determinados por regressão não linear com quatro parâmetros, com base nos gráficos de análise logarítmica normalizada (*normalize response-variable slope*). Nesses ensaios, as possíveis diferenças estatísticas entre os grupos experimentais foram baseadas no teste One-Way ANOVA (larvicida e pupicida) ou Two-Way ANOVA (antioxidantes e anticâncer), seguidos do teste de Tukey com nível de significância de 95% ($p < 0,05$). Em todas essas análises foi utilizado o programa estatístico *GraphPrism 8 (GraphPad software, EUA)*.

CAPÍTULO I – Prospecção e caracterização do material botânico vegetal de *Paullinia cupana* para a síntese verde de AgNPs

1. OBJETIVOS DO CAPÍTULO I

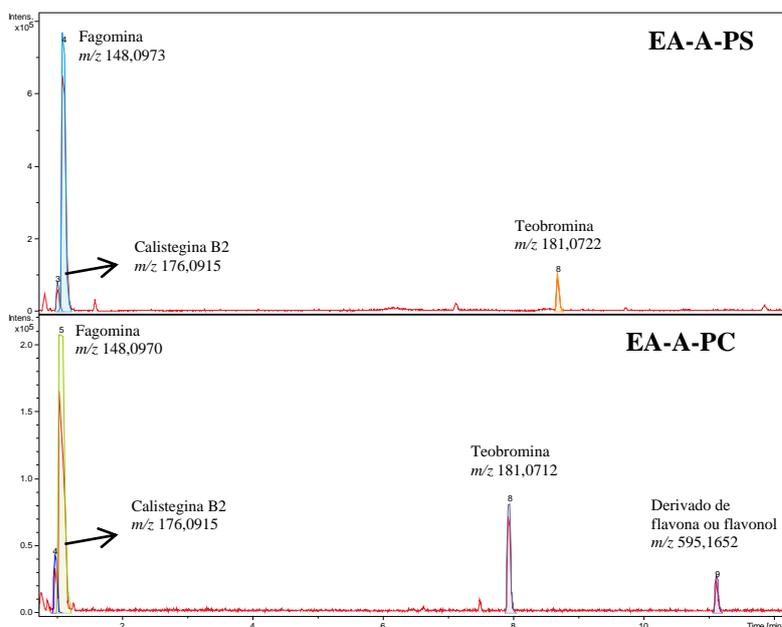
- Caracterizar os compostos fitoquímicos (moléculas e/ou classes) presentes nos extratos aquosos vegetais por Cromatografia Líquida de Ultra Eficiência acoplada à Espectrometria de Massas de Alta Resolução (UHPLC-HRMS/MS), além de determinar o teor de compostos fenólicos e potencial antioxidante em cada um deles;
- Biossintetizar AgNPs utilizando extratos aquosos das folhas e das flores de *Paullinia cupana* coletadas em períodos sazonais distintos (período seco e período chuvoso);
- Avaliar diferentes métodos de preparação dos extratos aquosos de guaraná empregados na síntese verde de AgNPs;
- Caracterizar as AgNPs por meio de aspectos visuais das colorações das misturas reacionais e por técnicas visando à determinação dos perfis de Ressonância Plasmônica de Superfície (RPS) (análise espectrofotométrica por Ultravioleta Visível – UV/Vis); diâmetro hidrodinâmico e índice de polidispersividade (espalhamento de luz dinâmico, do inglês *Dynamic Light Scattering* – DLS); potencial Zeta (mobilidade eletroforética); diâmetro hidrodinâmico e concentração das nanopartículas (Análise de Rastreamento de Nanopartículas – ARN); diâmetro seco e morfologia (Microscopia Eletrônica de Transmissão – MET); composição elementar (Espectroscopia por Energia Dispersiva de raios X – EED);
- Testar a atividade antibacteriana *in vitro* das AgNPs.

2. RESULTADOS E DISCUSSÃO

2.1. Caracterização dos extratos aquosos por UHPLC-HRMS/MS

A cromatografia líquida de ultra eficiência (UHPLC) acoplada a espectrometria de massas de alta resolução (HRMS/MS) equipada com uma fonte de ionização por *electrospray* nos modos positivo (ESI(+)-MS) e negativo (ESI(-)-MS) é uma técnica que unifica a capacidade de separação de amostras complexas via sistema UHPLC com a sensibilidade de diferenciação de massas via detector HRMS e tem sido amplamente utilizada na identificação rápida e precisa de estruturas e padrões de fragmentação de biomoléculas presentes em diversos tipos de amostras, por exemplo, os extratos vegetais (Vargas *et al.*, 2016; Ma *et al.*, 2022). Nesse estudo, após a ionização ser realizada, os íons resultantes são separados, detectados em relação à sua razão massa/carga (m/z) e a partir de ferramentas *in silico* são realizadas fragmentações das biomoléculas candidatas presentes nos extratos analisados.

A Figura I-1 apresenta os cromatogramas do tipo *Base Peak Chromatogram* (BPC) obtidos por UHPLC e a indicação dos íons mais intensos destacados pela relação massa/carga (m/z) obtida por meio dos espectros de massas em modo positivo de ionização (ESI(+)-MS) com o tempo de retenção (t_R) de cada composto candidato, enquanto que o Apêndice 3 mostra, por meio dos espectros de massas, o perfil de fragmentação das moléculas identificadas nos extratos vegetais analisados.



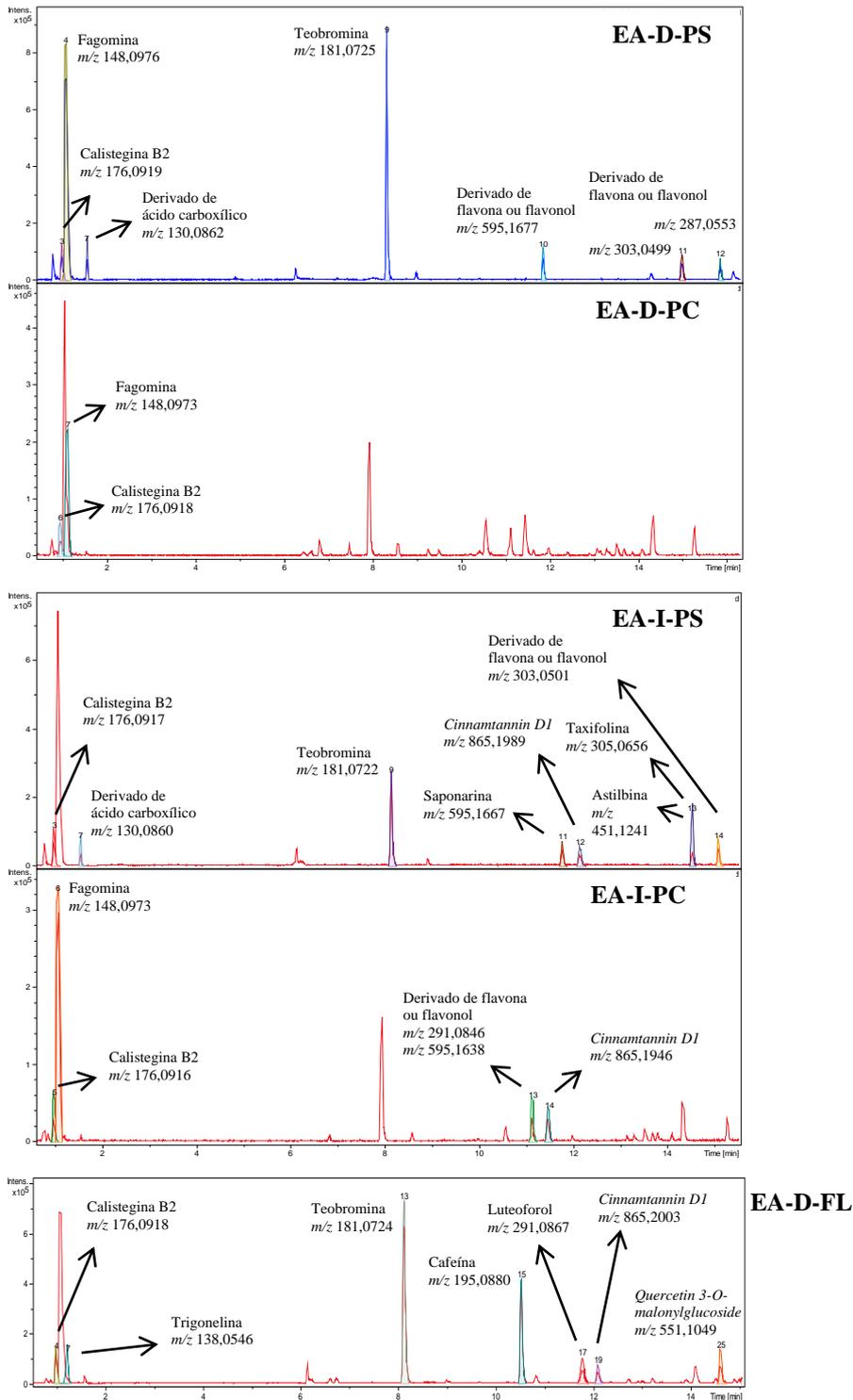


Figura I-1. UHPLC dos extratos aquosos de *Paullinia cupana* demonstrando os compostos eluídos e suas respectivas relações massa/carga (m/z) definidas pelos espectros de massas por meio do modo positivo de ionização ESI(+)-MS. EA-A-PS: extrato aquoso do folíolo 2 coletado no período seco preparado por agitação; EA-A-PC: extrato aquoso do folíolo 3 coletado no período chuvoso preparado por agitação; EA-D-PS: extrato aquoso do folíolo 2 coletado no período seco preparado por decocção; EA-D-PC: extrato aquoso do folíolo 3 coletado no período chuvoso preparado por decocção; EA-I-PS: extrato aquoso do folíolo 2 coletado no período seco preparado por infusão; EA-I-PC: extrato aquoso do folíolo 1 coletado no período chuvoso preparado por infusão; EA-D-FL: extrato aquoso de flores coletadas no período seco preparado por decocção.

Os cromatogramas acima demonstram o perfil dos compostos que foram identificados por meio do modo ESI(+)-MS. Um total de 11 compostos foram distinguidos por meio da técnica de caracterização aplicada com posterior consulta aos bancos de dados e, de acordo com os cromatogramas obtidos, algumas biomoléculas foram consideradas como referência nos extratos de *Paullinia cupana* analisados nesse estudo pelo modo positivo de ionização uma vez que foram encontradas de maneira recorrente nos extratos aquosos dos folíolos da planta.

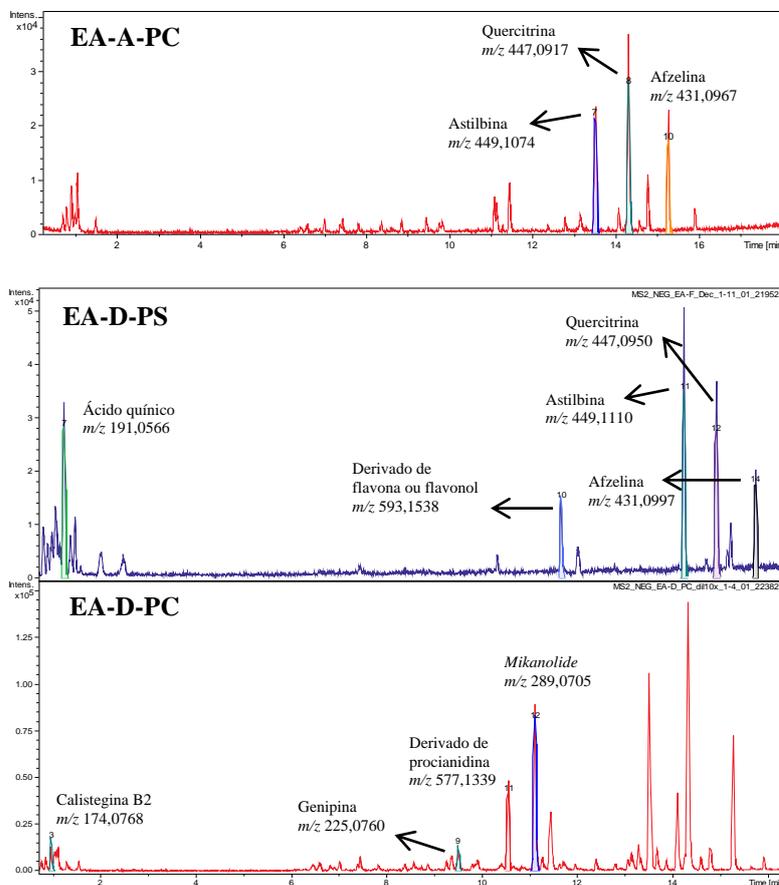
O alcaloide calistegina B2 (m/z 176) foi identificado em todos os extratos dos folíolos do período seco e do período chuvoso, independente do modo de preparação empregado. Outro metabólito detectado que apresentou picos intensos e bem aparentes, além de tempos de retenção curtos, foi a fagomina (m/z 148) presente em todos os extratos dos folíolos do período chuvoso e no EA-A-PS e EA-D-PS. A teobromina (m/z 181), alcaloide derivado do grupo das metilxantinas e que são descritos como compostos de alto teor na planta de guaraná, nesse estudo apresentou t_R entre 7,9 e 8,6 minutos em todos os extratos dos folíolos do período seco, além de também estar presente no EA-A-PC.

Algumas biomoléculas pertencentes à classe dos flavonoides também tiveram a ocorrência relatada nos extratos aquosos de folíolos de guaraná, principalmente por infusão, são elas: a taxifolina (m/z 305), a astilbina (m/z 451) e a saponarina (m/z 595). Adicionalmente, o composto *cinnamtannin D1*, um tipo de proantocianidina (m/z 865) e uma molécula derivada do ácido carboxílico da piperidina, com íon precursor em m/z 130, também foram identificados nos extratos aquosos preparados com os folíolos da planta. Esses resultados mostram que apenas ao alterar o método de preparação do extrato aquoso dos folíolos da planta, distintos compostos podem ser identificados e, por consequência, estar envolvidos na síntese verde das AgNPs.

O cromatograma do EA-D-FL no modo positivo de ionização revelou alguns compostos que também foram observados nos extratos preparados por folíolos, mas evidencia ainda a presença da cafeína (m/z 195; t_R = 10,535 minutos) como um dos compostos principais. Essa molécula já foi extensivamente identificada em extratos de diferentes partes vegetais de *Paullinia cupana* e é um constituinte ativo responsável por diversas propriedades biológicas nesta planta (Marques *et al.*, 2019; Santana; Macedo, 2018). No extrato das flores foi também revelada a ocorrência do alcaloide trigonelina (m/z 138) e dos flavonoides luteoforol (m/z 291) e quercetina (m/z 551) que não foram encontrados nos extratos aquosos dos folíolos de guaraná no modo de ionização

positivo. Recentemente, De Oliveira *et al.* (2024) descreveram a presença de teobromina, cafeína, quercetina, quercitrina, entre outros compostos bioativos no extrato de flores de guaraná coletadas no mesmo ano e na mesma região geográfica dos materiais vegetais do presente estudo.

Os cromatogramas do tipo *Base Peak Chromatogram* (BPC) obtidos por UHPLC e a indicação dos íons mais intensos destacados pela relação massa/carga (m/z) obtida por meio dos espectros de massas em modo negativo de ionização (ESI(-)-MS) com o tempo de retenção (t_R) de cada composto candidato são mostrados na Figura I-2 e no Apêndice 4 são apresentados os perfis de fragmentação das moléculas obtidos por meio de análises dos espectro de massas.



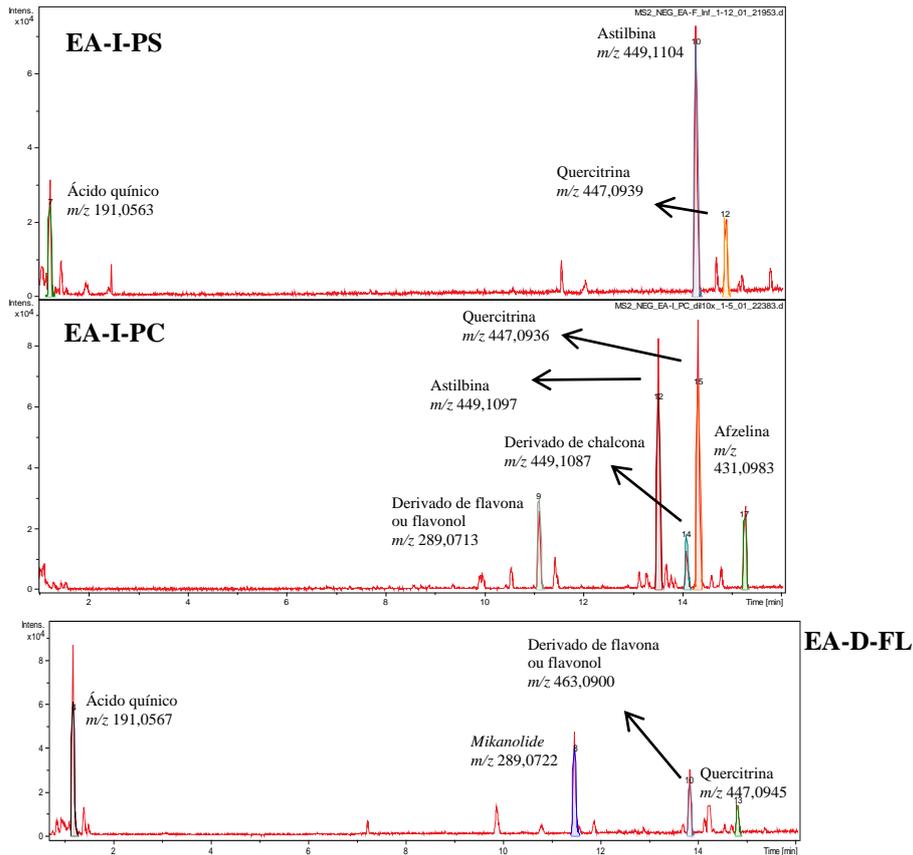


Figura I-2. UHPLC dos extratos aquosos de *Paullinia cupana* demonstrando os compostos eluídos e suas respectivas relações massa/carga (m/z) definidas pelos espectros de massas por meio do modo negativo de ionização ESI(-)-MS. EA-A-PC: extrato aquoso do folíolo 3 coletado no período chuvoso preparado por agitação; EA-D-PS: extrato aquoso do folíolo 2 coletado no período seco preparado por decocção; EA-D-PC: extrato aquoso do folíolo 3 coletado no período chuvoso preparado por decocção; EA-I-PS: extrato aquoso do folíolo 2 coletado no período seco preparado por infusão; EA-I-PC: extrato aquoso do folíolo 1 coletado no período chuvoso preparado por infusão; EA-D-FL: extrato aquoso de flores coletadas no período seco preparado por decocção.

Mesmo sem nenhum composto sendo identificado no EA-A-PS, foi possível elucidar a presença de pelo menos sete compostos diferentes ao aplicar o modo ESI(-)-MS. É possível observar que existem biomoléculas identificadas em quase todos os cromatogramas, independente do período de coleta e da parte da planta, que podem ser tratadas como referência nos extratos de *Paullinia cupana* preparados pelos diferentes métodos abordados no presente estudo ao utilizar o modo negativo de ionização. Nesse sentido, com picos na maioria dos cromatogramas dos folíolos de guaraná coletados em ambos os períodos sazonais, destacam-se os flavonoides afzelina (m/z 431), astilbina (m/z 449) e quercitrina (m/z 447) com tempos de t_R acima de 13 minutos e ainda o ácido quínico (m/z 191), um ciclitol, que se apresentou rapidamente eluído ($t_R < 1$ minuto) nos extratos de folíolos e flores do período seco. Ressalta-se que o ácido quínico também foi

identificado no EA-D-FL com relação m/z de 191 e t_R de 1,218 minutos, assim como a quercitrina com relação m/z de 447 e t_R 14,823 minutos.

No EA-D-PC foram identificados o alcaloide calistegina B2 (m/z 174), o monoterpeneo genipina (m/z 225) e o sesquiterpeneo *mikanolide* (m/z 289) que também foi encontrado no cromatograma referente ao EA-D-FL. Além disso, uma molécula derivada das procianidinas do tipo B (m/z 577; t_R = 10,5 minutos) e um metabólito derivado das chalconas (m/z 449,1087; t_R = 14 minutos) foram relatados no EA-D-PC e no EA-I-PC, respectivamente. Com isso, é possível notar uma maior diversidade de metabólitos secundários extraídos de diferentes partes vegetais de *Paullinia cupana* ao empregar a temperatura no momento da extração, reforçando a importância da investigação dos métodos de preparação de extratos vegetais e da variação do período sazonal na identificação dos compostos fitoquímicos.

A partir dos resultados acima é possível perceber que avaliar a composição fitoquímica de extratos vegetais incorporando dois modos de ionização à técnica de UHPLC-HRMS/MS favorece que um conjunto maior de biomoléculas possa ser identificado uma vez que a detecção dos compostos leva em consideração a massa molecular, a classe biológica e o tempo de retenção (Moldoveanu *et al.*, 2013). A Figura I-3 destaca as estruturas químicas dos componentes fitoquímicos encontrados nos extratos aquosos das partes vegetais de *Paullinia cupana* coletadas em períodos sazonais distintos. Adicionalmente, a quantidade de biomoléculas identificadas nas partes da planta coletadas no período seco foi maior que àquela resultante dos extratos preparados por materiais vegetais coletados no período chuvoso, sendo que a explicação para esse fato precisa ser investigada. Corroborando com o exposto por Silveira (2019), alguns compostos fitoquímicos presentes nas plantas não são identificados pelas técnicas abordadas devido sua baixa ou nenhuma solubilidade em água e nesse estudo esse foi o solvente utilizado durante as extrações.

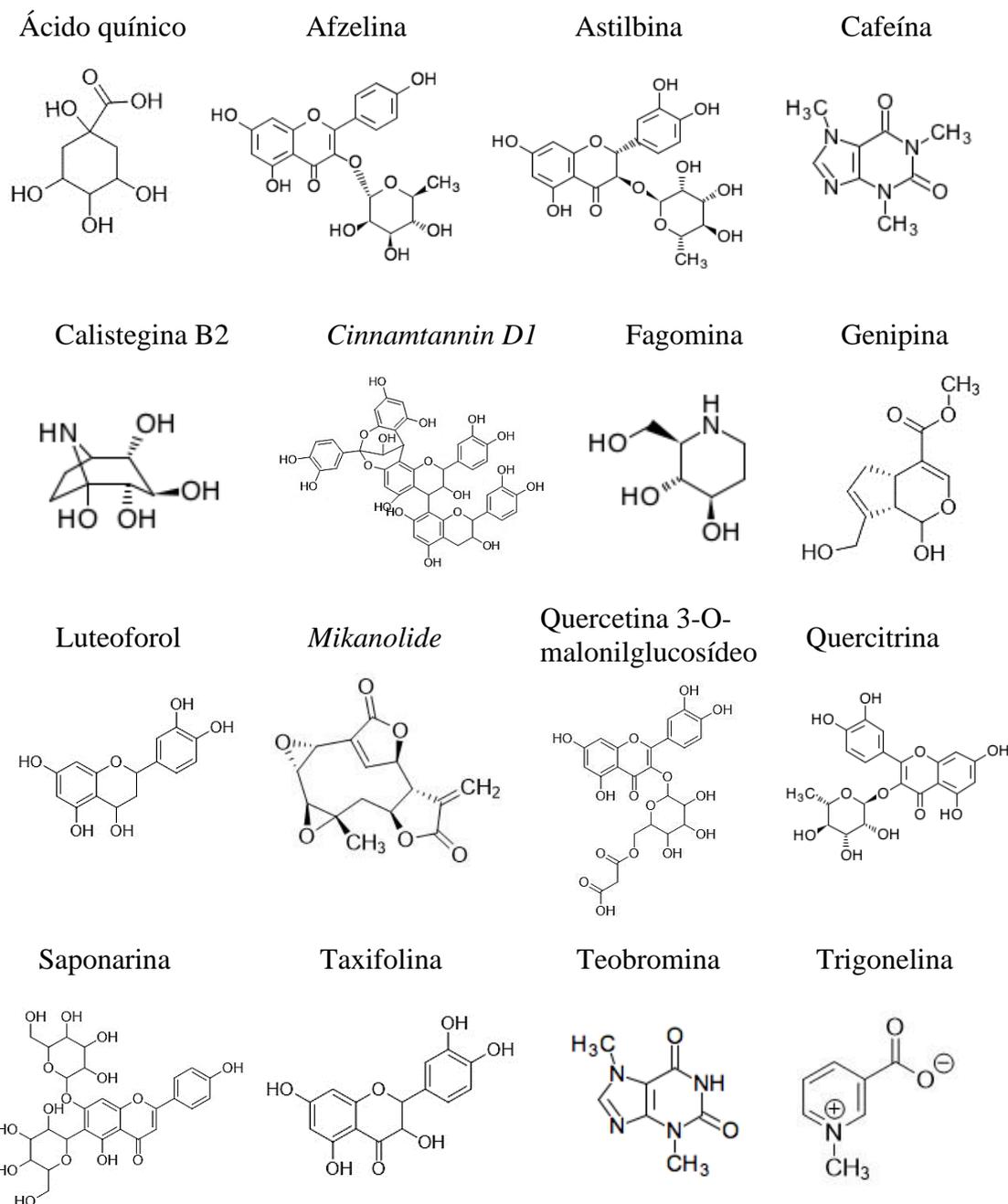


Figura I-3. Fórmulas estruturais das biomoléculas identificadas nos extratos de folíolos e flores de *Paullinia cupana* coletados no período seco e chuvoso. Fonte: O autor.

Os alcaloides foram uma das classes predominantes identificadas nos extratos aquosos de *Paullinia cupana* por meio da presença recorrente do ácido quínico, fagomina, calistegina B2, teobromina e a cafeína. Algumas dessas moléculas, como a cafeína e a teobromina, são produtos naturais derivados do grupo das metilxantinas e amplamente utilizadas comercialmente devido à sua ação estimulante, principalmente, no sistema nervoso central, fazendo parte de diversas preparações médicas e fornecendo benefícios nutracêuticos e energéticos (Lüde *et al.*, 2016; Peixoto *et al.*, 2017; Schimpl

et al., 2014). Estudos relatam possíveis influências desses compostos na biorredução de íons metálicos, como por exemplo a prata, entre eles o de Gröning *et al.* (2001) onde foi sugerido que a cafeína e uma molécula estruturalmente associada, a teofilina, podem desencadear processos de biorredução com posterior síntese de AgNPs e, recentemente Nogueira (2022) propôs que a cafeína presente no extrato aquoso de resíduos da semente de *Paullinia cupana* atua como possível composto majoritário na síntese de AgNPs biogênicas.

Adicionalmente, os flavonoides afzelina, astilbina e quercitrina foram algumas das biomoléculas mais relatadas nos extratos aquosos estudados. Esse grupo de metabólitos secundários são compostos polifenólicos de origem natural que têm papéis importantes para as plantas porque participam de respostas a estresses bióticos e abióticos e muita atenção tem sido dada às suas propriedades quelantes e antioxidantes (Kachlicki *et al.*, 2016). Um dos possíveis mecanismos envolvidos na síntese verde de AgNPs utilizando esses compostos naturais como agentes redutores dos íons Ag^+ para Ag^0 é descrito a partir da participação de hidroxilas (-OH) presentes em compostos polifenólicos de moléculas pertencentes à classe dos flavonoides (flavanonas, flavanóis, flavonol) que liberam o hidrogênio para reagir por meio de quelação com o metal dissociado (Oluwaniyi *et al.*, 2016; Shaikh; Chakraborty; Islam, 2020). Esse mecanismo já foi anteriormente descrito ou demonstrado na síntese biogênica utilizando os flavonoides quercetina e quercitrina como principais responsáveis pela síntese de AgNPs estáveis e com baixo diâmetro, além de propriedades biológicas específicas (Bose; Chatterjee, 2016; Gecer; Erenler, 2023; Karan *et al.*, 2024; Oliveira, 2018; Osonga *et al.*, 2016).

2.2. Quantificação de fenóis totais e atividade antioxidante

2.2.1. Fenóis totais

Os mesmos extratos preparados com folíolos e flores de guaraná e citados no tópico anterior foram avaliados quanto ao Conteúdo de Fenóis Totais (CFT) pelo método de Folin-Ciocalteu logo após a sua preparação e para isso foi construída uma curva de calibração utilizando o ácido gálico como padrão (APÊNDICE 5).

Como demonstrado anteriormente pela técnica de UHPLC-HRMS/MS, diversas biomoléculas presentes nos extratos vegetais de *Paullinia cupana* pertencem a grupos derivados dos compostos fenólicos que, por sua vez, têm papel reconhecido como agentes de biorredução e estabilização de AgNPs por meio de processos de ligação e

queação com os íons Ag^+ (Nasrollahzadeh *et al.*, 2019; Ovais *et al.*, 2021). Nas plantas, esses compostos são importantes na defesa contra estresses de qualquer natureza e seus teores podem estar relacionados à origem geográfica, sazonalidade, parte da planta, métodos de cultivo e com as formas analíticas empregadas durante a extração (Da Silva *et al.*, 2016; Da Silva *et al.*, 2017).

O CFT estimado para cada extrato aquoso das partes vegetais de guaraná preparados por diferentes métodos está descrito na Tabela I-1.

Tabela I-1. Quantificação dos teores de compostos fenólicos presentes nos extratos aquosos de *Paullinia cupana*.

Extratos	Compostos fenólicos totais ($\mu\text{gEAG/gEA}$)
EA-A-PS	120,5 \pm 0,037
EA-D-PS	437,5 \pm 0,093
EA-I-PS	203,5 \pm 0,064
EA-D-FL	646,8 \pm 0,165
EA-A-PC	237,0 \pm 0,052
EA-D-PC	728,4 \pm 0,087
EA-I-PC	281,4 \pm 0,041

Os valores estão representados como média \pm desvio padrão da média de experimentos em triplicata.

EA-A-PS: extrato aquoso do folíolo 2 coletado no período seco preparado por agitação; EA-A-PC: extrato aquoso do folíolo 3 coletado no período chuvoso preparado por agitação; EA-D-PS: extrato aquoso do folíolo 2 coletado no período seco preparado por decocção; EA-D-PC: extrato aquoso do folíolo 3 coletado no período chuvoso preparado por decocção; EA-I-PS: extrato aquoso do folíolo 2 coletado no período seco preparado por infusão; EA-I-PC: extrato aquoso do folíolo 1 coletado no período chuvoso preparado por infusão; EA-D-FL: extrato aquoso de flores coletadas no período seco preparado por decocção.

De acordo com os resultados apresentados, pode-se observar que os extratos preparados por folíolos do período chuvoso comparados aos extratos do período seco apresentam maior teor de compostos fenólicos, destacando-se o EA-D-PC com 728,4 $\mu\text{gEAG/gEA}$. Esse mesmo método de preparação do extrato no período seco (EA-D-PS) também foi o que resultou na maior concentração de compostos fenólicos, com 437,5 $\mu\text{gEAG/gEA}$ e nesse mesmo período sazonal o EA-D-FL teve uma concentração ainda mais elevada de fenóis (646,8 $\mu\text{gEAG/gEA}$). Para ambos os períodos de coleta, o teor de fenóis totais foi maior nos extratos obtidos por decocção, seguido por infusão e depois por agitação, o que pode indicar uma sequência de técnicas mais satisfatórias quanto à extração de compostos fenólicos de *Paullinia cupana*.

Os resultados alcançados são pioneiros na quantificação dessa composição fitoquímica a partir de extratos de folíolos e flores de guaraná coletados em períodos

sazonais diferentes e obtidos por vários métodos de preparação. Outras pesquisas mostraram a determinação desse conteúdo fenólico em extratos de guaraná, no entanto, ela é realizada principalmente em extratos do pó das sementes, com valores de 104,36 mgEAG/gEA (Figueira, 2021), 128,64 mgEAG/gEA (Antunes, 2011) e 151,8 mgEAG/gEA (Yonekura *et al.*, 2016).

Em relação aos métodos de preparação dos extratos aquosos, o uso de agitação magnética já foi previamente relatado por Martins (2010) com teor de compostos fenólicos de 46,74 mgEAG/gEA, Bonilla e Sobral (2017) quantificando 139 mgEAG/gEA e Kuskoski *et al.* (2012) com teor de fenóis de 87,3 mgEAG/gEA, após duas, quatro e 24 horas de agitação, respectivamente, a partir de análises realizadas com o pó da semente de guaraná. Com os extratos preparados por decocção sob temperatura de 60 °C, Silva *et al.* (2019) alcançaram conteúdo de fenóis de 434 mgEAG/gEA e a 100 °C a extração de compostos fenólicos resultou em cerca de 119 mgEAG/gEA, conforme relatado por Majhenič, Škerget e Knez (2007).

É de fundamental importância relatar que na maioria dos estudos citados os extratos vegetais são preparados com a utilização de solventes orgânicos como a acetona, o etanol e o metanol uma vez que, corroborando com pesquisas anteriores, há indícios de baixa ou nenhuma solubilidade de compostos fenólicos em água (Yilmaz; Toledo, 2006; Przygodzka *et al.*, 2014). Esse fator é importante de ser ressaltado uma vez que no presente estudo todos os extratos de guaraná foram preparados em água e, com isso, a etapa de utilização de solventes orgânicos durante a preparação dos extratos, os quais apresentam maior potencial de toxicidade ao processo, pôde ser dispensada, agregando ainda mais valor ao estudo realizado.

2.2.2. DPPH

Os resultados do potencial antioxidante de sequestro do radical DPPH foram obtidos a partir da equação da reta junto à curva padrão do ácido gálico mostrada no Apêndice 6. O DPPH é um radical livre orgânico bastante utilizado como indicador de atividade antioxidante em extratos vegetais e o ensaio se baseia no mecanismo de transferência de elétrons, onde as substâncias que doam átomos de hidrogênio são consideradas antioxidantes e o DPPH, que é o aceptor, se torna reduzido. A cor da mistura se altera de roxo para amarela quanto maior for o potencial antioxidante das amostras (Yarrappagaari *et al.*, 2020).

Os valores da atividade antioxidante dos extratos das partes vegetais de *Paullinia cupana* obtidos pelo método de sequestro do DPPH estão resumidos na Tabela I-2.

Tabela I-2. Atividade antioxidante dos extratos aquosos de *Paullinia cupana* pelo método de sequestro do radical DPPH.

Extratos	DPPH ($\mu\text{gEAG/gEA}$)
EA-A-PS	$23,43 \pm 0,061$
EA-D-PS	$40,57 \pm 0,038$
EA-I-PS	$34,38 \pm 0,049$
EA-D-FL	$40,37 \pm 0,008$
EA-A-PC	$29,48 \pm 0,042$
EA-D-PC	$41,72 \pm 0,023$
EA-I-PC	$31,11 \pm 0,039$

Os valores estão representados como média \pm desvio padrão da média de experimentos em triplicata. EA-A-PS: extrato aquoso do folíolo 2 coletado no período seco preparado por agitação; EA-A-PC: extrato aquoso do folíolo 3 coletado no período chuvoso preparado por agitação; EA-D-PS: extrato aquoso do folíolo 2 coletado no período seco preparado por decocção; EA-D-PC: extrato aquoso do folíolo 3 coletado no período chuvoso preparado por decocção; EA-I-PS: extrato aquoso do folíolo 2 coletado no período seco preparado por infusão; EA-I-PC: extrato aquoso do folíolo 1 coletado no período chuvoso preparado por infusão; EA-D-FL: extrato aquoso de flores coletadas no período seco preparado por decocção.

Os reagentes utilizados como padrões em testes com extratos vegetais apresentam elevada atividade antioxidante e, com isso, a detecção de maiores teores de equivalente de ácido gálico indica maiores capacidades antioxidantes (Poljšak; Raspor, 2008). Quando comparados os extratos preparados nos dois períodos sazonais, verificou-se maior potencial antioxidante para a eliminação do radical DPPH dos extratos dos folíolos coletados no período chuvoso em relação aos extratos de folíolos do período seco. Esse potencial foi maior para os extratos preparados por decocção EA-D-PS ($40,57 \mu\text{gEAG/gEA}$) e EA-D-PC ($41,72 \mu\text{gEAG/gEA}$), similar também ao teor de atividade antioxidante do EA-D-FL, com $40,37 \mu\text{gEAG/gEA}$, sendo essas três amostras as que apresentaram maior CFT, conforme a Tabela I-1.

Silva *et al.* (2022) estimaram a capacidade antioxidante de extratos da semente e da casca de guaraná de $3218 \mu\text{M}$ equivalentes de Trolox/gEA e $22 \mu\text{M}$ equivalentes de Trolox/gEA, respectivamente. O estudo de Antunes (2011) revelou que eram necessários 118,79 gramas de casca, 66,54 gramas de semente e 24,07 gramas de pó comercial para inibir 1 g de DPPH. Bonilla e Sobral (2017) demonstraram que a quantidade de extrato da semente de guaraná necessária para reduzir o radical DPPH

variava de acordo com o tempo de incubação do extrato vegetal com o radical livre, sendo maior após 45 minutos (0,26 $\mu\text{g/mL}$) em comparação à incubação por 30 minutos (0,14 $\mu\text{g/mL}$) ou 15 minutos (0,1 $\mu\text{g/mL}$).

2.2.3. ABTS

O ABTS é uma substância sintética considerada como radical livre e vem sendo utilizada em ensaios colorimétricos para mensurar a ação antioxidante de diferentes extratos vegetais a partir de mecanismos que envolvem a transferência de elétrons e hidrogênio (Sowinska *et al.*, 2019; Thanh *et al.*, 2022). No presente estudo, o potencial antioxidante dos extratos aquosos de folíolos e flores de *Paullinia cupana* foi mensurado por meio da construção de uma curva padrão de ácido gálico (APÊNDICE 7) e os valores resultantes da atividade antioxidante estão resumidos na Tabela I-3.

Tabela I-3. Atividade antioxidante dos extratos aquosos de *Paullinia cupana* pelo método de sequestro do radical ABTS.

Extratos	ABTS ($\mu\text{gEAG/gEA}$)
EA-A-PS	13,80 \pm 0,033
EA-D-PS	19,24 \pm 0,003
EA-I-PS	17,60 \pm 0,028
EA-D-FL	19,26 \pm 0,002
EA-A-PC	15,21 \pm 0,051
EA-D-PC	19,24 \pm 0,002
EA-I-PC	17,75 \pm 0,023

Os valores estão representados como média \pm desvio padrão da média de experimentos em triplicata.

EA-A-PS: extrato aquoso do folíolo 2 coletado no período seco preparado por agitação; EA-A-PC: extrato aquoso do folíolo 3 coletado no período chuvoso preparado por agitação; EA-D-PS: extrato aquoso do folíolo 2 coletado no período seco preparado por decocção; EA-D-PC: extrato aquoso do folíolo 3 coletado no período chuvoso preparado por decocção; EA-I-PS: extrato aquoso do folíolo 2 coletado no período seco preparado por infusão; EA-I-PC: extrato aquoso do folíolo 1 coletado no período chuvoso preparado por infusão; EA-D-FL: extrato aquoso de flores coletadas no período seco preparado por decocção.

O potencial antioxidante do radical ABTS mostrou maior atividade pelos extratos aquosos por decocção (entre 19,24 \pm 0,002 e 19,26 \pm 0,002 $\mu\text{gEAG/gEA}$), infusão (entre 17,6 \pm 0,028 e 17,75 \pm 0,023 $\mu\text{gEAG/gEA}$) e agitação (entre 13,8 \pm 0,033 e 15,21 \pm 0,051 $\mu\text{gEAG/gEA}$). Além disso, em todos os extratos, esse potencial foi menor do que aqueles relatados ao utilizar o radical DPPH.

Grzesik *et al.* (2018) demonstraram que o potencial antioxidante dos metabólitos secundários catequina e epicatequina foi de 3965 e 2800 mol equivalentes de Trolox/mol, respectivamente, frente ao radical ABTS e, quando comparados aos valores

alcançados por antioxidantes padrões (glutathione e ácido ascórbico), esses valores foram superiores. Vale ressaltar que tais biomoléculas já foram relatadas previamente na composição fitoquímica de extratos de *Paullinia cupana* (Da Silva *et al.*, 2017; Machado *et al.*, 2018; Sousa, 2016) e, sendo assim, é possível inferir que as atividades antioxidantes promovidas por extratos vegetais podem ser atribuídas às diferentes biomoléculas presentes em sua composição e que atuam de maneira sinérgica aumentando suas propriedades biológicas.

Dessa forma, os resultados do presente estudo demonstram que possivelmente pode existir uma correlação direta entre os teores de compostos fenólicos e a capacidade antioxidante com os métodos de preparação por decocção, infusão e agitação, nessa ordem, independente da sazonalidade. Adicionalmente, como o sucesso da síntese verde de AgNPs depende também da extração eficiente dos compostos fitoquímicos das plantas e, mais intrinsecamente, de sua composição fenólica, propõe-se a partir dos estudos realizados até então um caminho a ser seguido no que tange às escolhas dos extratos aquosos a serem utilizados e que tenham a capacidade de sintetizar nanoestruturas com maiores rendimentos e com as características almejadas para investigações de suas bioatividades.

2.3. Análises espectrofotométricas e inspeção visual das AgNPs

2.3.1. Período seco

➤ Folíolos

A Figura I-4 mostra as curvas cinéticas de síntese das AgNPs sintetizadas a partir dos extratos aquosos preparados com os folíolos (F1 a F5) de *Paullinia cupana* coletados no período seco e seus respectivos controles experimentais avaliando a absorvância por espectroscopia de UV/Vis em comprimento de onda a 450 nm durante 180 minutos. O Apêndice 8 apresenta os registros visuais das suspensões de AgNPs após as sínteses, com ênfase na variação de coloração de acordo com o método de preparação empregado, sendo mais intensas para as AgNPs sintetizadas por extratos preparados por decocção (AgNPs-D).

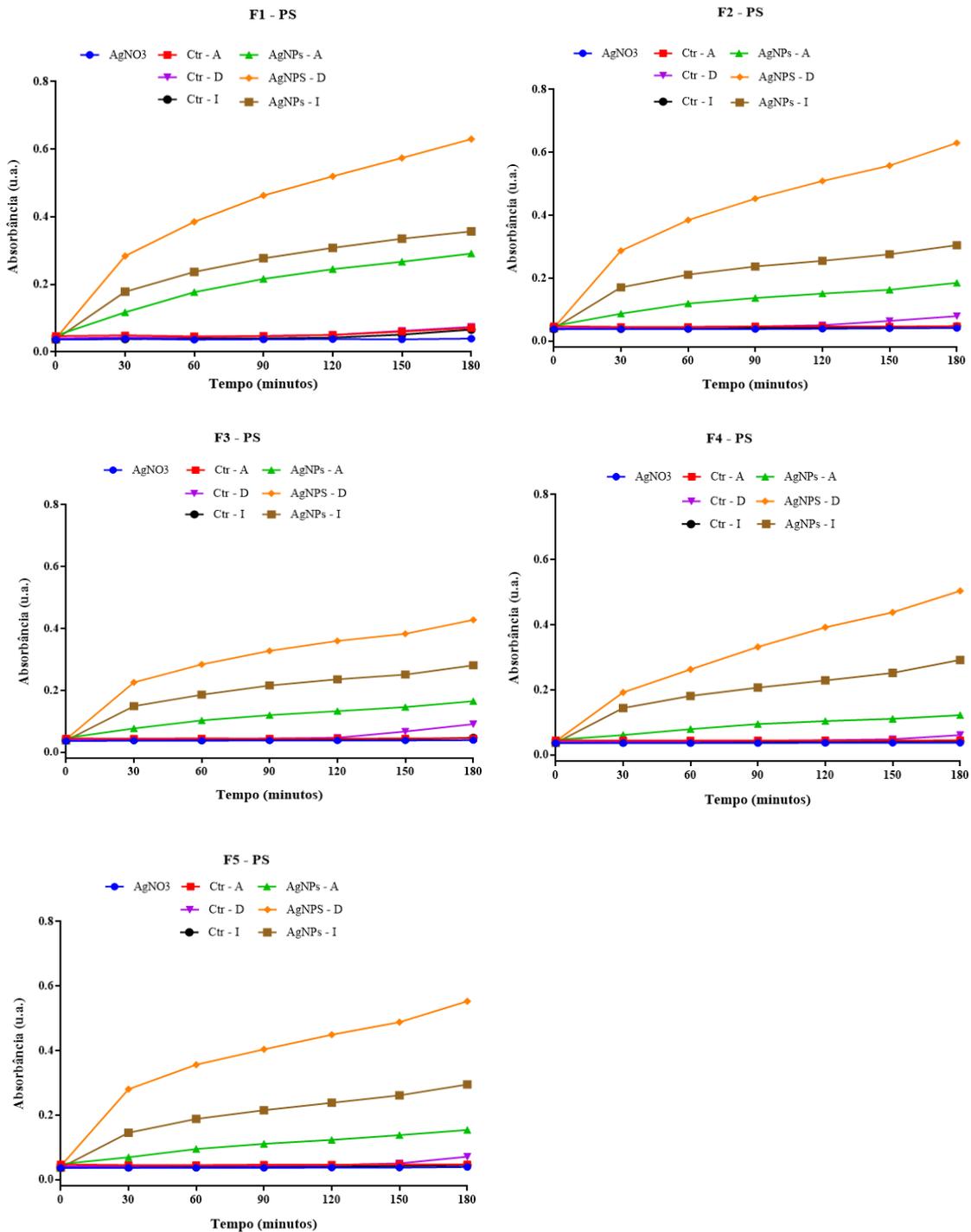
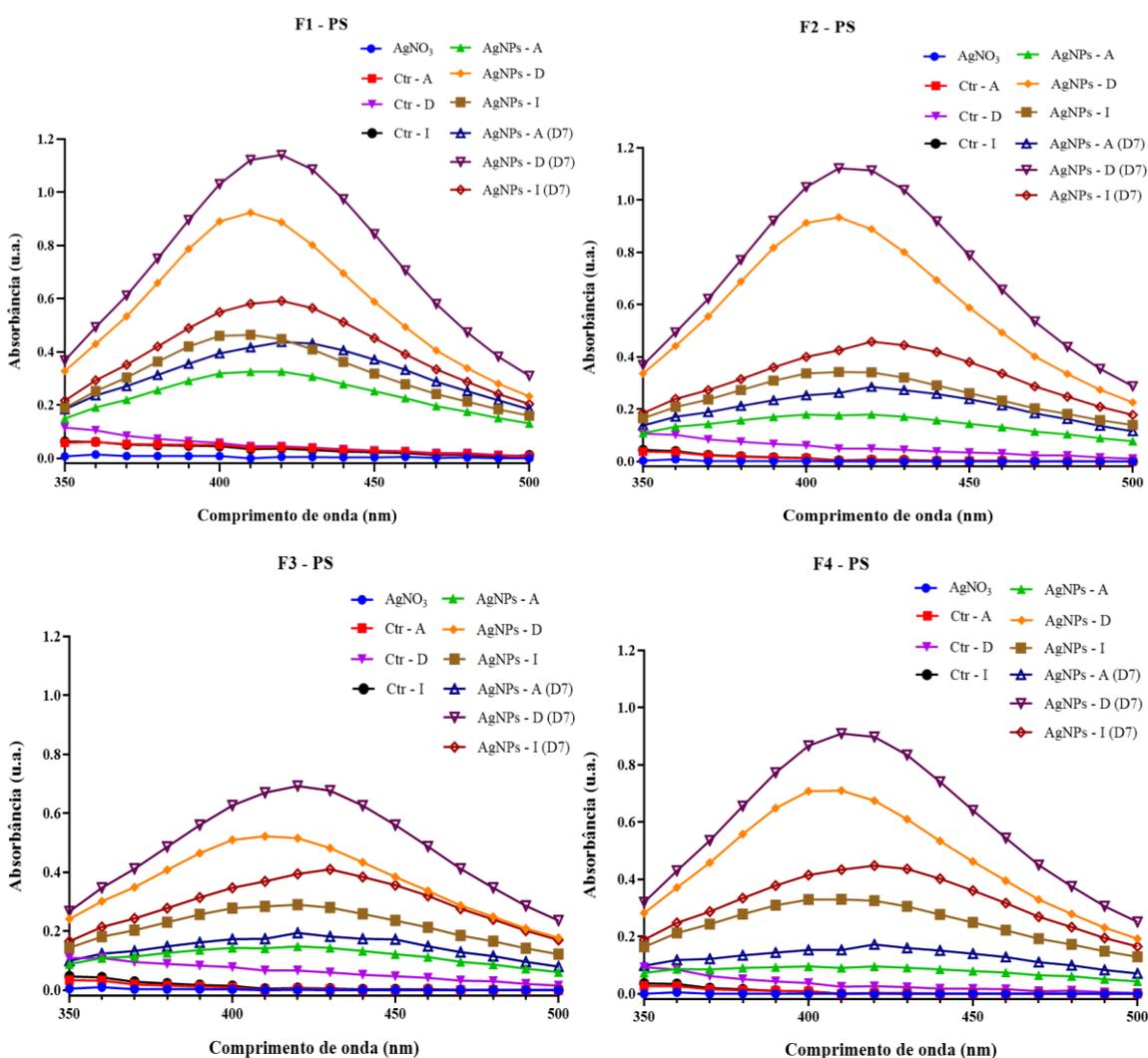


Figura I-4. Curvas cinéticas de monitoramento das reações de síntese de nanopartículas de prata (AgNPs) sintetizadas a partir de extratos aquosos dos folíolos F1, F2, F3, F4 e F5 de *Paullinia cupana* coletados no período seco (PS) preparados por agitação (A), decocção (D) e infusão (I) e seus controles (Ctr) durante 180 minutos a 450 nm. A síntese foi realizada em banho-maria a 70 °C, com 1 mM de AgNO₃ e 1 mg/mL de extrato aquoso. (AgNO₃: Solução aquosa de nitrato de prata. Ctr: extrato vegetal 1 mg/mL + água).

Como é possível observar para todos os folíolos, o monitoramento das reações mostrou um aumento da absorbância em função do tempo de síntese com maiores intensidades relativas para as AgNPs-D, destacando-se a utilização do extrato aquoso do

F2 que teve valor de 0,630 u.a. após 180 minutos, seguida das AgNPs-I e logo após as AgNPs-A, enquanto os controles experimentais não tiveram um aumento expressivo na intensidade de absorbância. Além disso, o aumento progressivo na taxa de síntese das AgNPs, sem tendência à estabilização das linhas de absorbância, proporcional ao tempo de reação pode indicar que o processo de redução da prata (Ag^+) em prata coloidal (Ag^0) está acontecendo juntamente com a etapa de crescimento das AgNPs (Patil *et al.*, 2017).

Os espectros de absorbância das AgNPs e seus respectivos controles na faixa entre 350 e 500 nm registrados logo após o tempo de síntese e depois de sete dias da síntese inicial para averiguar a banda de máxima absorção das amostras são mostrados na Figura I-5.



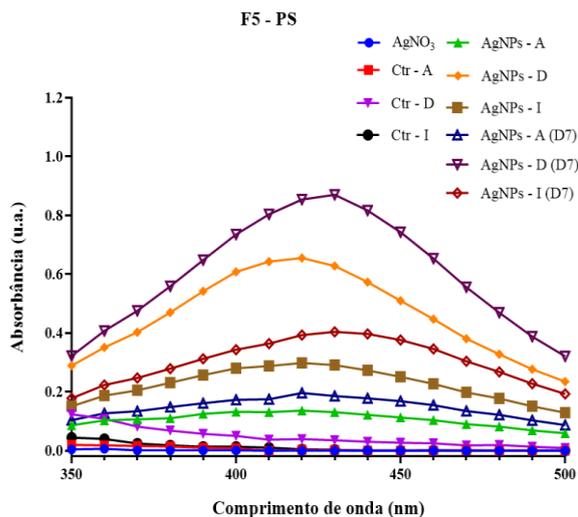


Figura I-5. Curvas de absorção na região do UV/Vis das nanopartículas de prata (AgNPs) sintetizadas a partir de extratos aquosos dos folíolos F1, F2, F3, F4 e F5 de *Paullinia cupana* coletados no período seco (PS) preparados por agitação (A), decocção (D) e infusão (I) e seus controles (Ctr) após 180 minutos e sete dias (D7). A síntese foi realizada em banho-maria a 70 °C, com 1 mM de AgNO_3 e 1 mg/mL de extrato aquoso. (Ctr: extrato vegetal 1 mg/mL + água; AgNO_3 : Solução aquosa de nitrato de prata).

As AgNPs-D apresentaram as maiores intensidades relativas, independente do folíolo, nas leituras realizadas imediatamente após a síntese e após sete dias da síntese inicial, destacando-se as AgNPs do F1 com 0,924 u.a. e 1,141 u.a. e bandas de máxima absorção em 410 e 420 nm, respectivamente. Por sua vez, as AgNPs do F2, com intensidade de 0,934 u.a. e 1,122 u.a., respectivamente, tiveram uma única banda máxima de absorção em 410 nm.

Em seguida, as AgNPs-I demonstraram maiores intensidades de absorvância, destacando-se a amostra sintetizada com o extrato aquoso do F1 com intensidade de 0,464 u.a. e 0,592 u.a. no dia da síntese a decorridos sete dias, respectivamente, com desvio batocrômico de sua posição de absorção máxima de 410 para 420 nm. As AgNPs-A tiveram os menores valores de intensidade relativa mesmo após os sete dias de síntese na maioria das amostras analisadas, sugerindo a presença de AgNPs instáveis ou ainda não completamente estabilizadas. Para essas amostras foram observadas curvas de absorção alargadas e comprimento de onda máximo em 420 nm.

➤ Flor

As flores de guaraná também foram exploradas na síntese de AgNPs a partir da preparação dos extratos pelos mesmos métodos utilizados para os folíolos (agitação, decocção e infusão). A observação visual das suspensões foi realizada após as reações de síntese das AgNPs e evidencia uma maior intensidade de cor em amarelo para as AgNPs-D, seguida das AgNPs-I e logo após as AgNPs-A (APÊNDICE 9).

O progresso da cinética de síntese das AgNPs sintetizadas via extrato aquoso das flores de guaraná foi monitorado por UV/Vis a 450 nm durante o tempo de incubação por 180 minutos (FIGURA I-6).

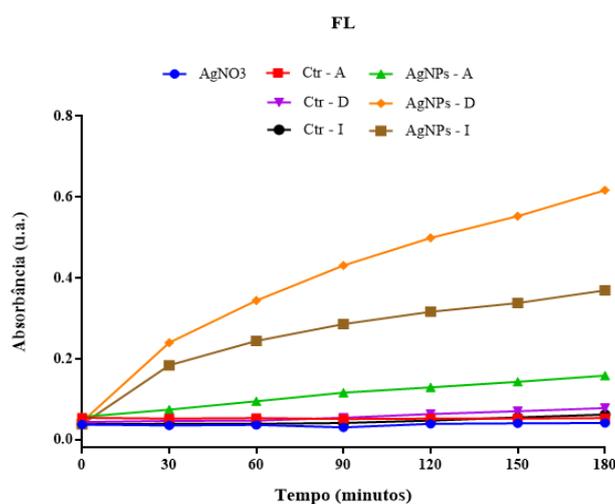


Figura I-6. Curvas cinéticas de monitoramento das reações da síntese de nanopartículas de prata (AgNPs) sintetizadas a partir de extratos aquosos das flores de *Paullinia cupana* coletadas no período seco (PS) preparados por agitação (A), decocção (D) e infusão (I) e seus controles (Ctr) durante 180 minutos a 450 nm. A síntese foi realizada em banho-maria a 70 °C, com 1 mM de AgNO₃ e 1 mg/mL de extrato aquoso. (AgNO₃: Solução aquosa de nitrato de prata. Ctr: extrato vegetal 1 mg/mL + água).

Mesmo sendo outra parte da planta, nesse caso uma parte reprodutiva, empregada como fonte de metabólitos secundários na síntese, a intensidade de absorbância foi similar àquela observada pelos folíolos coletados no período seco, ou seja, com maiores valores para as AgNPs-D (0,617 u.a.), seguida pelas AgNPs-I (0,369 u.a.) e AgNPs-A (0,158 u.a.), com tendência a crescimento mesmo após os 180 minutos de incubação em banho-maria. Os controles experimentais não demonstraram qualquer aumento da absorbância ao longo do experimento.

As curvas de absorção das AgNPs sintetizadas com extratos aquosos preparados a partir das flores de guaraná e que foram obtidas no dia da síntese e após sete dias são mostradas na Figura I-7.

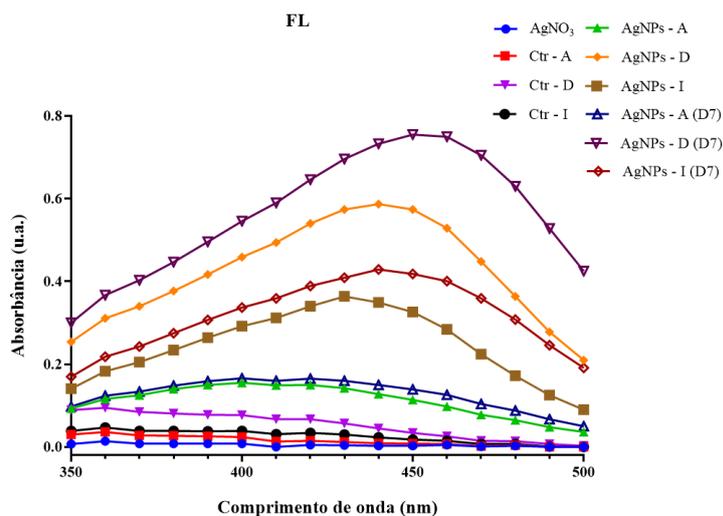


Figura I-7. Curvas de absorção na região de UV/Vis das nanopartículas de prata (AgNPs) sintetizadas a partir de extratos aquosos das flores de *Paullinia cupana* coletadas no período seco (PS) preparados por agitação (A), decocção (D) e infusão (I) e seus controles (Ctr) após 180 minutos e sete dias (D7). A síntese foi realizada em banho-maria a 70 °C, com 1 mM de AgNO₃ e 1 mg/mL de extrato aquoso. (Ctr: extrato vegetal 1 mg/mL + água; AgNO₃: Solução aquosa de nitrato de prata).

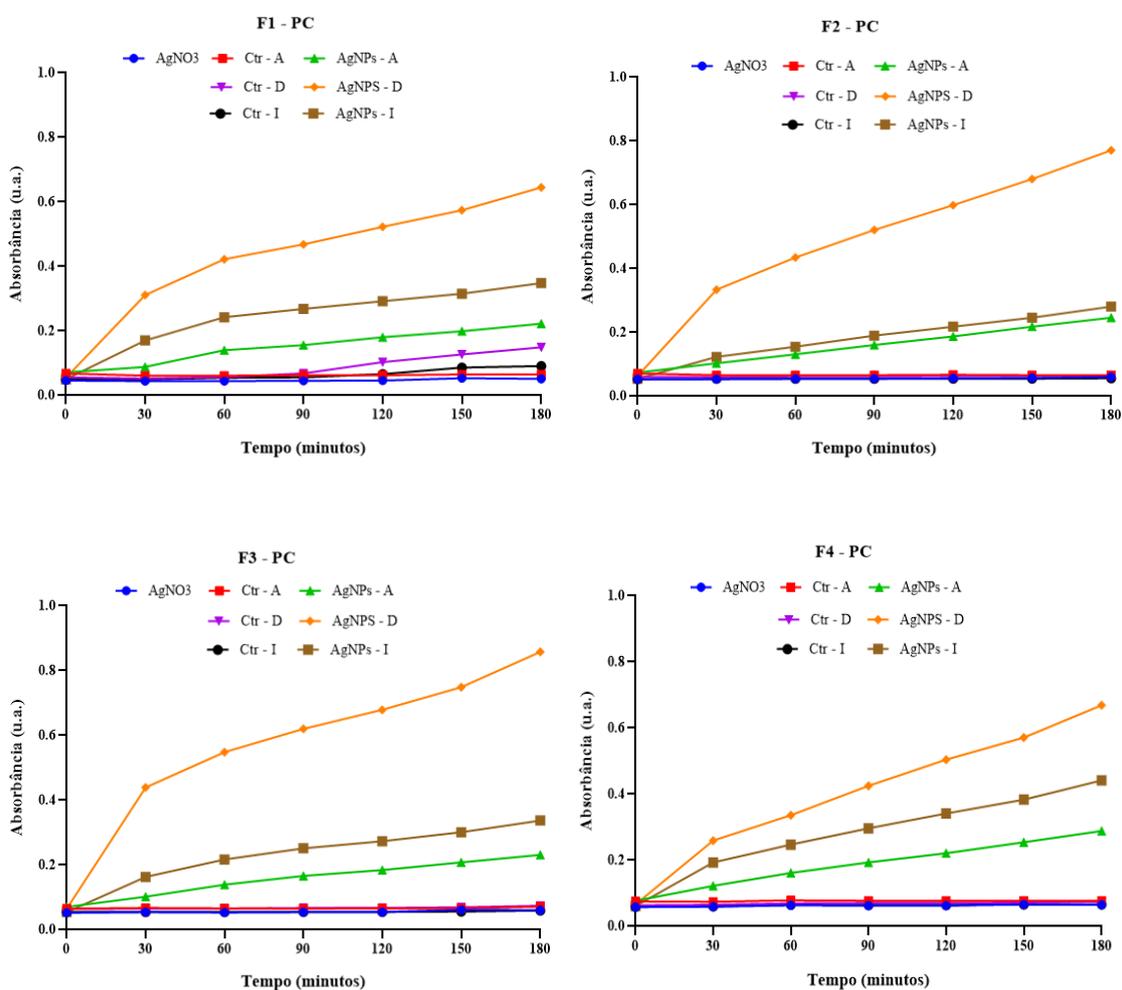
Para a amostra AgNPs-D, as bandas de absorção foram em 440 nm (0,587 u.a.) no dia da síntese e 450 nm após sete dias da síntese inicial (0,755 u.a.). As AgNPs-I tiveram banda em 430 nm no dia da síntese (0,364 u.a.) e em 440 nm (0,429 u.a.) após sete dias. Com isso, também foram observadas variações no comprimento de onda máximo das nanoestruturas sintetizadas com extratos aquosos das flores de *Paullinia cupana*, sendo que tais desvios foram em regiões de comprimento de onda maior do que aqueles descritos anteriormente para as AgNPs sintetizadas com extratos dos folíolos coletados no também no período seco.

Por sua vez, as AgNPs-A apresentaram bandas de máxima absorção em 400 nm, com intensidade relativa de 0,155 u.a. e 0,166 u.a. no dia da síntese e após sete dias, respectivamente. Além disso, esses sinais foram pouco aparentes e com as curvas bem alargadas, podendo sugerir a síntese de nanoestruturas de tamanhos mais elevados e pouco estáveis em suspensão.

2.3.2. Período chuvoso

A fim de avaliar a sazonalidade, os folíolos de guaraná da mesma planta foram coletados também na época de chuvas e com eles foram preparados os extratos aquosos pelos mesmos métodos anteriormente relatados (agitação, decocção, infusão), com posterior síntese de AgNPs. A coloração de todas as suspensões mudou após o tempo de incubação, indicando a possível síntese das AgNPs, com maior intensidade em amarelo para as AgNPs-D (APÊNDICE 10).

O monitoramento das sínteses aconteceu por 180 minutos com leituras espectrofotométricas fixadas no comprimento de onda de 450 nm e os gráficos representativos para cada folíolo empregado na síntese estão mostrados na Figura I-8.



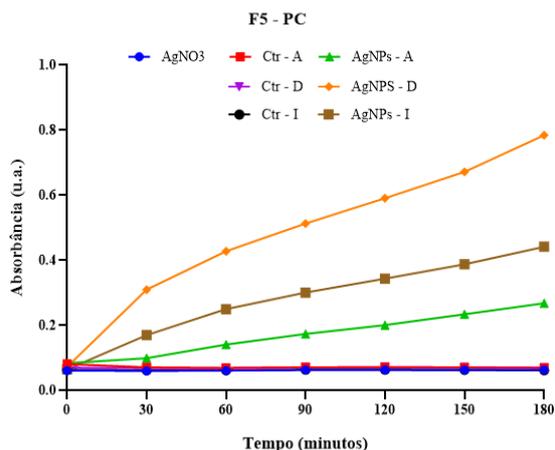


Figura I-8. Curvas cinéticas de monitoramento das reações de síntese de nanopartículas de prata (AgNPs) sintetizadas a partir de extratos aquosos dos folíolos F1, F2, F3, F4 e F5 de *Paullinia cupana* coletados no período chuvoso (PC) preparados por agitação (A), decocção (D) e infusão (I) e seus controles (Ctr) durante 180 minutos a 450 nm. A síntese foi realizada em banho-maria a 70 °C, com 1 mM de AgNO₃ e 1 mg/mL de extrato aquoso. (AgNO₃: Solução aquosa de nitrato de prata. Ctr: extrato vegetal 1 mg/mL + água).

É possível perceber que todas as suspensões de AgNPs aumentam de intensidade de absorbância com o aumento do tempo de síntese, independentemente do método de preparação do extrato aquoso, enquanto os controles não mudaram expressivamente a intensidade de absorção. Entre os extratos empregados, aqueles obtidos pelo método de decocção foram os que indicaram maior potencial de reduzir os íons prata e sintetizar as AgNPs, dado relacionado às maiores intensidades de absorção apontadas uma vez que esta variou de 0,645 u.a. ao utilizar o extrato do F1 e 0,858 u.a. utilizando o extrato foliar F3, seguido do método de infusão e em seguida da preparação dos extratos por agitação. Além disso, observou-se que ao utilizar os extratos dos folíolos coletados no período chuvoso, os valores de absorbância ao final de 180 minutos foram superiores em comparação àqueles anteriormente descritos para os folíolos do período seco, indicando maior rendimento na síntese das nanoestruturas biogênicas.

As curvas de absorção espectrofotométricas obtidas logo após a síntese e depois de sete dias foram construídas para as AgNPs e seus controles experimentais na faixa entre 350 a 500 nm (FIGURA I-9).

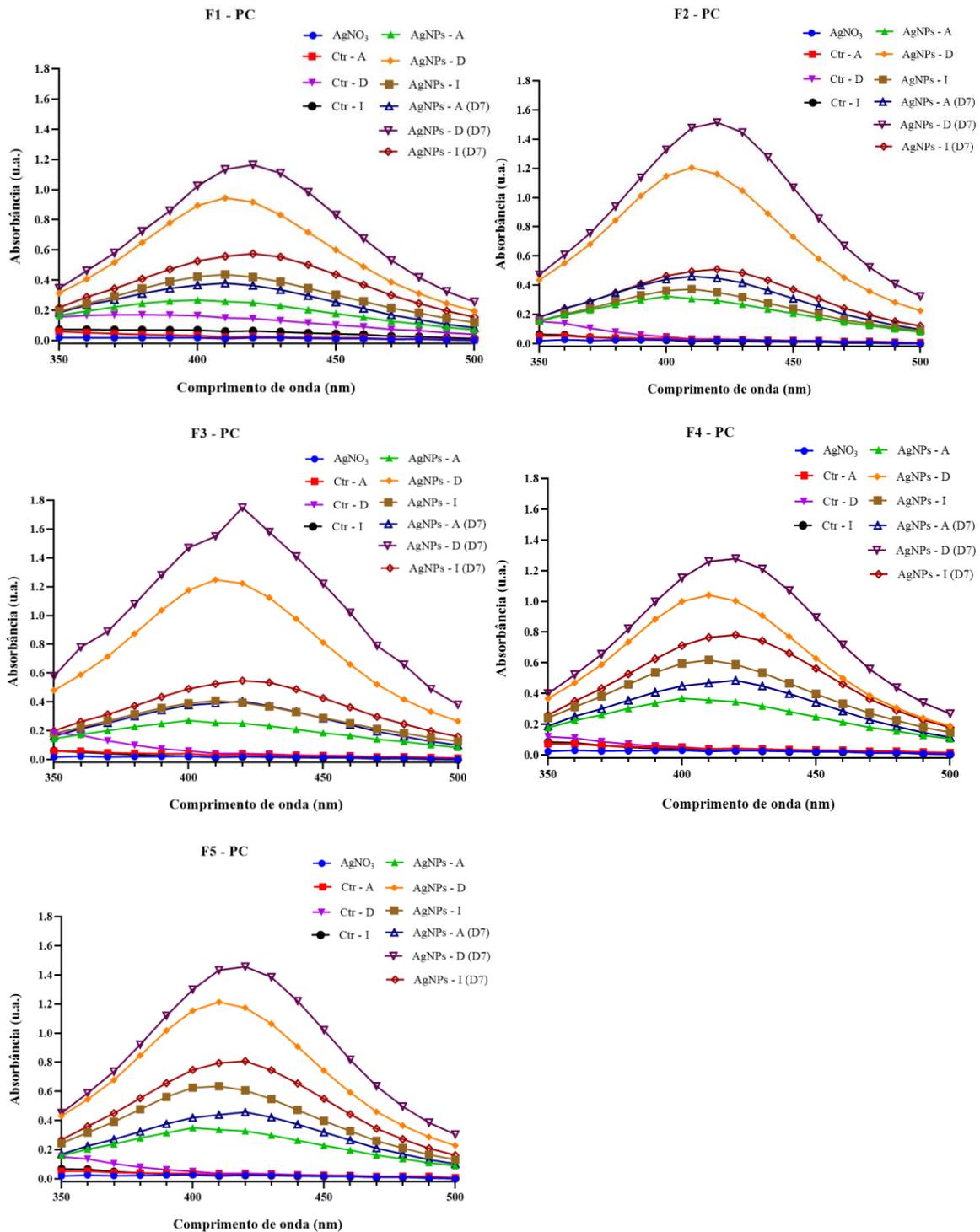


Figura I-9. Curvas de absorção na região de UV/Vis das nanopartículas de prata (AgNPs) sintetizadas a partir de extratos aquosos dos folíolos F1, F2, F3, F4 e F5 de *Paullinia cupana* coletados no período chuvoso (PC) preparados por agitação (A), decocção (D) e infusão (I) e seus controles (Ctr) após 180 minutos e sete dias (D7). A síntese foi realizada em banho-maria a 70 °C, com 1 mM de AgNO₃ e 1 mg/mL de extrato aquoso. (Ctr: extrato vegetal 1 mg/mL + água; AgNO₃: Solução aquosa de nitrato de prata).

A partir dos resultados descritos é possível perceber que as AgNPs-D tiveram as maiores intensidades de absorção em comparação aos outros dois métodos de preparação do extrato vegetal, independente do dia de análise. No dia da síntese, as AgNPs-D dos folíolos F2, F3 e F5 alcançaram valores de absorbância de 1,205 u.a., 1,248 u.a. e 1,214 u.a., respectivamente, com comprimento de máxima absorção em 410 nm e 1,515 u.a., 1,750 u.a. e 1,457 u.a., respectivamente, após sete dias com deslocamento da banda para 420 nm.

Para as amostras de AgNPs-I, o destaque é dado para as nanoestruturas sintetizadas com o extrato aquoso do F4 que apresentaram intensidade relativa de 0,618 u.a. e 0,782 u.a. no dia da síntese e após sete dias, respectivamente, e F5 com 0,636 u.a. e 0,808 u.a., respectivamente. Em ambos os casos foram vistos desvios batocrômicos da posição de máxima absorção de 410 para 420 nm após uma semana da síntese inicial. As AgNPs-A apresentaram intensidade de absorbância abaixo de 0,5 u.a. independente do folíolo utilizado, além de deslocamentos para regiões de maior comprimento de onda, variando de 400 para 420 nm para as AgNPs dos folíolos F3, F4 e F5.

De modo geral, a descrição dos resultados relacionados aos dados de UV/Vis corroboram com o princípio do fenômeno de RPS, que pode ser entendido como a oscilação aleatória dos elétrons livres que estão ao redor da superfície das AgNPs, gerado pela interação com a luz incidente, sendo responsável pelas mudanças de colorações ao longo da reação e pelo aumento da absorção das AgNPs. Este fenômeno pode variar devido a diversos fatores como o tamanho, forma, concentração dos componentes na suspensão, temperatura empregada na síntese, entre outros (Behravan *et al.*, 2019; Vanlalveni *et al.*, 2018).

As propriedades ópticas e espectrais das nanoestruturas no presente estudo demonstram que o método de preparação dos extratos aquosos por decocção, independente do período de coleta (seco e chuvoso) e do tipo de material vegetal (folíolos e flor), foi o mais indicado para ser utilizado uma vez que, de acordo com as curvas cinéticas (FIGURA I-4, I-6, I-8), resultou em maiores valores de intensidade de absorbância após 180 minutos, o que pode indicar maior rendimento das AgNPs sintetizadas. Tendo em vista que o sucesso na síntese verde pode ser relacionado com o conteúdo de metabólitos ativos nos extratos vegetais, entre eles os compostos fenólicos, tais resultados corroboram com a quantificação dos teores desse grupo de fitoquímicos nos extratos de *Paullinia cupana* que foi de $437,5 \pm 0,093$, $646,8 \pm 0,165$ e $728,4 \pm$

0,087 $\mu\text{gEAG/gEA}$ para os extratos do folíolo do período seco, flores e folíolo do período chuvoso, respectivamente (TABELA I-1).

No que tange aos deslocamentos das bandas de absorção máxima, foram observadas similaridades nos desvios de pelo menos 10 nm para regiões de maiores comprimentos de onda (*redshift*) nas curvas da maioria das AgNPs analisadas, não tendo qualquer relação com as variáveis de período sazonal e parte da planta. Sendo assim, é possível concluir que os resultados demonstram que as análises espectrais por UV/Vis utilizadas para caracterizar inicialmente as AgNPs sintetizadas a partir de extratos aquosos de *Paullinia cupana* são eficientes, apresentando peculiaridades a depender da forma de preparação dos extratos e do tempo de armazenamento das nanoestruturas. Além disso, outro fator a ser observado é que, mesmo após sete dias das sínteses, a intensidade de absorbância das nanoestruturas aumentou com ou sem a mudança na posição das bandas, o que indica que o processo de nucleação ainda estava ocorrendo, acompanhado da formação de núcleos mais estáveis ao redor das AgNPs sintetizadas (Manosalva *et al.*, 2019).

2.4. Análises por espalhamento de luz dinâmico e potencial Zeta

As propriedades coloidais foram investigadas no dia da síntese e após um dia da síntese inicial com as alíquotas de cada grupo de AgNPs armazenadas sob temperatura ambiente e em geladeira. Foram caracterizadas as amostras de AgNPs sintetizadas a partir de extratos aquosos de folíolos de *Paullinia cupana* coletados no período seco e período chuvoso e extratos aquosos das flores coletadas no período seco preparadas pelos métodos de agitação (A), decocção (D) e infusão (I).

2.4.1. Período seco

➤ Folíolos

Os valores de diâmetro hidrodinâmico (DH), índice de polidispersividade (PdI) e potencial Zeta de superfície (PtZ) foram obtidos para as suspensões de AgNPs-A (TABELA I-4), AgNPs-D (TABELA I-5) e AgNPs-I (TABELA I-6) sintetizadas a partir do extrato aquoso dos folíolos coletados no período seco.

Tabela I-4. Valores de diâmetro hidrodinâmico (DH), índice de polidispersividade (PdI) e potencial Zeta de superfície (PtZ) de nanopartículas de prata (AgNPs) sintetizadas a partir de extratos aquosos dos folíolos de *Paullinia cupana* (F1 a F5) coletados no período seco preparados por agitação logo após a síntese (D0) e depois de 24 horas armazenadas sob temperatura ambiente (D1 – TA) e em geladeira (D1 – GEL).

Tempo/armazenamento	DH (nm)	PdI	PtZ (mV)
	AgNPs – F1		
D0	55,51 ± 6,4	0,474 ± 0,112	-37,4 ± 0,6 ^a
D1 – TA	51,28 ± 5,2	0,457 ± 0,167	-10,7 ± 1,5 ^b
D1– GEL	71,89 ± 10,3	0,298 ± 0,116	-35,9 ± 1,8 ^a
AgNPs – F2			
D0	86,97 ± 32,8	0,284 ± 0,010	-34,9 ± 1,6 ^a
D1 – TA	68,48 ± 10,5	0,222 ± 0,037	-14,0 ± 2,1 ^b
D1– GEL	65,85 ± 19,3	0,321 ± 0,194	-36,4 ± 0,5 ^a
AgNPs – F3			
D0	66,58 ± 13,6	0,397 ± 0,144	-26,8 ± 3,5 ^a
D1 – TA	65,79 ± 11,9	0,293 ± 0,051	-4,34 ± 0,3 ^b
D1– GEL	100,2 ± 12,8	0,253 ± 0,031	-31,6 ± 1,6 ^a
AgNPs – F4			
D0	137,6 ± 10,1	0,312 ± 0,022	-30,7 ± 5,2
D1 – TA	104,8 ± 7,7	0,250 ± 0,014	-35,6 ± 4,5
D1– GEL	111,2 ± 7,2	0,260 ± 0,015	-29,9 ± 5,4
AgNPs – F5			
D0	131,7 ± 7,4 ^a	0,298 ± 0,015	-31,1 ± 7,6 ^a
D1 – TA	86,8 ± 18,1 ^b	0,247 ± 0,036	-8,16 ± 3,9 ^b
D1– GEL	138,6 ± 12,2 ^a	0,320 ± 0,023	-20,5 ± 7,9 ^a

Os valores estão representados como média ± desvio padrão da média de medidas em triplicata. Análise estatística: teste One-way ANOVA ($p < 0,05$), seguido do teste de Tukey. Letras diferentes dentro de cada parâmetro para cada grupo de AgNPs indicam resultados estatisticamente diferentes. Valores sem letras dentro de cada parâmetro para cada grupo de AgNPs indicam que não há diferenças estatísticas.

Como é possível observar na Tabela I-4, o valor de DH obtido para as AgNPs sintetizadas com o extrato aquoso do F5 diminuiu significativamente ($p < 0,05$) após o armazenamento por um dia à temperatura ambiente, o que não ocorreu quando armazenadas na geladeira pelo mesmo período. Para as AgNPs sintetizadas a partir dos extratos aquosos dos demais folíolos não houve alteração significativa ($p < 0,05$) nos valores de DH das leituras realizadas, independente do dia ou da condição de armazenamento. Vale ressaltar que as AgNPs dos folíolos F4 e do F5 apresentaram diâmetros acima de 100 nm e isso pode ser influência do alargamento das bandas de máxima absorção uma vez que tal característica pode gerar alterações no tamanho e/ou forma das nanoestruturas (Mock *et al.*, 2002).

O PdI, parâmetro que avalia a homogeneidade do sistema coloidal, não teve alterações significativas ($p < 0,05$) entre as leituras realizadas, independente do folíolo,

dia de leitura ou armazenamento. Quanto ao PtZ, exceto para as AgNPs sintetizadas com o extrato do F4, todas as suspensões de AgNPs avaliadas após um dia de síntese e armazenadas em temperatura ambiente apresentaram diferenças estatísticas ($p < 0,05$) da leitura inicial para o mesmo folíolo e tiveram um valor menor, em módulo, que pode ser indício de aglomeração de partículas.

Tabela I-5. Valores de diâmetro hidrodinâmico (DH), índice de polidispersividade (PdI) e potencial Zeta de superfície (PtZ) de nanopartículas de prata (AgNPs) sintetizadas a partir de extratos aquosos dos folíolos de *Paullinia cupana* (F1 a F5) coletados no período seco preparados por decocção logo após a síntese (D0) e depois de 24 horas armazenadas sob temperatura ambiente (D1 – TA) e em geladeira (D1 – GEL).

Tempo/armazenamento	DH (nm)	PdI	PtZ (mV)
	AgNPs – F1		
D0	54,93 ± 1,9	0,287 ± 0,074	-19,4 ± 1,75 ^a
D1 – TA	44,24 ± 1,3	0,523 ± 0,089	-8,36 ± 0,65 ^b
D1 – GEL	57,16 ± 8,4	0,289 ± 0,102	-15,1 ± 3,76 ^{a,b}
AgNPs – F2			
D0	79,29 ± 17,4	0,303 ± 0,057	-28,7 ± 0,8
D1 – TA	69,70 ± 9,1	0,262 ± 0,065	-30,8 ± 2,2
D1 – GEL	79,78 ± 15,4	0,285 ± 0,089	-35,2 ± 1,2
AgNPs – F3			
D0	61,07 ± 9,1	0,328 ± 0,153	-28 ± 1,8 ^b
D1 – TA	49,32 ± 3,9	0,436 ± 0,078	-10,1 ± 3,2 ^a
D1 – GEL	66,51 ± 13,8	0,266 ± 0,017	-15,6 ± 3,2 ^a
AgNPs – F4			
D0	72,40 ± 22,9	0,306 ± 0,175	-1,05 ± 0,6 ^b
D1 – TA	45,47 ± 7,6	0,377 ± 0,172	-22,7 ± 1,2 ^a
D1 – GEL	43,93 ± 9,4	0,456 ± 0,220	-20,4 ± 2,6 ^a
AgNPs – F5			
D0	59,95 ± 7,7	0,389 ± 0,131	-26,3 ± 4,9
D1 – TA	55,04 ± 4,1	0,373 ± 0,069	-26,8 ± 19,6
D1 – GEL	60,35 ± 5,6	0,313 ± 0,102	-21,5 ± 6,1

Os valores estão representados como média ± desvio padrão da média de medidas em triplicata. Análise estatística: teste One-way ANOVA ($p < 0,05$), seguido do teste de Tukey. Letras diferentes dentro de cada parâmetro para cada grupo de AgNPs indicam resultados estatisticamente diferentes. Valores sem letras dentro de cada parâmetro para cada grupo de AgNPs indicam que não há diferenças estatísticas.

Na Tabela I-5, as AgNPs sintetizadas não apresentaram diferenças estatísticas ($p < 0,05$) entre si dentro de um mesmo grupo de folíolos após as leituras de DH. É possível observar que o DH das AgNPs sintetizadas pelos folíolos F1, F2, F3 e F5 após um dia de síntese e mantidas à temperatura ambiente foi menor do que os valores dessas amostras deixadas na geladeira. Os valores de PdI também não variaram significativamente ($p < 0,05$) entre si dentro de um mesmo grupo de folíolos, mas foi possível modulá-lo nas amostras de AgNPs sintetizadas a partir dos extratos aquosos

dos folíolos F2 e F5 uma vez que os valores diminuíram após 24 horas de síntese independentemente da condição de armazenamento.

O valor do PtZ das AgNPs sintetizadas utilizando extrato aquoso do F1 mantidas em temperatura ambiente diminuiu significativamente ($p < 0,05$) após um dia de síntese, enquanto os valores obtidos para as AgNPs sintetizadas com os extratos aquosos dos folíolos F3 e F4 diferiram de forma considerável ($p < 0,05$) após 24 horas nas duas condições de armazenamento em comparação às medidas iniciais. Ao observar o PtZ das AgNPs sintetizadas pelos folíolos F2 e F4 é possível perceber o aumento, em módulo, dos valores alcançados, indicando provável estabilidade coloidal, apesar desse aumento não ser significativo entre as medidas para as AgNPs do F2.

Tabela I-6. Valores de diâmetro hidrodinâmico (DH), índice de polidispersividade (PdI) e potencial Zeta de superfície (PtZ) de nanopartículas de prata (AgNPs) sintetizadas a partir de extratos aquosos dos folíolos de *Paullinia cupana* (F1 a F5) coletados no período seco preparados por infusão logo após a síntese (D0) e depois de 24 horas armazenadas sob temperatura ambiente (D1 – TA) e em geladeira (D1 – GEL).

Tempo/armazenamento	DH	PdI	PtZ
	AgNPs – F1		
D0	41,45 ± 12,9	0,463 ± 0,210	-16,3 ± 3,3 ^a
D1 – TA	36,47 ± 4,5	0,641 ± 0,191	-37 ± 0,9 ^b
D1 – GEL	55,71 ± 14,6	0,336 ± 0,199	-19,1 ± 0,6 ^a
AgNPs – F2			
D0	98,51 ± 12,0	0,246 ± 0,021	-28,5 ± 4,6 ^b
D1 – TA	83,03 ± 9,7	0,227 ± 0,030	-38,9 ± 0,3 ^a
D1 – GEL	89,25 ± 6,9	0,224 ± 0,015	-37,5 ± 2,2 ^{a,b}
AgNPs – F3			
D0	61,53 ± 10,4	0,275 ± 0,117	-12,2 ± 4,9
D1 – TA	53,06 ± 7,2	0,325 ± 0,187	-9,38 ± 3,7
D1 – GEL	61,42 ± 15,2	0,286 ± 0,108	-16,9 ± 2,8
AgNPs – F4			
D0	63,59 ± 7,3	0,214 ± 0,010	-13,7 ± 4,6 ^a
D1 – TA	54,71 ± 17,0	0,323 ± 0,243	-23,6 ± 5,8 ^b
D1 – GEL	52,87 ± 13,4	0,251 ± 0,120	-12,7 ± 3,1 ^a
AgNPs – F5			
D0	60,92 ± 8,9	0,324 ± 0,180	-27 ± 2,3
D1 – TA	63,53 ± 9,3	0,266 ± 0,106	-30,5 ± 0,5
D1 – GEL	63,05 ± 9,7	0,295 ± 0,154	-36,2 ± 1,8

Os valores estão representados como média ± desvio padrão da média de medidas em triplicata. Análise estatística: teste One-way ANOVA ($p < 0,05$), seguido do teste de Tukey. Letras diferentes dentro de cada parâmetro para cada grupo de AgNPs indicam resultados estatisticamente diferentes. Valores sem letras dentro de cada parâmetro para cada grupo de AgNPs indicam que não há diferenças estatísticas.

De acordo com a Tabela I-6 não foram encontradas diferenças significativas ($p < 0,05$) entre os valores de DH e PdI medidos para as AgNPs, mas àquelas sintetizadas com o extrato do F2 tiveram os menores valores de PdI, enquanto as AgNPs sintetizadas pelos folíolos F2, F3 e F4 apresentaram sutis diminuições nos valores de DH após um dia de síntese nas duas condições de armazenamento. No geral, o DH foi maior quando as amostras foram armazenadas em geladeira em comparação às alíquotas mantidas sob temperatura ambiente, exceto para as AgNPs dos folíolos F4 e F5.

O PtZ apresentou diferenças estatísticas ($p < 0,05$) nas medidas realizadas para as AgNPs sintetizadas com extratos aquosos dos folíolos F1, F2 e F4, com o aumento dos valores quando as AgNPs foram mantidas por um dia à temperatura ambiente e com destaque para as nanoestruturas advindas da síntese com o extrato do F2 que apresentou potencial Zeta de -38,9 mV.

➤ Flor

Os valores das medições de diâmetro hidrodinâmico (DH), índice de polidispersividade (PdI) e potencial Zeta de superfície (PtZ) das AgNPs sintetizadas a partir dos extratos das flores de guaraná são apresentados na Tabela I-7.

Tabela I-7. Valores de diâmetro hidrodinâmico (DH), índice de polidispersividade (PdI) e potencial Zeta de superfície (PtZ) de nanopartículas de prata (AgNPs) sintetizadas a partir de extratos aquosos das flores de *Paullinia cupana* coletadas no período seco preparados por agitação, decocção e infusão, logo após a síntese (D0) e depois de 24 horas armazenadas sob temperatura ambiente (D1 – TA) e em geladeira (D1 – GEL).

Tempo/armazenamento	DH	PdI	PtZ
	Agitação		
D0	392,7 ± 19,7 ^a	0,644 ± 0,029 ^a	-10,7 ± 1,7 ^b
D1 – TA	324,1 ± 137,3 ^a	0,599 ± 0,173 ^a	-2,4 ± 2,7 ^a
D1 – GEL	112,6 ± 17,1 ^b	0,287 ± 0,025 ^b	-25,2 ± 0,7 ^c
Decocção			
D0	78,87 ± 4,1	0,311 ± 0,075	-33,8 ± 0,5 ^a
D1 – TA	70,74 ± 2,7	0,324 ± 0,069	-26,6 ± 1,9 ^b
D1 – GEL	73,85 ± 4,4	0,310 ± 0,078	-36,0 ± 2,4 ^a
Infusão			
D0	75,38 ± 11,9 ^b	0,229 ± 0,052 ^a	-25,3 ± 3,6 ^b
D1 – TA	53,90 ± 0,5 ^a	0,377 ± 0,036 ^b	-10,3 ± 3,3 ^a
D1 – GEL	56,20 ± 2,1 ^a	0,284 ± 0,010 ^a	-13,9 ± 3,5 ^a

Os valores estão representados como média ± desvio padrão da média de medidas em triplicata. Análise estatística: teste One-way ANOVA ($p < 0,05$), seguido do teste de Tukey. Letras diferentes dentro de cada parâmetro para cada grupo de AgNPs indicam resultados estatisticamente diferentes. Valores sem letras dentro de cada parâmetro para cada grupo de AgNPs indicam que não há diferenças estatísticas.

O DH das AgNPs-A foi comparativamente maior (> 100 nm) em relação às AgNPs utilizando os outros tipos de preparação do extrato e com PDI acima de 0,5, exceto quando as AgNPs foram armazenadas em geladeira após um dia. Por sua vez, o PtZ foi considerado intermediário, demonstrando provável polidispersividade das partículas. Isso pode ser devido à ausência de uma banda de absorção máxima nos espectros de UV/Vis (FIGURA I-7) e ainda à técnica adotada para a extração dos compostos fitoquímicos não ser tão eficiente, uma vez ocorrendo sob temperatura ambiente e ainda aos fragmentos do material vegetal resultantes após a etapa de agitação magnética e que não foram utilizados na biorredução dos íons Ag^+ .

Para as AgNPs-I, os valores de DH diminuíram significativamente ($p < 0,05$) após 24 horas nas duas condições de armazenamento. O PDI da amostra mantida sob temperatura ambiente foi consideravelmente maior ($p < 0,05$) do que os valores mensurados na medida inicial e em geladeira. Em relação ao PtZ, os valores, em módulo, foram significativamente menores ($p < 0,05$) após um dia de síntese independente da condição de armazenamento, indicando que esse método de preparação do extrato pode favorecer a síntese de partículas estáveis, mas que com o passar do tempo essa estabilidade torna-se incipiente.

Em relação às AgNPs-D, não foram encontradas diferenças significativas ($p < 0,05$) nos valores de DH que se apresentaram abaixo de 80 nm e no PDI, com valores abaixo de 0,35. O PtZ dessas amostras pode sugerir maior estabilidade já que, tanto na medida inicial quanto após um dia armazenadas em geladeira, os valores mensurados foram acima de -30 mV. Esses resultados corroboram com os relatados nas análises por UV/Vis, onde a cinética de síntese das AgNPs teve maior intensidade para àquelas preparadas com extratos por decocção, além de maior intensidade na curva de absorção (FIGURAS I-6 e I-7), favorecendo a síntese de nanoestruturas pequenas, monodispersas e com elevada estabilidade coloidal.

Em suma, a partir dos resultados descritos até essa etapa da pesquisa para as AgNPs sintetizadas utilizando os extratos de partes vegetais de *Paullinia cupana* coletadas no período seco e, levando em consideração os dados espectrofotométricos e coloidais apresentados, foram escolhidas as amostras de AgNPs sintetizadas com o extrato aquoso do F2 por decocção (AgNPs-D-PS), as AgNPs preparadas pelo extrato aquoso das flores por decocção (AgNPs-FL-PS) e seus respectivos extratos para as demais etapas de caracterização e para o teste de atividade antibacteriana no Capítulo I.

2.4.2. Período chuvoso

Os valores de diâmetro hidrodinâmico (DH), índice de polidispersividade (PdI) e potencial Zeta de superfície (PtZ) foram obtidos para as suspensões de AgNPs-A (TABELA I-8), AgNPs-D (TABELA I-9) e AgNPs-I (TABELA I-10) sintetizadas a partir do extrato aquosos dos folíolos coletados no período chuvoso.

Tabela I-8. Valores de diâmetro hidrodinâmico (DH), índice de polidispersividade (PdI) e potencial Zeta de superfície (PtZ) de nanopartículas de prata (AgNPs) sintetizadas a partir de extratos aquosos dos folíolos de *Paullinia cupana* (F1 a F5) coletados no período chuvoso e preparados por agitação logo após a síntese (D0) e depois de 24 horas armazenadas sob temperatura ambiente (D1 – TA) e em geladeira (D1 – GEL).

Tempo/armazenamento	DH	PdI	PtZ
	AgNPs – F1		
D0	136,1 ± 24,3	0,612 ± 0,110	-35,5 ± 0,8
D1 – TA	144,8 ± 30,6	0,296 ± 0,063	-33,9 ± 3,0
D1 – GEL	206,4 ± 31,6	0,374 ± 0,052	-34,7 ± 2,7
AgNPs – F2			
D0	227,7 ± 24,0	0,571 ± 0,240	-35,6 ± 2,2
D1 – TA	138,8 ± 50,2	0,673 ± 0,248	-36,8 ± 6,9
D1 – GEL	215,2 ± 31,8	0,503 ± 0,078	-31,9 ± 3,7
AgNPs – F3			
D0	145,5 ± 43,5	0,526 ± 0,259	-35,4 ± 3,7
D1 – TA	128,1 ± 43,7	0,476 ± 0,167	-30,4 ± 1,5
D1 – GEL	139,3 ± 48,7	0,376 ± 0,036	-29,3 ± 7,5
AgNPs – F4			
D0	124,5 ± 44,6	0,406 ± 0,034	-31,6 ± 2,3
D1 – TA	154,7 ± 14,5	0,400 ± 0,068	-37,5 ± 0,8
D1 – GEL	175,1 ± 29,9	0,426 ± 0,038	-34,3 ± 2,7
AgNPs – F5			
D0	223,3 ± 68,9	0,459 ± 0,151	-36,6 ± 1,67
D1 – TA	266,8 ± 107,0	0,559 ± 0,158	-35,4 ± 2,14
D1 – GEL	186,4 ± 9,4	0,509 ± 0,087	-35,3 ± 1,86

Os valores estão representados como média ± desvio padrão da média de medidas em triplicata. Análise estatística: teste One-way ANOVA ($p < 0,05$), seguido do teste de Tukey. Letras diferentes dentro de cada parâmetro para cada grupo de AgNPs indicam resultados estatisticamente diferentes. Valores sem letras dentro de cada parâmetro para cada grupo de AgNPs indicam que não há diferenças estatísticas.

De acordo com os dados da Tabela I-8, não foram encontradas diferenças significativas ($p < 0,05$) dos parâmetros analisados entre as AgNPs sintetizadas por qualquer folíolo, no entanto, o alargamento das bandas das AgNPs-A, conforme demonstrado pelas curvas de UV/Vis (FIGURA I-9), além do método de preparação do extrato sem uso de temperatura, como citado anteriormente, contribuem fortemente para os elevados tamanhos e polidispersividade das nanoestruturas.

Entre as medições de DH, aquelas que aconteceram após um dia de síntese das alíquotas acondicionadas sob temperatura ambiente apresentaram os menores valores em relação às amostras em geladeira, exceto para as AgNPs do F5. Além disso, pode-se sugerir uma modulação no DH e Pdl das AgNPs sintetizadas com extrato do F3 uma vez que os valores após 24 horas diminuem em relação àqueles medidos no dia da síntese. No geral, o PtZ das amostras apresentou valores, em módulo, próximos ou superiores a -30 mV, destacando-se aqueles acondicionados sob temperatura ambiente que foram maiores em relação aos valores das AgNPs mantidas sob refrigeração após 24 horas, exceto ao utilizar o extrato aquoso do F1.

Tabela I-9. Valores de diâmetro hidrodinâmico (DH), índice de polidispersividade (Pdl) e potencial Zeta de superfície (PtZ) de nanopartículas de prata (AgNPs) sintetizadas a partir de extratos aquosos dos folíolos de *Paullinia cupana* (F1 a F5) coletados no período chuvoso e preparados por decocção logo após a síntese (D0) e depois de 24 horas armazenadas sob temperatura ambiente (D1 – TA) e em geladeira (D1 – GEL).

Tempo/armazenamento	DH	Pdl	PtZ
	AgNPs – F1		
D0	81,98 ± 15,8	0,290 ± 0,075	-34,2 ± 0,9
D1 – TA	70,90 ± 15,7	0,312 ± 0,044	-33,6 ± 0,9
D1 – GEL	83,63 ± 7,0	0,354 ± 0,136	-34,8 ± 0,8
AgNPs – F2			
D0	142,2 ± 26,9	0,388 ± 0,019	-34,9 ± 1,9 ^{a,b}
D1 – TA	90,97 ± 4,2	0,386 ± 0,065	-36,2 ± 0,6 ^a
D1 – GEL	114,3 ± 26,6	0,394 ± 0,133	-31,1 ± 4,2 ^b
AgNPs – F3			
D0	86,76 ± 9,9	0,417 ± 0,036	-38,5 ± 1,4
D1 – TA	78,63 ± 6,0	0,347 ± 0,028	-34,5 ± 0,4
D1 – GEL	85,2 ± 10,2	0,311 ± 0,032	-35,2 ± 0,3
AgNPs – F4			
D0	125,9 ± 39,9	0,404 ± 0,129	-35,4 ± 0,7
D1 – TA	99,78 ± 12,2	0,523 ± 0,145	-33,7 ± 0,6
D1 – GEL	100,4 ± 6,9	0,615 ± 0,098	-36,6 ± 0,2
AgNPs – F5			
D0	106,5 ± 34,9	0,467 ± 0,154	-35,9 ± 0,2
D1 – TA	85,48 ± 14,5	0,480 ± 0,084	-35,7 ± 1,2
D1 – GEL	88,23 ± 19,5	0,503 ± 0,126	-36,3 ± 0,3

Os valores estão representados como média ± desvio padrão da média de medidas em triplicata. Análise estatística: teste One-way ANOVA ($p < 0,05$), seguido do teste de Tukey. Letras diferentes dentro de cada parâmetro para cada grupo de AgNPs indicam resultados estatisticamente diferentes. Valores sem letras dentro de cada parâmetro para cada grupo de AgNPs indicam que não há diferenças estatísticas.

De acordo com a Tabela I-9, a caracterização coloidal demonstra menores valores de DH principalmente para as AgNPs sintetizadas com extratos dos folíolos F1 e F3, onde todas as medidas tiveram nanoestruturas com diâmetros abaixo de 100 nm.

Após 24 horas, os valores de DH de todas as amostras mantidas à temperatura ambiente foram menores em comparação com as medidas das AgNPs armazenadas em geladeira. O PDI das amostras pôde ser modulado na síntese utilizando o extrato do F3 uma vez que diminuiu após um dia nas duas condições de armazenamento, enquanto para as AgNPs dos folíolos F1, F4 e F5 os valores medidos foram superiores ao da síntese inicial. O PtZ indicou boa estabilidade coloidal, com valores acima de -30 mV e, a partir do armazenamento sob refrigeração, as AgNPs apresentaram os maiores valores para esse parâmetro, exceto àquelas sintetizadas a partir do extrato aquoso do F2.

Tabela I-10. Valores de diâmetro hidrodinâmico (DH), índice de polidispersividade (PDI) e potencial Zeta de superfície (PtZ) de nanopartículas de prata (AgNPs) sintetizadas a partir de extratos aquosos dos folíolos de *Paullinia cupana* (F1 a F5) coletados no período chuvoso e preparados por infusão logo após a síntese (D0) e depois de 24 horas armazenadas sob temperatura ambiente (D1 – TA) e em geladeira (D1 – GEL).

Tempo/armazenamento	DH	PDI	PtZ
	AgNPs – F1		
D0	77,28 ± 15,1	0,326 ± 0,158	-31,9 ± 4,9
D1 – TA	73,73 ± 2,1	0,388 ± 0,087	-34,8 ± 1,7
D1 – GEL	86,73 ± 14,5	0,309 ± 0,117	-34,9 ± 0,2
AgNPs – F2			
D0	148,1 ± 36,2	0,359 ± 0,042	-36,3 ± 2,8
D1 – TA	127,0 ± 25,8	0,412 ± 0,154	-34,8 ± 1,5
D1 – GEL	138,6 ± 47,6	0,463 ± 0,174	-35,8 ± 3,7
AgNPs – F3			
D0	76,35 ± 16,3	0,410 ± 0,121	-35,8 ± 0,5
D1 – TA	65,29 ± 6,1	0,316 ± 0,047	-32,5 ± 0,5
D1 – GEL	68,86 ± 5,1	0,439 ± 0,147	-33,9 ± 5,9
AgNPs – F4			
D0	71,46 ± 11,2	0,454 ± 0,185	-33,9 ± 1,0
D1 – TA	59,82 ± 5,0	0,476 ± 0,102	-36,5 ± 1,2
D1 – GEL	84,73 ± 16,2	0,410 ± 0,266	-36,7 ± 1,7
AgNPs – F5			
D0	128,8 ± 20,2	0,411 ± 0,154	-32,9 ± 0,7
D1 – TA	93,5 ± 29,8	0,519 ± 0,202	-36,2 ± 2,7
D1 – GEL	107,6 ± 37,3	0,295 ± 0,022	-34,3 ± 1,4

Os valores estão representados como média ± desvio padrão da média de medidas em triplicata. Análise estatística: teste One-way ANOVA ($p < 0,05$), seguido do teste de Tukey. Letras diferentes dentro de cada parâmetro para cada grupo de AgNPs indicam resultados estatisticamente diferentes. Valores sem letras dentro de cada parâmetro para cada grupo de AgNPs indicam que não há diferenças estatísticas.

Ao analisar os dados da Tabela I-10 não foi possível verificar valores significativamente diferentes ($p < 0,05$) entre si para nenhuma das variáveis estudadas. As AgNPs sintetizadas pelos extratos dos folíolos F1, F3 e F4 tiveram DH abaixo de 100 nm, mas, como padrão observado para as AgNPs sintetizadas com os extratos dos

folíolos coletados no período chuvoso, todas as amostras armazenadas à temperatura ambiente tiveram menores valores de DH após um dia da síntese inicial. O PDI manteve-se intermediário com valores entre 0,2 e 0,5 indicando uma moderada homogeneidade na polidispersividade das AgNPs e nenhuma modulação pôde ser obtida a partir das condições de armazenamento ou o dia de análise. O PtZ de todas as amostras indicou valores acima de -30 mV, com destaque para as AgNPs mantidas sob refrigeração, exceto para a amostra sintetizada com o extrato aquoso do F5.

De acordo com os resultados de caracterização físico-química até essa etapa do estudo, em relação às AgNPs sintetizadas com os extratos aquosos dos folíolos coletados no período chuvoso a amostra que segue para as demais etapas de caracterização e para o ensaio de atividade antibacteriana no Capítulo I é aquela advinda do folíolo F3 por decocção (AgNPs-D-PC), além de seu respectivo extrato aquoso.

2.5. Análise de Rastreamento de Nanopartículas (ARN)

A análise por ARN é uma alternativa simples e rápida que permite calcular o diâmetro médio e a concentração das AgNPs. Os resultados estão listados na Tabela I-11 e os histogramas de distribuição e intensidade são mostrados no Apêndice 11.

Tabela I-11. Valores do diâmetro médio e concentração de nanopartículas de prata (AgNPs) sintetizadas a partir do extrato aquoso do folíolo 2 (AgNPs-D-PS) e das flores (AgNPs-FL-PS) de *Paullinia cupana* coletados no período seco e do extrato aquoso do folíolo 3 (AgNPs-D-PC) de *Paullinia cupana* coletado no período chuvoso preparados por decocção, obtidos por Análise de Rastreamento de Nanopartículas (ARN).

Amostra	Diâmetro médio (nm)	Concentração (partículas/mL)
AgNPs-D-PS	68,9 ± 0,7	1,56 x 10 ⁸
AgNPs-FL-PS	61,4 ± 1,0	1,68 x 10 ¹¹
AgNPs-D-PC	78,4 ± 2,6	1,43 x 10 ¹⁰

Os valores estão representados como média ± desvio padrão da média de medidas em triplicata.

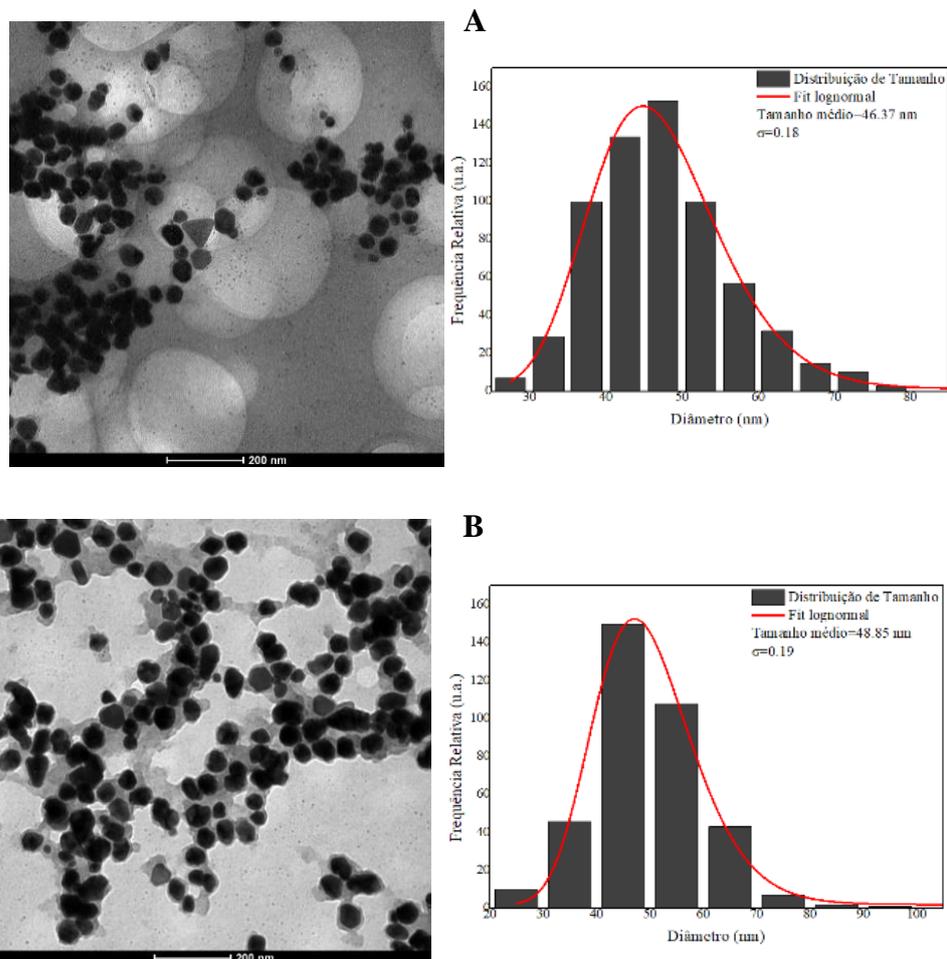
A técnica de ARN apresenta resoluções de picos bem definidas e mesmo que existam populações de partículas grandes no meio da suspensão analisada elas têm pouco impacto na precisão da medição do tamanho que é realizada (Filipe; Hawe; Jiskoot, 2010). As medidas por ARN revelaram que os diâmetros médios das AgNPs-D-PS, AgNPs-FL-PS e AgNPs-D-PC foram de 68,9 ± 0,7 nm, 61,4 ± 1,0 nm e 78,4 ± 2,6 nm, respectivamente, com concentrações de 1,56 x 10⁸, 1,68 x 10¹¹ e 1,43 x 10¹⁰ partículas/mL, respectivamente. A diferença dessa técnica em relação aos valores de

DH obtidos por DLS pode ser devido ao fato de que as distribuições de diâmetro por espalhamento de luz dinâmico são maiores por considerar a contribuição de populações de partículas de vários tamanhos (Hristov *et al.*, 2017).

Gavhane *et al.* (2012) sintetizaram AgNPs usando extratos de folhas de neem (*Azadirachta indica*) e as medições de ARN revelaram tamanho médio de 43 nm, Kharat e Mendhulkar (2016) sintetizaram AgNPs utilizando folhas de *Elephantopus scaber* (língua-de-vaca) com tamanho de 78 nm e concentração de $1,66 \times 10^8$ partículas/mL, enquanto Martins (2018) utilizou extratos aquosos de *Hibiscus sabdariffa* (hibisco) para a síntese de AgNPs e obteve um diâmetro médio de 50,12 nm e concentração de partículas de $5,93 \times 10^{10}$ AgNPs/mL, evidenciando a utilização dessa técnica para a caracterização de AgNPs advindas de diversas plantas.

2.6. Microscopia Eletrônica de Transmissão (MET)

A morfologia das AgNPs sintetizadas com folíolos e flores de guaraná e os histogramas de distribuição de tamanho de cada amostra são mostrados na Figura I-10.



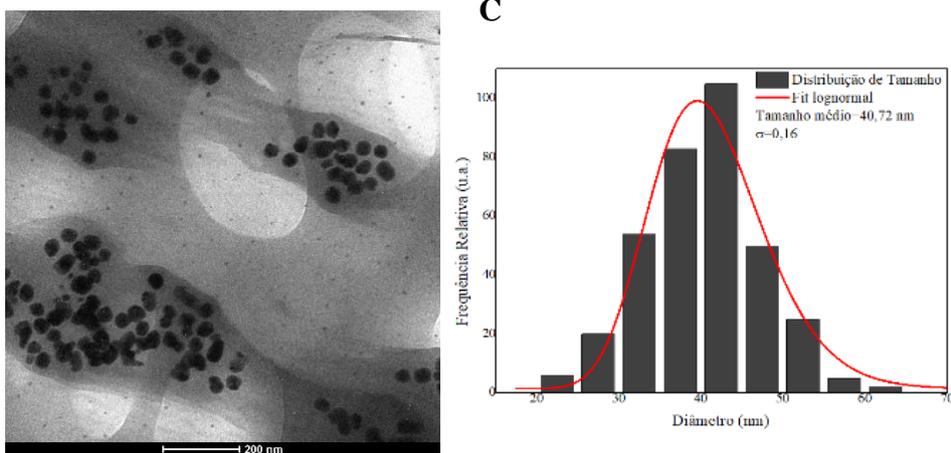


Figura I-10. Imagens obtidas por Microscopia Eletrônica de Transmissão (MET) e histogramas de distribuição de diâmetro referentes às AgNPs sintetizadas a partir do extrato aquoso do folíolo 2 – AgNPs-D-PS (A) e do extrato aquoso das flores de *Paullinia cupana* coletadas no período seco – AgNPs-FL-PS (B), além do extrato aquoso do folíolo 3 de *Paullinia cupana* coletado no período chuvoso – AgNPs-D-PC (C) preparados por decocção.

As AgNPs caracterizadas por MET apresentaram bordas regulares e bem definidas, além de morfologia predominantemente esferoidal, sendo possível observar ainda formas triangulares, hexagonais, prismáticas e anisotrópicas. O diâmetro seco alcançado por MET para as AgNPs-D-PS, AgNPs-FL-PS e AgNPs-D-PC foi de $46,37 \pm 0,18$ nm ($R^2= 0,99$), $48,85 \pm 0,19$ nm ($R^2= 0,99$) e $40,72 \pm 0,16$ nm ($R^2= 0,95$), respectivamente. Corroborando com estes resultados e tendo como base a teoria de Mie, a presença de apenas uma única banda de absorção máxima nos espectros de UV/Vis é considerada característica de nanoestruturas esféricas e, tendo essa banda diferentes comprimentos de onda, as AgNPs podem ter formatos e tamanhos distintos (Khodashenas; Ghorbani, 2019).

Os resultados descritos comprovam que apenas com a modulação da parte da planta e da forma de preparação do extrato vegetal é possível sintetizar AgNPs com características morfológicas e dimensionais diferentes. É importante ressaltar que para determinar o R^2 , os ajustes nas curvas de distribuição foram aplicados com base na distribuição *log-normal* para as AgNPs tanto do período seco quanto do chuvoso, não tendo relação com o número de partículas contabilizadas, mas demonstrando uma boa estimativa do diâmetro médio na população analisada a partir da técnica empregada.

Pesquisas recentes comprovam que a técnica de MET tem sido explorada na caracterização de nanoestruturas biogênicas sintetizadas a partir dos extratos das flores de *Jatropha integerrima* (peregrina) e *Cassia auriculata* (avaram) com diâmetros

médios de 29 e 43 nm, respectivamente (Suriyakala *et al.*, 2022; Prabula *et al.*, 2022), similarmente ao observado no presente estudo. O efeito da sazonalidade foi estudado por Albernaz (2014) na síntese de AgNPs utilizando extrato das folhas de mama-cadela (*Brosimum gaudichaudii*) coletadas no período chuvoso com diâmetro de aproximadamente 20 nm e ainda por Oliveira *et al.* (2019) ao explorar o extrato aquoso das folhas de sucupira-branca (*Pterodon emarginatus*) coletados no período seco e chuvoso e sintetizar AgNPs com 28,1 e 33,2 nm, respectivamente

A partir dos resultados de MET é possível perceber que os tamanhos das AgNPs foram menores que os observados anteriormente por DLS e ARN uma vez que nesses casos há a camada de solvatação aquosa ao redor da superfície das AgNPs, além do número de partículas contabilizadas em cada análise. Outro aspecto importante de ser ressaltado é a cobertura recobrando a superfície das nanoestruturas dando-lhes um aspecto sombreado. Esse fenômeno é característico de ser observado ao analisar nanomateriais biogênicos devido à imobilização das biomoléculas dos extratos vegetais (polissacarídeos e/ou proteínas) que atuam como estabilizadoras durante o processo de síntese das AgNPs (Ahmad; Sharma, 2012; Yassin *et al.*, 2022).

2.7. Espectroscopia por Energia Dispersiva de Raios X (EED)

O espectro dispersivo de energia é resultado de uma técnica qualitativa e quantitativa que fornece informações sobre a composição química elementar de uma amostra e, no caso de AgNPs sintetizadas por rotas de síntese verde, se torna imprescindível na avaliação do conteúdo de prata e de outros átomos que revestem a superfície das partículas, estabilizando-as. A identificação dos elementos das amostras acontece por meio das energias dispersadas pelos raios X e a intensidade dos picos aparentes reflete a quantificação dos elementos (Mani *et al.*, 2021; Mendes, 2015).

A Figura I-11 apresenta os espectros de EED das AgNPs sintetizadas por extratos de folíolos e flores de guaraná coletados no período seco e folíolos coletados no período chuvoso. Neles, a ocorrência de um pico de absorção em 3 keV, característico do efeito RPS, confirma a presença da prata nas amostras que se dispersa no início dos espectros como um dos constituintes principais (Katta; Dubey, 2021; Rizwana *et al.*, 2023).

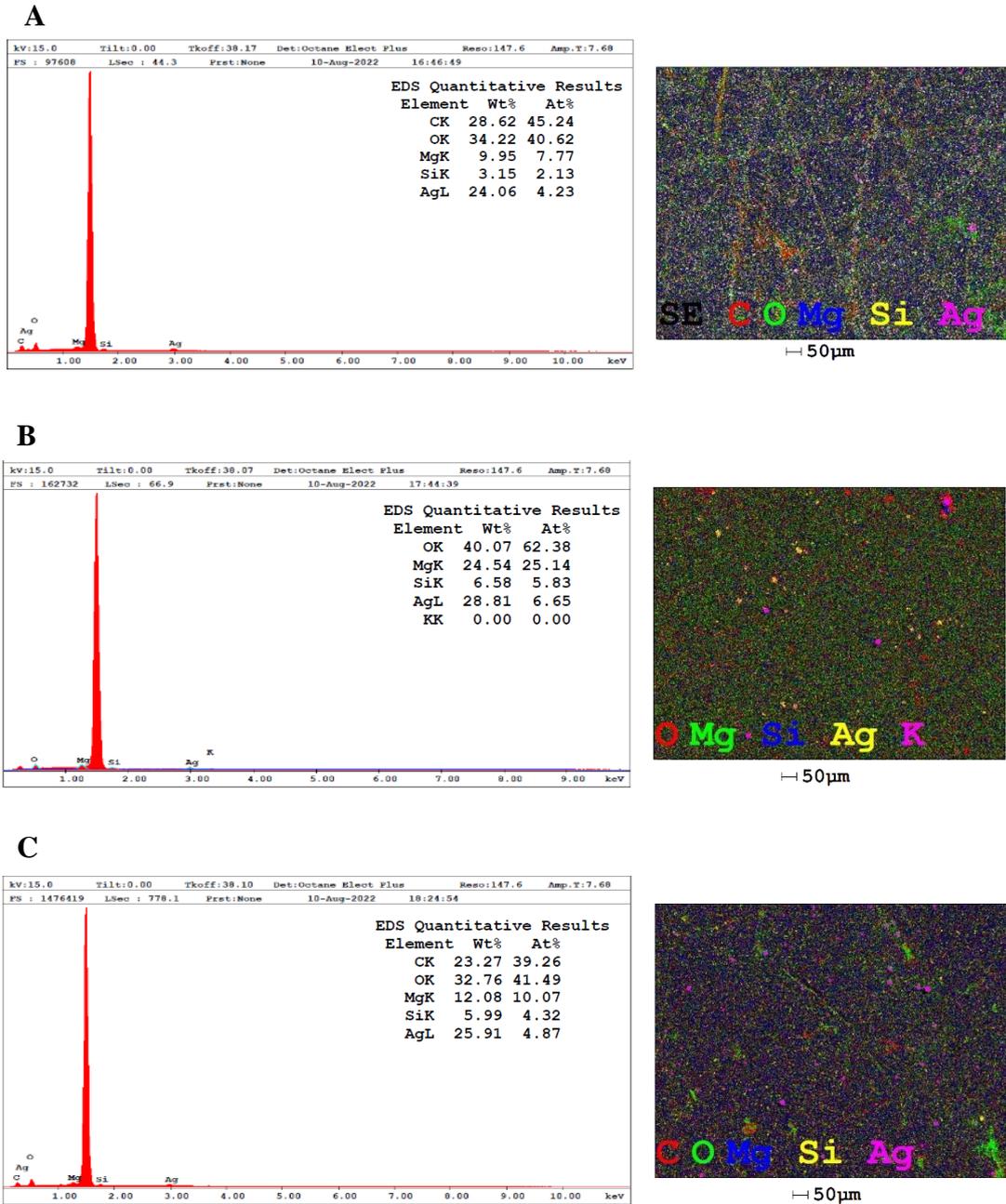


Figura I-11. Espectros por Energia Dispersiva de Raios X (EED) e mapa elementar mostrando a distribuição dos átomos presentes nas amostras de AgNPs sintetizadas a partir do extrato aquoso do folíolo 2 – AgNPs-D-PS, (A) do extrato aquoso das flores de *Paullinia cupana* coletadas no período seco – AgNPs-FL-PS (B) e do extrato aquoso do folíolo 3 de *Paullinia cupana* coletado no período chuvoso – AgNPs-D-PC (C) preparados por decocção.

A proporção, em massa, de prata é de 24,06% para as AgNPs-D-PS, 28,81% nas AgNPs-FL-PS e 25,91% para as AgNPs-D-PC. A presença de picos com a identificação dos átomos de carbono (C), oxigênio (O), magnésio (Mg), sílcio (Si) e potássio (K) pode ser consequência de resquícios dos componentes dos extratos vegetais, bem como ainda aparecerem como traços do conteúdo mineral proveniente do solo que a planta é

cultivada (Chakraborty *et al.*, 2021; Pathak *et al.*, 2021). O pico intenso em torno de 1,5 keV indica a presença de alumínio que compõe o *stub* onde as amostras foram previamente depositadas para leitura no equipamento.

2.8. Avaliação da atividade antibacteriana

A CIM e a CBM das AgNPs foram determinadas para as cepas *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus*. Os resultados estão compilados na Tabela I-12.

Tabela I-12. Atividade antibacteriana de nanopartículas de prata (AgNPs) sintetizadas a partir do extrato aquoso do folíolo 2 (AgNPs-D-PS) e das flores (AgNPs-D-FL) de *Paullinia cupana* coletados no período seco e do extrato aquoso do folíolo 3 (AgNPs-D-PC) coletado no período chuvoso preparados por decocção.

Amostras	<i>Escherichia coli</i>		<i>Staphylococcus aureus</i>	
	CIM	CBM	CIM	CBM
AgNPs-D-PS	2,65	2,65	10,6	21,25
AgNPs-D-FL	5,3	5,3	10,6	21,25
AgNPs-D-PC	10,6	10,6	10,6	10,6
AgNO ₃	10,6	21,25	10,6	10,6

Concentração inibitória mínima: CIM: µg/mL; Concentração bactericida mínima: CBM: µg/mL.

As AgNPs-D-PS e AgNPs-D-FL apresentaram melhores atividades contra a bactéria Gram-negativa *Escherichia coli* dados os resultados quanto à ação inibitória e bactericida (2,65 a 5,3 µg/mL), enquanto as AgNPs-D-PC tiveram CIM e CBM de 10,6 µg/mL que foi o mesmo observado em relação à atividade contra a bactéria *Staphylococcus aureus*. Essa cepa Gram-positiva apresentou-se mais resistente aos tratamentos empregados já que foram necessários 21,25 µg/mL para obter efeitos bactericidas na maioria das amostras testadas. A susceptibilidade das bactérias ao AgNO₃ revelou que *Escherichia coli* foi mais resistente ao tratamento com o sal metálico em comparação à maioria das amostras de AgNPs. Em relação à bactéria *Staphylococcus aureus*, a eficácia do AgNO₃ foi igual ou superior à observada pelas AgNPs biogênicas.

Esses resultados estão de acordo com estudos prévios que relatam maior susceptibilidade das bactérias Gram-negativas às AgNPs devido sua parede celular ser composta por uma única camada de peptidoglicano, sendo então menos rígida e favorecendo a entrada de agentes como as partículas em escala nanométrica (Veeramani *et al.*, 2018; Yin *et al.*, 2020). Dessa forma, pode-se indicar que a ação causada pelas

AgNPs biogênicas independe do período sazonal ou parte da planta, causando atividades antibacterianas distintas e que as AgNPs sintetizadas nesse estudo se tornam candidatas ideais para aplicações em diversas áreas, como por exemplo na indústria alimentícia e da saúde, combatendo microrganismos causadores de infecções e resistentes aos medicamentos utilizados na prática clínica.

Por sua vez, os extratos aquosos de guaraná não tiveram atividade antibacteriana dentro da faixa de concentrações testadas (dados não mostrados). Alguns fatores podem ter influenciado nesses resultados, entre eles, (i) a quantidade de extrato utilizado nas sínteses (1 mg/mL) que pode ter sido ainda menor uma vez que após a filtração apenas as moléculas realmente extraídas permanecem, (ii) o método de extração das biomoléculas dos extratos que pode limitar as concentrações dos compostos responsáveis por tal atividade, (iii) além dos fatores sazonais e (iv) o método empregado na determinação da atividade antimicrobiana (Gobbo-Neto, 2007; Kischkel *et al.*, 2018; Ramos, 2018; Selvam *et al.*, 2017).

No estudo de Bonilla e Sobral (2017) foi relatada ação antibacteriana contra *Staphylococcus aureus* promovida por extratos de sementes de guaraná, enquanto Basile *et al.* (2005) verificaram que os extratos da semente de guaraná expressaram CIM de 32 µg/mL e 64 µg/mL para as bactérias *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus*, respectivamente.

3. CONCLUSÃO

Neste capítulo demonstrou-se a síntese de AgNPs utilizando uma abordagem sustentável, simples e rápida a partir de extratos aquosos dos folíolos e flores de *Paullinia cupana*. Ao avaliar os diferentes métodos de preparo dos extratos vegetais, notou-se uma maior influência daqueles que fazem uso de temperatura durante o processo, com destaque para a elucidação de alcaloides e flavonoides como compostos majoritários, desempenhando efeitos diretos na biorredução e estabilização das AgNPs. Além disso, a diferença sazonal e a parte da planta utilizada correlacionam-se diretamente ao rendimento das AgNPs, bem como em seus diâmetros hidrodinâmicos, podispersividade, concentração, morfologias e potenciais Zeta, demonstrando que tais características podem ser alteradas visando selecionar nanoestruturas para determinadas aplicações. Adicionalmente, as AgNPs apresentaram ação antibacteriana expressiva contra *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus* de maneira superior àquela demonstrada pelo controle positivo (solução aquosa de AgNO₃).

CAPÍTULO II – Otimização dos parâmetros reacionais na síntese verde de AgNPs

1. OBJETIVOS DO CAPÍTULO II

- Sintetizar AgNPs utilizando extratos aquosos de folhas de guaraná alterando os parâmetros reacionais durante a síntese verde (concentração de extrato aquoso, concentração de AgNO₃, temperatura da síntese, equipamento e/ou fonte de energia empregados na síntese);
- Caracterizar as AgNPs por meio de aspectos visuais das colorações das misturas reacionais e por técnicas visando à determinação dos perfis de Ressonância Plasmônica de Superfície (RPS) (análise espectrofotométrica por Ultravioleta Visível – UV/Vis); diâmetro hidrodinâmico e índice de polidispersividade (espalhamento de luz dinâmico, do inglês *Dynamic Light Scattering* – DLS) e potencial Zeta (mobilidade eletroforética).

2. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Ao analisar os diferentes parâmetros envolvidos na síntese verde de AgNPs utilizando como precursores os extratos vegetais, encontram-se lacunas quanto às combinações entre eles que resultam em AgNPs com as melhores características de rendimento, tamanho, forma, estabilidade, além de aplicações biológicas, uma vez que cada planta tem composições fitoquímicas altamente complexas (Anand *et al.*, 2015; Jain; Mehata, 2017). Portanto, o controle desses parâmetros, bem como a rota de síntese das AgNPs, pode influenciar nos processos de reprodutibilidade tendo em vista que cada nanomaterial é único e os mecanismos envolvidos a partir da utilização de diferentes compostos fitoquímicos utilizados na síntese verde ainda não são totalmente conhecidos. Dentre esses parâmetros, a concentração do extrato vegetal, a concentração do sal metálico, a temperatura da reação e o equipamento/fonte de energia foram avaliados no intuito de otimizar a síntese de AgNPs utilizando extratos aquosos de folhas de *Paullinia cupana* e os resultados são apresentados a seguir.

Vale ressaltar que, para esse capítulo, foi escolhida a amostra de AgNPs sintetizada a partir do extrato aquoso do folíolo 2 de *Paullinia cupana* coletado no período seco e preparado por decocção (Tabela 3 do tópico “Material e Métodos”). A parte vegetativa (folíolos) foi a escolhida para dar continuidade à pesquisa devido estar disponível ao longo de todo o ano na planta, diferentemente das flores (parte reprodutiva) que têm um período específico para sua ocorrência. Além disso, outro aspecto levado em consideração foi que os resultados de caracterização e das atividades

biológicas apresentadas no Capítulo I para as AgNPs sintetizadas por extratos de folíolos e flores não diferiram de maneira considerável. Por sua vez, o período sazonal escolhido para ser abordado nesse capítulo foi o período seco devido a essa etapa da pesquisa ter sido realizada em seguida à coleta do material vegetal desse período do ano.

2.1. Síntese com variação na concentração do extrato aquoso

2.1.1. Análises visuais e espectrofotométricas por UV/Vis

A variabilidade de agentes redutores presentes nos extratos vegetais utilizados na síntese biogênica de AgNPs é um dos fatores mais importantes na padronização dos protocolos experimentais dada às propriedades de cada planta, além da parte vegetal utilizada durante as reações (Moteriya *et al.*, 2016; Zayed *et al.*, 2015). Nesse sentido, foram realizadas sínteses sob temperatura de 70 °C, com incubação em banho-maria por 180 minutos e com o AgNO₃ na concentração de 1 mM utilizando extratos aquosos da parte vegetativa de *Paullinia cupana* (folhas) nas concentrações de 0,5, 1, 2, 4 e 8 mg/mL equivalentes ao extrato bruto previamente preparado a 100 mg/mL.

De acordo com o observado na Figura II-1A, todas as reações de síntese apresentaram mudanças de coloração do meio reacional, sendo mais visível à medida em que a concentração do agente redutor aumentava e esse pode ser considerado um dos primeiros aspectos observados durante a síntese das AgNPs biogênicas, conforme também foi descrito previamente (Pupe; Silva, 2021; Sherin *et al.*, 2020). Além disso, ao avaliar a cinética de síntese das AgNPs por meio de espectroscopia de UV/Vis a 450 nm, foi observado aumento na intensidade de absorbância durante o tempo de síntese proporcional ao aumento da concentração do extrato aquoso, como é demonstrado na Figura II-1B.

Tais resultados indicam que o aumento da concentração de extrato vegetal favorece um maior rendimento durante a síntese de AgNPs, enquanto nenhum aumento de absorbância foi visto para os controles experimentais (solução aquosa de AgNO₃ e de extratos aquosos – dados não mostrados). Velmurugan *et al.* (2014) relatam que ao aumentar a quantidade de extrato aquoso de gengibre (*Zingiber officinale*) e, consequentemente de metabólitos secundários, as AgNPs são mais rapidamente sintetizadas do que quando menores concentrações são utilizadas, tornando a síntese incompleta.

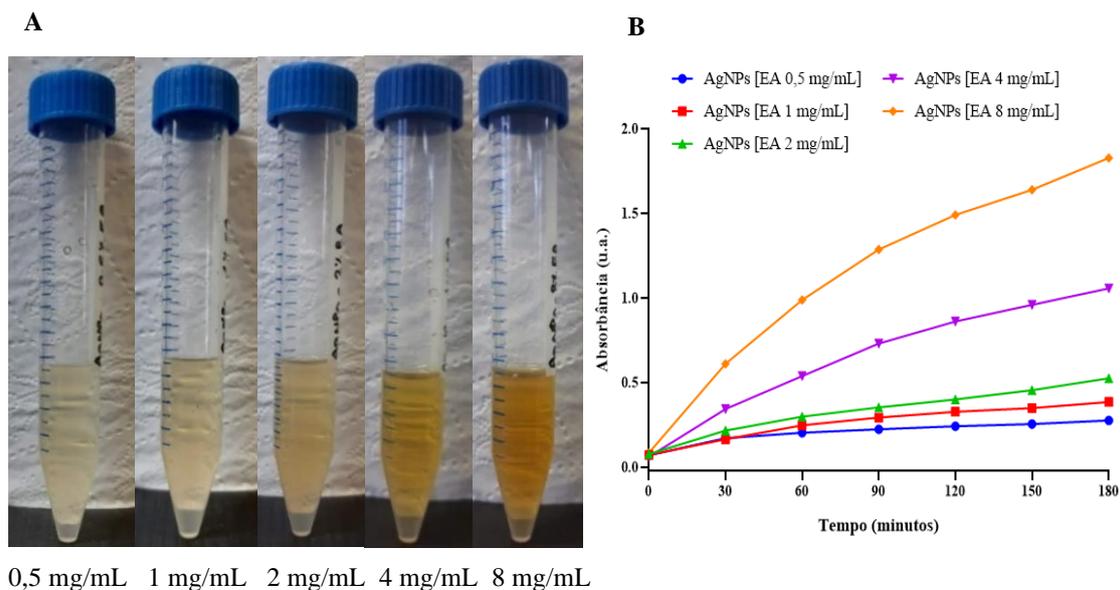


Figura II-1. (A) Registro visual da coloração das suspensões de nanopartículas de prata (AgNPs) após 180 minutos de reação empregando diferentes concentrações do extrato aquoso das folhas de *Paullinia cupana*. (B) Curvas cinéticas de monitoramento da síntese de AgNPs a 450 nm, obtidas durante 180 minutos, a 70 °C em banho-maria, com AgNO_3 a 1 mM utilizando extrato aquoso (EA) das folhas de *Paullinia cupana* em diferentes concentrações.

As análises por UV/Vis também foram realizadas após 180 minutos para caracterizar e confirmar a síntese de AgNPs por meio das bandas de máxima absorção entre 350 e 550 nm (FIGURA II-2). Essa investigação é importante porque os metabólitos secundários vegetais podem ser um fator limitante durante a síntese comprometendo as etapas que levam à síntese das AgNPs, resultando em partículas com diferentes formas e tamanhos e, conseqüentemente, com bandas de absorção máxima diferentes (Pimpan; Ritthichai, 2016).

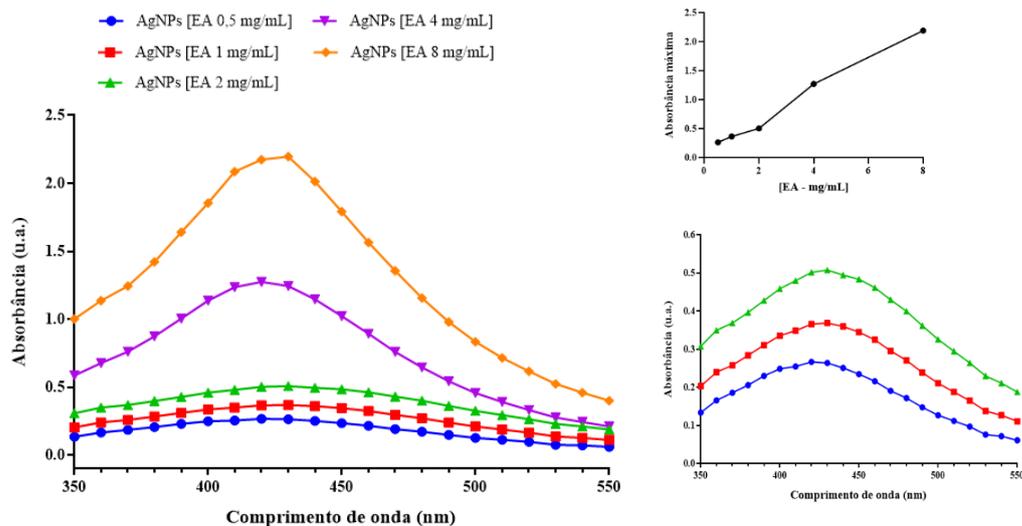


Figura II-2. Curvas de absorção das nanopartículas de prata (AgNPs) após 180 minutos de síntese, a 70 °C em banho-maria, com AgNO_3 a 1 mM utilizando extrato aquoso (EA) das folhas de *Paullinia cupana* em diferentes concentrações. A inserção na parte superior direita do espectro mostra o aumento da intensidade de absorção em função da concentração de extrato aquoso e a inserção na parte inferior direita é uma apresentação de intervalo com escala de absorbância ampliada no intuito de melhorar a visualização das bandas de absorção formadas para as três menores concentrações do extrato aquoso.

Várias biomoléculas podem desempenhar papel redutor e estabilizador das AgNPs em suspensão e como as plantas têm composições fitoquímicas complexas há um comportamento distinto durante as reações de síntese (Tamilselvi *et al.*, 2012). Como indicado, a banda característica de máxima absorbância foi em 420 nm para as AgNPs com extratos na concentração de 0,5 mg/mL e 4 mg/mL, enquanto para as AgNPs com 1 mg/mL, 2 mg/mL e 8 mg/mL essa banda foi em 430 nm, corroborando com o que sugerem Singh *et al.* (2018) sobre a prata metálica exibir características de absorbância em torno desses comprimentos de onda.

Já em relação à intensidade das bandas, esta foi maior à medida em que a concentração do extrato aquoso aumentava, variando de 0,267 u.a. na concentração de 0,5 mg/mL e 2,196 u.a. na concentração de 8 mg/mL, mostrando correlação direta entre as bandas de RPS formadas e a quantidade de metabólitos presentes na síntese, similarmente ao que foi mostrado por Nguyen *et al.* (2021) e Seifipour, Nozari e Pishkar (2020) utilizando extratos de *Passiflora edulis* (maracujá) e *Tragopogon collinus*, respectivamente. Este fato sugere que, até certo ponto, possa haver uma competição entre a redução dos íons Ag^+ e a sua complexação com os metabólitos vegetais, por exemplo como demonstrado por Souza e Giovani (2004) ao comprovar efeitos sinérgicos de flavonoides complexados com íons metálicos na eliminação de radicais livres.

2.1.2. Avaliação por meio de DLS e potencial Zeta de superfície

As propriedades dimensionais e elétricas das AgNPs sintetizadas com a utilização de diferentes concentrações do extrato aquoso das folhas de *Paullinia cupana* foram analisadas em relação ao diâmetro hidrodinâmico (DH), índice de polidispersividade (PdI) e potencial Zeta de superfície (PtZ) no dia da síntese e após 24 horas, com armazenamento das AgNPs sob duas condições: temperatura ambiente (~ 22 °C) e em geladeira (~ 4 °C) (TABELA II-1).

Tabela II-1. Valores de diâmetro hidrodinâmico (DH), índice de polidispersividade (PdI) e potencial Zeta de superfície (PtZ) de nanopartículas de prata (AgNPs) sintetizadas a partir de extratos aquosos dos folíolos de *Paullinia cupana* em diferentes concentrações, no dia da síntese (D0) e após 24 horas com armazenamento à temperatura ambiente (D1 – TA) e em geladeira (D1 – GEL).

Tempo/armazenamento	DH	PdI	PtZ
	0,5 mg/mL		
D0	53,15 ± 2,7 ^a	0,533 ± 0,036	-27,5 ± 1,83 ^b
D1 – TA	79,57 ± 2,1 ^c	0,527 ± 0,038	-35,8 ± 0,265 ^a
D1 – GEL	65,07 ± 2,9 ^b	0,520 ± 0,064	-38,0 ± 3,74 ^a
1 mg/mL			
D0	57,78 ± 1,1 ^a	0,488 ± 0,010 ^a	-35,4 ± 1,0 ^a
D1 – TA	67,77 ± 1,6 ^b	0,506 ± 0,017 ^{a,b}	-32,3 ± 0,2 ^b
D1 – GEL	72,39 ± 1,1 ^c	0,525 ± 0,012 ^b	-34,3 ± 0,8 ^a
2 mg/mL			
D0	68,63 ± 4,8 ^a	0,473 ± 0,026	-21,8 ± 2,8 ^b
D1 – TA	64,94 ± 0,8 ^a	0,485 ± 0,004	-37,7 ± 1,1 ^a
D1 – GEL	78,03 ± 1,9 ^b	0,511 ± 0,028	-35,6 ± 0,3 ^a
4 mg/mL			
D0	66,30 ± 0,8 ^b	0,484 ± 0,005	-36,2 ± 0,4
D1 – TA	58,31 ± 2,5 ^a	0,486 ± 0,045	-34,0 ± 0,4
D1 – GEL	55,69 ± 0,1 ^a	0,444 ± 0,011	-33,8 ± 1,8
8 mg/mL			
D0	65,13 ± 0,2 ^{a,b}	0,419 ± 0,031	-32,2 ± 1,1 ^b
D1 – TA	62,36 ± 1,2 ^a	0,396 ± 0,054	-29,8 ± 0,8 ^a
D1 – GEL	66,41 ± 2,0 ^b	0,468 ± 0,025	-31,5 ± 0,9 ^{a,b}

Os valores estão representados como média ± desvio padrão da média de medidas em triplicata. Análise estatística: teste *One-way* ANOVA ($p < 0,05$), seguido do teste de Tukey. Letras diferentes dentro de cada parâmetro para cada grupo de AgNPs nas diferentes concentrações do extrato aquoso indicam resultados estatisticamente diferentes. Valores sem letras dentro de cada parâmetro para cada grupo de AgNPs nas diferentes concentrações do extrato aquoso indicam que não há diferenças estatísticas.

A partir da Tabela II-1 pode-se observar que o DH das AgNPs aumentou nas concentrações de 0,5 mg/mL e 1 mg/mL após 24 horas em relação àqueles medidos no dia da síntese. Diferentemente, quando a concentração foi de 4 mg/mL, os valores de DH diminuem após 24 horas. Já para as concentrações de 2 mg/mL e 8 mg/mL,

nenhuma correlação pôde ser obtida quanto ao DH das AgNPs sintetizadas e as medidas resultaram em AgNPs com DH menor que 100 nm. De acordo com Rastogi e Arunachalam (2013), a estabilização das AgNPs biogênicas pode ser controlada apenas a partir da modificação nas concentrações dos extratos biológicos por meio do fenômeno de impedimento estérico que é facilitado pela ancoragem de grandes biomoléculas à superfície das nanoestruturas, formando uma camada física de proteção e evitando interações entre as partículas, controlando a agregação entre elas.

Em relação ao PDI, os valores medidos estavam entre 0,396 e 0,533 e somente nas leituras das AgNPs sintetizadas com a concentração de 1 mg/mL observou-se diferença significativa ($p < 0,05$) entre o valor medida inicial com o valor da alíquota armazenada em geladeira após um dia de síntese. No geral, maiores concentrações de extratos aquosos indicam que mais biomoléculas estão disponíveis no meio reacional para proteger as AgNPs de agregação, enquanto menores concentrações, mesmo reduzindo os íons de prata, não podem protegê-los de processos de acúmulo e aglomeração devido à baixa quantidade de moléculas bioativas (Rehman *et al.*, 2023). Sobre o PtZ, a maioria dos valores obtidos representam estabilidade satisfatória, sendo acima de -30 mV, aumentando após 24 horas apenas nas amostras de AgNPs sintetizadas com 0,5 mg/mL e 2 mg/mL de extrato aquoso em ambas as condições de armazenamento.

Todas as concentrações do extrato aquoso de folhas de *Paullinia cupana* testadas no presente trabalho propiciaram a síntese bem-sucedida de AgNPs biogênicas sob o ponto de vista de intensidade de absorvância e características físico-químicas, destacando-se que, ao aumentar a concentração de extrato aquoso, o rendimento da síntese também aumentava. Com isso, visando o estudo dos demais parâmetros de síntese e afim de evitar que altas concentrações do extrato aquoso resultem na geração de resquícios das biomoléculas quando em combinação com o sal metálico, a concentração intermediária de 2 mg/mL foi escolhida para os experimentos posteriores.

2.2. Síntese com variação na concentração de AgNO₃

2.2.1. Análises visuais e espectrofotométricas por UV/Vis

A variação nas concentrações do sal metálico pode influenciar em características de tamanho e morfologia, além disso, visando a obtenção de um processo de nucleação homogêneo é importante que a concentração escolhida não seja limitante à síntese das AgNPs (Chou; Lu; Lee, 2005; Kang *et al.*, 2018). No presente estudo, foram realizadas sínteses de AgNPs sob temperatura de 70 °C em banho-maria, utilizando a concentração otimizada de 2 mg/mL de extrato aquoso das folhas de *Paullinia cupana* e variando a concentração de AgNO₃ entre 0,5, 1, 2, 3 e 4 mM.

De acordo com a Figura II-3A, não foram detectadas mudanças aparentes na coloração das suspensões com base em diferentes concentrações do sal metálico, sugerindo que a quantidade de extrato vegetal utilizado nessa etapa de otimização apenas conseguia responder à biorredução e estabilização dos íons Ag⁺ até um limite, diferentemente do demonstrado nos estudos de Das *et al.* (2022) e Ullah *et al.* (2020) onde as variações na intensidade de coloração relacionadas à síntese de AgNPs utilizando extratos aquosos de *Humulus lupulus* (lúpulo) e *Fagonia indica* (dhamasa) foram observadas na faixa entre 1 a 8 mM e 1 a 15 mM, respectivamente.

Por meio das curvas cinéticas, as análises de UV/Vis a 450 nm demonstram que as sínteses das AgNPs ao longo de 180 minutos têm um comportamento em que, com o aumento do tempo de incubação, há um aumento da intensidade de absorvância em todas as amostras e conseqüentemente no potencial redutor dos íons Ag⁺ (FIGURA II-3B) ao mesmo tempo em que os controles experimentais (apenas solução aquosa de AgNO₃ nas mesmas concentrações testadas para a síntese das AgNPs) não apresentaram mudança na intensidade de absorção ao longo do tempo (dados não mostrados). Parmar *et al.* (2019) relatam que ao aumentar a concentração de AgNO₃ de 0,5 a 2 mM é possível observar um aumento na taxa de síntese das AgNPs sintetizadas a partir de extratos de jamelão (*Syzygium cumini*), conforme também demonstrado no presente estudo.

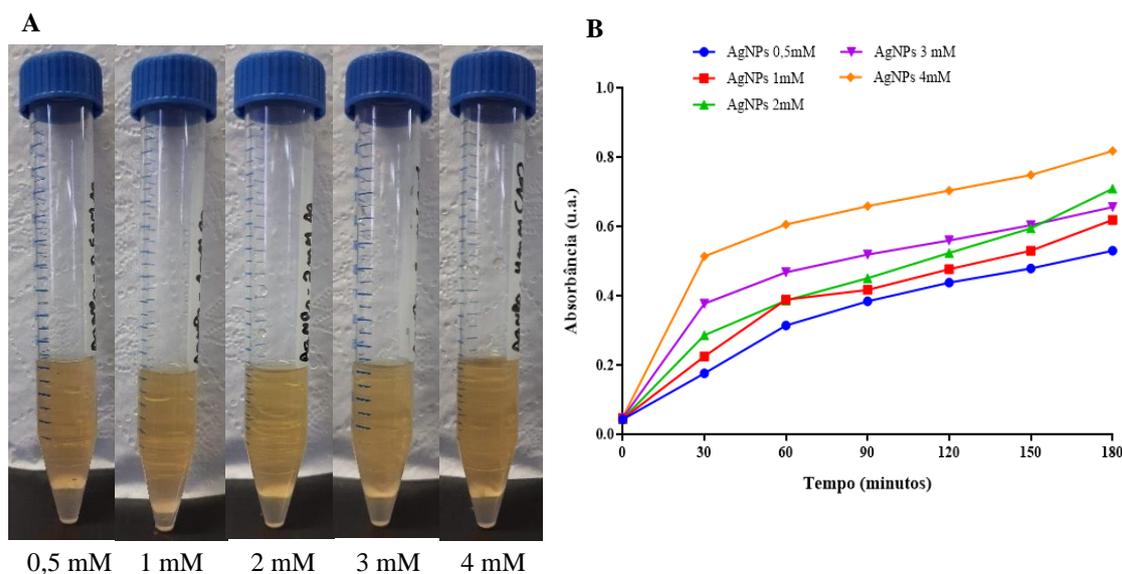


Figura II-3. (A) Registro visual da coloração das suspensões de nanopartículas de prata (AgNPs) após 180 minutos de reação empregando 2 mg/mL de extrato aquoso das folhas de *Paullinia cupana* e diferentes concentrações do AgNO₃. (B) Curvas cinéticas de monitoramento da síntese de AgNPs a 450 nm, obtidas durante 180 minutos, a 70 °C em banho-maria, com 2 mg/mL de extrato aquoso das folhas de *Paullinia cupana* e diferentes concentrações do AgNO₃.

As curvas de absorção espectrofotométricas foram investigadas por UV/Vis na faixa entre 350 e 550 nm e os resultados são mostrados na Figura II-4.

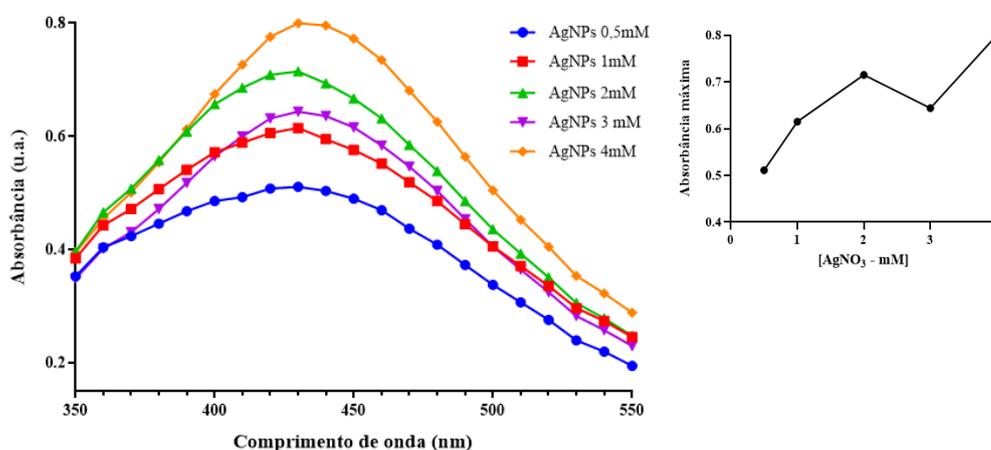


Figura II-4. Curvas de absorção das nanopartículas de prata (AgNPs) após 180 minutos de síntese, a 70 °C em banho-maria, empregando 2 mg/mL de extrato aquoso das folhas de *Paullinia cupana* e diferentes concentrações de AgNO₃. A inserção ao lado do espectro mostra a intensidade de absorção em função da concentração de AgNO₃.

O aumento nas intensidades de absorbância, proporcional à concentração do sal metálico, pode ser devido a um aumento na formação de núcleos que resulta na síntese de um maior número de AgNPs, o que é causado por uma maior probabilidade de choque entre os íons Ag⁺ com os agentes redutores vegetais e posterior síntese das

AgNPs (Islam *et al.*, 2019). A variação na concentração do sal metálico não promoveu alterações nas bandas de absorção máxima das AgNPs, uma vez que para todas as amostras a maior intensidade foi em 430 nm (FIGURA II-4), corroborando com pesquisas anteriores que utilizaram AgNPs sintetizadas por extratos de *Hagenia abyssinica* (kosso) e *Cleome viscosa* (flor-aranha asiática) em que a faixa de concentração do sal metálico testada foi similar à relatada no presente estudo (0,5 a 6 mM) e as bandas de absorção máxima foram em comprimentos de onda entre 400 e 450 nm (Melkamu; Bitew, 2021; Yarrappagaari *et al.*, 2020).

No entanto, quanto à intensidade de absorbância, essa foi maior para as misturas reacionais contendo 4 mM (0,8 u.a.) e 2 mM (0,715 u.a.) e, de fato, baixas concentrações de sal metálico podem esgotar rapidamente os íons Ag^+ a serem reduzidos, resultando em picos com menores intensidades (Karekalammanavar; David, 2018; Sila *et al.*, 2019). Além disso, Nakhjavani *et al.* (2017) relataram que sob maiores concentrações de precursor metálico o rendimento das AgNPs pode diminuir a partir da desestabilização das partículas com aumento de agregação e precipitação, podendo ser essa a explicação para a menor intensidade de absorção na concentração de 3 mM (0,644 u.a.) observada no presente estudo.

2.2.2. Avaliação por meio de DLS e potencial Zeta de superfície

A caracterização coloidal por espalhamento de luz dinâmico (DH e PdI) e potencial Zeta de superfície (PtZ) das AgNPs obtidas por meio da utilização de diferentes concentrações do sal metálico é apresentada na Tabela II-2 em relação aos valores obtidos no dia da síntese e após 24 horas de armazenamento das AgNPs à temperatura ambiente ($\sim 22\text{ }^\circ\text{C}$) e em geladeira ($\sim 4\text{ }^\circ\text{C}$).

Tabela II-2. Valores de diâmetro hidrodinâmico (DH), índice de polidispersividade (PdI) e potencial Zeta de superfície (PtZ) de nanopartículas de prata (AgNPs) sintetizadas a partir de extratos aquosos dos folíolos de *Paullinia cupana* em diferentes concentrações do AgNO₃, no dia da síntese (D0) e após 24 horas com armazenamento à temperatura ambiente (D1 – TA) e em geladeira (D1 – GEL).

Tempo/armazenamento	DH	PdI	PtZ
	0,5 mM		
D0	53,52 ± 0,8 ^a	0,576 ± 0,005	-34,6 ± 0,7 ^a
D1 – TA	45,46 ± 2,7 ^b	0,694 ± 0,189	-29,2 ± 2,8 ^{a,b}
D1 – GEL	52,35 ± 2,7 ^a	0,557 ± 0,075	-28,1 ± 3,4 ^b
1 mM			
D0	52,97 ± 0,9 ^a	0,539 ± 0,044	-34,3 ± 0,9
D1 – TA	59,25 ± 1,4 ^b	0,538 ± 0,048	-30,9 ± 3,2
D1 – GEL	70,89 ± 1,5 ^c	0,531 ± 0,019	-30,1 ± 1,3
2 mM			
D0	65,39 ± 1,2 ^a	0,461 ± 0,006	-33,9 ± 0,5 ^a
D1 – TA	68,08 ± 2,1 ^a	0,446 ± 0,013	-29,5 ± 3,8 ^{a,b}
D1 – GEL	70,70 ± 2,3 ^b	0,473 ± 0,032	-28,2 ± 0,5 ^b
3 mM			
D0	90,16 ± 1,3 ^b	0,343 ± 0,043	-28,7 ± 2,6 ^a
D1 – TA	98,27 ± 1,9 ^a	0,383 ± 0,036	-27,7 ± 1,1 ^{a,b}
D1 – GEL	99,45 ± 1,2 ^a	0,301 ± 0,009	-24,1 ± 1,3 ^b
4 mM			
D0	168,7 ± 1,7 ^b	0,282 ± 0,014	-32,5 ± 2,1
D1 – TA	158,3 ± 2,8 ^a	0,266 ± 0,014	-32,0 ± 0,8
D1 – GEL	162,5 ± 1,7 ^a	0,276 ± 0,015	-31,1 ± 2,9

Os valores estão representados como média ± desvio padrão da média de medidas em triplicata. Análise estatística: teste *One-way* ANOVA ($p < 0,05$), seguido do teste de Tukey. Letras diferentes dentro de cada parâmetro para cada grupo de AgNPs nas diferentes concentrações de AgNO₃ indicam resultados estatisticamente diferentes. Valores sem letras dentro de cada parâmetro para cada grupo de AgNPs nas diferentes concentrações de AgNO₃ indicam que não há diferenças estatísticas.

Os valores apresentados na Tabela II-2 mostram que o DH teve diferenças estatisticamente significativas ($p < 0,05$) entre as medições no dia da síntese e após 24 horas para todas as concentrações, variando apenas em relação à condição de armazenamento, com destaque para as alíquotas deixadas sob temperatura ambiente que resultaram em um DH menor independente da concentração do sal metálico utilizada.

Adicionalmente, foi possível modular o diâmetro das partículas uma vez que as menores concentrações do sal metálico empregadas nas misturas reacionais resultaram em AgNPs de menores tamanhos. Do contrário, nas maiores concentrações, o tamanho médio obtido para as AgNPs era maior, o que foi demonstrado também no estudo de Shirzadi-Ahodashti *et al.* (2021a) com AgNPs sintetizadas a partir do extrato das folhas de *Stachys inflata* ao utilizar 8 mM de AgNO₃ e obter diâmetro médio entre 75-125 nm e no estudo de Shirzadi-Ahodashti *et al.* (2021b) que sintetizaram AgNPs com diâmetro

médio entre 70-120 nm utilizando o extrato de *Convolvulus fruticosus* empregando 9 mM do sal metálico. Isso já foi descrito anteriormente como um fenômeno observado devido à presença dos íons Ag^+ na superfície dos núcleos pré-formados e que leva ao processo de redução secundária com a síntese de AgNPs maiores, provavelmente a partir da aglomeração entre elas (Aadil *et al.*, 2016; Ghoshal; Singh, 2022).

Em relação ao PDI, houve modulação em relação aos diferentes grupos de AgNPs uma vez que quanto maior era a concentração do sal metálico, menor era o valor de PDI, indicando homogeneidade nas populações das nanoestruturas e levando a crer que maiores concentrações do sal metálico favorecem as etapas de crescimento e estabilização das nanoestruturas na suspensão aquosa. Corroborando com esses resultados, Ombredane (2016) sintetizou AgNPs a partir do extrato aquoso de açafrão (*Curcuma longa*) e ao utilizar o sal metálico na concentração de 0,5 mM verificou que as AgNPs tinham PDI de 0,403, enquanto as AgNPs sintetizadas a partir da concentração de 1 mM do sal metálico tiveram PDI de 0,294.

O PtZ foi considerado satisfatório e não apresentou correlação direta entre os dados obtidos e as concentrações de sal metálico utilizadas, no entanto, os valores após um dia de síntese diminuem, em módulo, sendo que aqueles medidos após 24 horas de armazenamento na geladeira são significativamente diferentes ($p < 0,05$) dos valores obtidos inicialmente ao utilizar as concentrações de 0,5 mM, 2 mM e 3 mM. Outro fator a ser destacado é que, independentemente da concentração do sal metálico, as leituras das alíquotas armazenadas sob temperatura ambiente resultaram em AgNPs com maior valor, em módulo, em comparação àquelas mantidas em geladeira.

Em resumo, foi possível sintetizar AgNPs alterando as concentrações de AgNO_3 com características satisfatórias a partir de análises por UV/Vis e propriedades coloidais. Dessa forma, em consenso com os demais parâmetros de otimização no presente estudo e no intuito de não utilizar concentrações excessivas do sal metálico que possam favorecer uma redução incompleta e a presença de prata iônica livre, a concentração escolhida para a continuação da pesquisa foi a de 2 mM de AgNO_3 .

2.3. Síntese com variação de temperatura

2.3.1. Análises visuais e espectrofotométricas por UV/Vis

A temperatura é um fator essencial durante o processo de nucleação dos íons Ag^+ para a síntese das AgNPs uma vez que controla a cinética de reação no processo de síntese. Ao explorar temperaturas específicas pode haver o controle do tamanho e morfologia das AgNPs sintetizadas levando em consideração o fenômeno de fusão entre as partículas (Chauhan; Upadhyay, 2012; Jiang *et al.*, 2011). Para determinar o efeito da temperatura reacional, as reações foram incubadas em banho-maria por 180 minutos nas temperaturas de 37 °C, 50 °C, 70 °C e 90 °C, com o extrato aquoso das folhas de *Paullinia cupana* a 2 mg/mL e concentração de AgNO_3 fixada em 2 mM.

De acordo com a Figura II-5A pode-se observar que todas as suspensões de AgNPs mudaram a coloração para um tom amarelo conforme a temperatura aumentava, similarmente ao observado no estudo de Rather *et al.* (2022) explorando a síntese de AgNPs a partir do extrato aquoso de *Cuphea carthagenensis* (sete-sangrias) com a temperatura variando de 15 °C a 55 °C, indicando a influência desse parâmetro na síntese das AgNPs por meio da biorredução dos íons Ag^+ pelas biomoléculas do extrato.

O monitoramento da síntese, com leituras de absorbância das amostras em UV/Vis a 450 nm, foi realizado durante a incubação das misturas reacionais em diferentes temperaturas (FIGURA II-5B). As curvas cinéticas demonstraram que as AgNPs sintetizadas sob temperatura de 90 °C apresentaram valor de absorbância após 30 minutos muito próximo aos valores das demais temperaturas de reação após 180 minutos, indicando um provável maior rendimento na síntese das AgNPs, mesmo que não completamente estáveis em suspensão. Além disso, na temperatura de 90° C, o valor de intensidade de absorbância aos 180 minutos foi quase o dobro observado nas temperaturas intermediárias (50 °C e 70 °C), enquanto, sob a temperatura de 37 °C, a absorbância permaneceu sem alterações ao longo desse mesmo período, similarmente aos dados obtidos para os controles experimentais (solução de AgNO_3 e extratos vegetais – dados não mostrados).

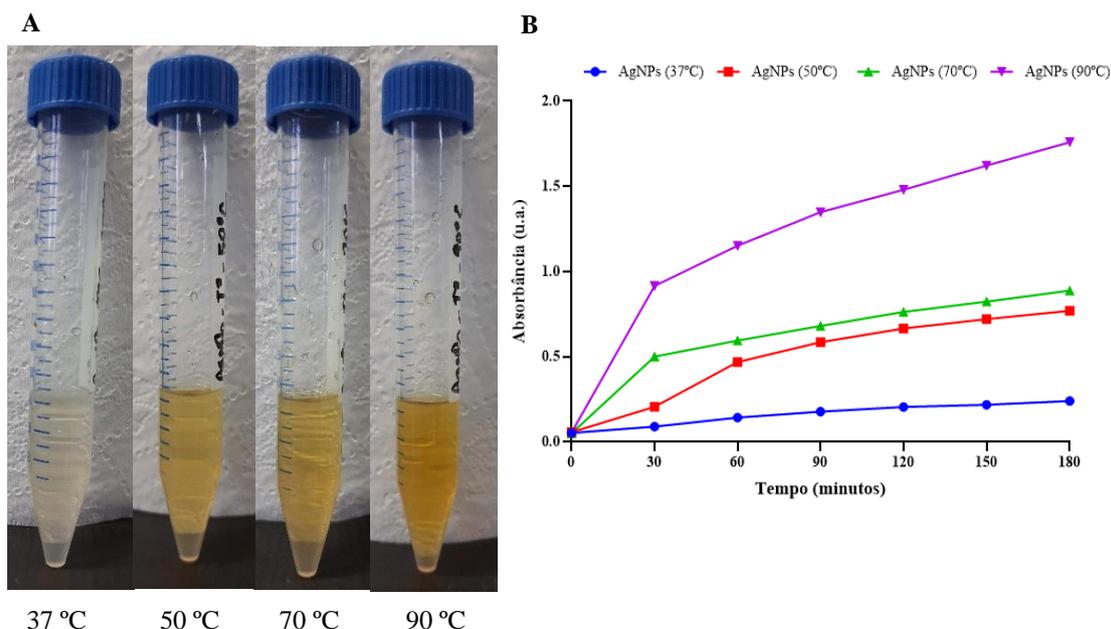


Figura II-5. (A) Registro visual da coloração das suspensões de nanopartículas de prata (AgNPs) após 180 minutos de reação empregando 2 mg/mL de extrato aquoso das folhas de *Paullinia cupana*, 2 mM de AgNO_3 e diferentes temperaturas de reação em banho-maria. (B) Curvas cinéticas de monitoramento da síntese de AgNPs a 450 nm, obtidas durante 180 minutos, com 2 mg/mL de extrato aquoso das folhas de *Paullinia cupana*, 2 mM de AgNO_3 e diferentes temperaturas de incubação em banho-maria.

Sob diferentes temperaturas, os processos de nucleação, crescimento e estabilização das nanoestruturas em suspensão aquosa podem ser mais eficientes ou podem ser limitados. Um fator a ser destacado é que, como demonstrado no Capítulo I desta tese, especificamente no tópico 2.1, os compostos fenólicos de diferentes classes foram extensivamente identificados na composição fitoquímica dos extratos foliares de *Paullinia cupana* obtidos por decoção e, mesmo com a utilização de diferentes temperaturas reacionais aplicadas na síntese das AgNPs em banho-maria, pode-se inferir que não houve uma degradação ou perda considerável dessas biomoléculas e com isso a síntese das nanoestruturas pôde ocorrer sem interferências.

O aumento da temperatura de reação resulta em um processo de biorredução mais rápido por meio do transporte de elétrons advindos dos agentes redutores presentes nos extratos vegetais, que aumenta devido ao aumento das correntes de convecção. Com isso, a energia cinética das moléculas é maior (teoria de *Arrhenius*) favorecendo o encontro delas com os íons metálicos promovendo, dessa forma, a redução eficiente de Ag^+ para Ag^0 (Hamedi *et al.*, 2017; Pereira, 2019; Terenteva *et al.*, 2015; Yang; Li, 2013).

O espectro de absorção das AgNPs produzidas sob diferentes temperaturas reacionais na faixa do UV/Vis entre 350 e 550 nm é mostrado na Figura II-6.

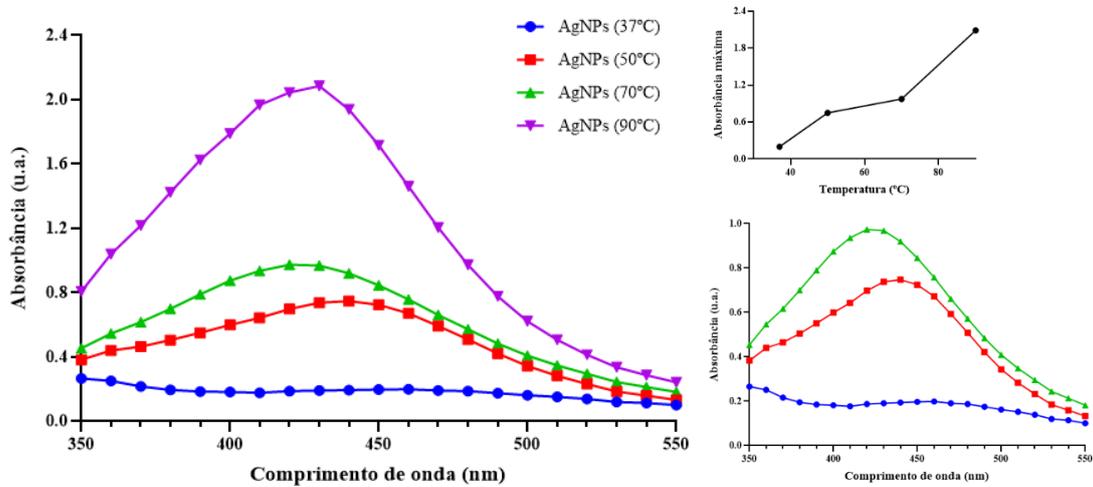


Figura II-6. Curvas de absorção das nanopartículas de prata (AgNPs) após 180 minutos de síntese, empregando 2 mg/mL de extrato aquoso das folhas de *Paullinia cupana*, 2 mM de AgNO_3 e diferentes temperaturas de incubação em banho-maria. A inserção na parte superior direita do espectro mostra o aumento da intensidade de absorção em função da temperatura de reação e a inserção na parte inferior direita é uma apresentação de intervalo com escala de absorbância ampliada no intuito de melhorar a visualização das bandas de absorção formadas para as três menores temperaturas.

As bandas de máxima absorção são observadas em maior comprimento de onda quando as AgNPs foram sintetizadas sob temperatura intermediária de 50 °C (440 nm) e não foi observado nenhuma banda bem definida na temperatura de 37 °C. Isso está de acordo com Oluwaniyi *et al.* (2016) que relatam desvios batocrômicos para 460 nm de bandas de RPS das AgNPs sintetizadas a partir do extrato de *Thevetia peruviana* (chapéu-de-napoleão) sob incubação a 30 °C e 50 °C.

No entanto, no presente estudo, ao aplicar maiores temperaturas, as bandas apresentaram-se direcionadas para a região do azul no espectro de UV/Vis (desvio hipsocrômico), sendo de 420 nm para a temperatura de 70 °C, com intensidade relativa em 0,974 u.a. e 430 nm sob incubação a 90 °C e intensidade de 2,086 u.a. Esses desvios podem indicar que, em temperaturas mais elevadas, as AgNPs sintetizadas possuem um tamanho médio menor (Hashemi *et al.*, 2022b; Vasconcelos, 2021). Maiores temperaturas de incubação impedem a redução secundária na superfície dos núcleos pré-formados das AgNPs, permitindo que os processos de nucleação e crescimento ocorram sem interferência e o seu crescimento seja controlado, com bandas de absorção bem definidas (Ping *et al.*, 2018; Sila *et al.*, 2019).

2.3.2. Avaliação por meio de DLS e potencial Zeta de superfície

As propriedades coloidais das AgNPs (DH, PdI e PtZ) foram medidas no dia das sínteses e após 24 horas com o objetivo de avaliar as características de tamanho, polidispersividade e potencial Zeta de superfície, além de investigar o efeito do armazenamento sob duas condições distintas: temperatura ambiente (~ 22 °C) e em geladeira (~ 4 °C) (TABELA II-3).

Tabela II-3. Valores de diâmetro hidrodinâmico (DH), índice de polidispersividade (PdI) e potencial Zeta de superfície (PtZ) de nanopartículas de prata (AgNPs) sintetizadas a partir de extratos aquosos dos folíolos de *Paullinia cupana* sob diferentes temperaturas em banho-maria, no dia da síntese (D0) e após 24 horas com armazenamento à temperatura ambiente (D1 – TA) e em geladeira (D1 – GEL).

Tempo/armazenamento	DH	PdI	PtZ
	37 °C		
D0	67,75 ± 2,8 ^a	0,498 ± 0,046	-31,0 ± 1,6 ^a
D1 – TA	67,39 ± 1,8 ^a	0,476 ± 0,068	-35,4 ± 1,7 ^b
D1 – GEL	61,64 ± 0,6 ^b	0,541 ± 0,012	-34,0 ± 1,3 ^{a,b}
50 °C			
D0	72,89 ± 5,2 ^b	0,459 ± 0,054	-33,0 ± 4,9
D1 – TA	64,68 ± 1,1 ^a	0,498 ± 0,009	-34,3 ± 1,6
D1 – GEL	80,92 ± 0,5 ^c	0,477 ± 0,036	-34,7 ± 1,3
70 °C			
D0	51,37 ± 2,1	0,511 ± 0,030 ^a	-36,7 ± 0,3 ^b
D1 – TA	50,71 ± 0,4	0,453 ± 0,010 ^b	-32,5 ± 0,4 ^a
D1 – GEL	55,11 ± 3,8	0,498 ± 0,018 ^{a,b}	-33,0 ± 1,2 ^a
90 °C			
D0	79,59 ± 13,6 ^a	0,319 ± 0,060 ^a	-37,1 ± 0,9 ^a
D1 – TA	63,67 ± 1,9 ^{a,b}	0,442 ± 0,050 ^b	-33,9 ± 1,1 ^{a,b}
D1 – GEL	58,71 ± 2,1 ^b	0,386 ± 0,002 ^{a,b}	-30,8 ± 3,6 ^b

Os valores estão representados como média ± desvio padrão da média de medidas em triplicata. Análise estatística: teste *One-way* ANOVA ($p < 0,05$), seguido do teste de Tukey. Letras diferentes dentro de cada parâmetro para cada grupo de AgNPs nas diferentes temperaturas indicam resultados estatisticamente diferentes. Valores sem letras dentro de cada parâmetro para cada grupo de AgNPs nas diferentes temperaturas indicam que não há diferenças estatísticas.

Com a caracterização por DLS apresentada na Tabela II-3 ficou demonstrado que não houve modulação do DH alterando a temperatura reacional durante as sínteses, mas vale ressaltar que, exceto para as AgNPs sintetizadas a 70 °C, todas as outras apresentaram diferenças estatísticas ($p < 0,05$) entre os valores obtidos no dia da síntese e após 24 horas a depender da condição de armazenamento. Além disso, após a síntese sob temperatura de 70 °C, as AgNPs tiveram os menores diâmetros, com destaque para aquele medido após um dia da síntese inicial com alíquota mantida em temperatura ambiente. É bem relatado em pesquisas anteriores que, sob temperaturas mais elevadas,

partículas menores e com distribuição de tamanho quase uniforme são formadas, enquanto as AgNPs são maiores a partir da síntese em temperaturas baixas (Liu *et al.*, 2020; Verma; Mehata, 2016).

Em relação ao PDI, os valores podem ser considerados intermediários ao que se espera para as partículas com monodispersão adequada (valores mais próximos de 0). Observa-se que não há diferenças no PDI obtido logo após a síntese e decorridas 24 horas para as AgNPs sintetizadas a 37 °C e 50 °C. No entanto, os valores de PDI obtidos para as AgNPs sintetizadas nas duas maiores temperaturas reacionais diferem significativamente ($p < 0,05$) entre as medidas no dia da síntese e dos valores das AgNPs armazenadas sob temperatura ambiente após 24 horas. Quanto ao PtZ, todas as medidas, independente da temperatura reacional e leitura realizada, resultaram em valores acima de -30 mV. Não foram observadas diferenças estatísticas para a síntese a 50 °C, diferentemente dos resultados empregando as demais temperaturas reacionais onde as medições no dia da síntese foram estatisticamente diferentes ($p < 0,05$) das leituras de alíquotas armazenadas em temperatura ambiente ou geladeira.

Com base nos resultados descritos conclui-se que o emprego de diferentes temperaturas durante a síntese de AgNPs não refletiu em mudanças expressivas de suas características físico-químicas. No entanto, quanto aos resultados advindos da caracterização por UV/Vis foi possível verificar que tanto o rendimento das AgNPs como as bandas de RPS indicam as maiores temperaturas como as mais recomendadas. Sendo assim, a temperatura de 70 °C foi escolhida tendo em vista os possíveis processos de degradação das biomoléculas vegetais que podem acontecer com o uso de temperaturas mais elevadas e ainda ao longo da avaliação da estabilidade coloidal.

2.4. Síntese com variação no equipamento e/ou fonte de energia

2.4.1. Análises visuais e espectrofotométricas por UV/Vis

As rotas de síntese biológica de nanomateriais, entre eles as AgNPs, podem ser empregadas visando reduzir ou eliminar a geração de substâncias perigosas ao longo do processo, melhorando assim a sustentabilidade e aplicabilidade (Kharissova *et al.*, 2019). Diversas técnicas têm sido utilizadas e, a partir da combinação com os precursores naturais (por exemplo, os extratos de plantas), reúnem características como baixo custo, tempos curtos de reação, fácil reprodutibilidade, entre outras.

Deste modo, foi avaliado o efeito do tipo do equipamento/fonte de energia empregados durante as sínteses de AgNPs a fim de identificar as possíveis modificações

nas características das nanoestruturas, com as sínteses acontecendo com os extratos de folhas de *Paullinia cupana* na concentração de 2 mg/mL e o AgNO₃ na concentração de 2 mM. Vale ressaltar ainda que o tempo de síntese variou de acordo com o equipamento e/ou condição utilizados, levando em consideração uma aplicação mais racional e segura de cada rota. Assim, o tempo de 180 minutos foi empregado para as sínteses em banho-maria (70 °C), com luz LED (temperatura ambiente), sob luz solar (24 – 29 °C) e em ultrassom (70 °C). Por outro lado, a síntese em autoclave durante um ciclo completo de aquecimento e resfriamento (121 °C) durou 90 minutos e em micro-ondas a reação foi até 1,5 minuto, sendo que nesses dois últimos casos as leituras espectrofotométricas foram realizadas apenas no início e final das reações, no caso da autoclave e em intervalos de 15 segundos, na síntese em micro-ondas.

A Figura II-7A mostra que a síntese por diferentes equipamentos e/ou fonte de energia promoveu mudanças de coloração das suspensões de AgNPs após o tempo de incubação em cada condição. Adicionalmente, a Figura II-7B evidencia as curvas cinéticas de síntese das AgNPs obtidas também são mostradas.

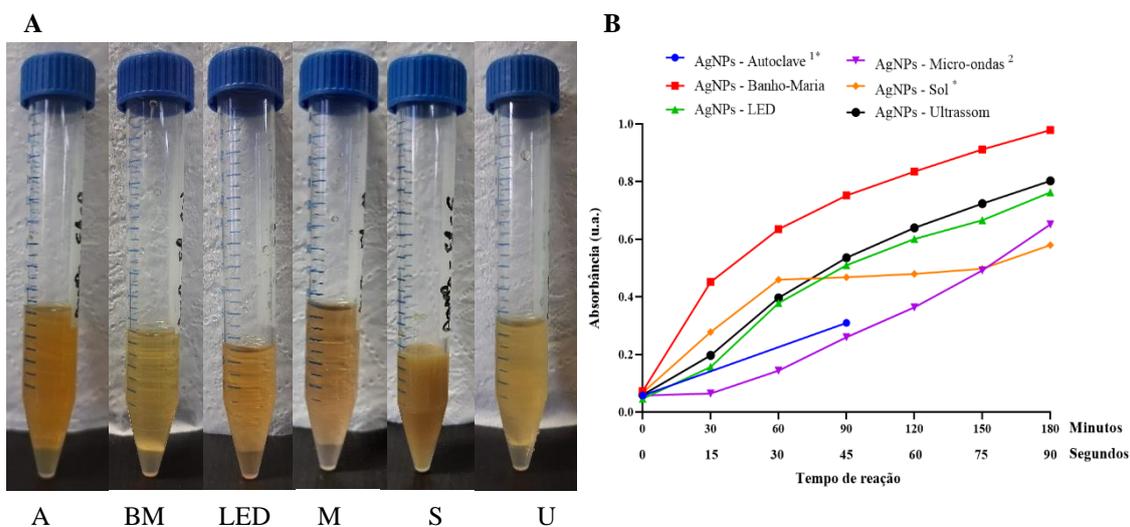


Figura II-7. (A) Registro visual da coloração das suspensões de nanopartículas de prata (AgNPs) após o tempo especificado para cada rota de síntese empregando diferentes equipamentos e/ou fonte de energia. (B) Curvas cinéticas de monitoramento da síntese de AgNPs a 450 nm obtidas durante tempo especificado para cada condição de síntese, com 2 mg/mL de extrato aquoso das folhas de *Paullinia cupana* e 2 mM de AgNO₃ empregando diferentes equipamentos e/ou fonte de energia. ¹Absorbância foi medida somente no início e no final da reação que durou 90 minutos; ²Absorbância foi medida a cada 15 segundos por um período de 1,5 minuto. [†]As amostras foram diluídas 1:10 (v/v) em água ultrapura. A – autoclave; BM – banho-maria; LED – luz LED; M – micro-ondas; S – luz solar e U – ultrassom.

O método por autoclave já foi relatado como bastante útil na síntese de AgNPs por favorecer a etapa inicial denominada de nucleação, com controle de tamanho e

forma, além de ter perda mínima de reagentes e permitir maiores rendimentos finais (Araruna *et al.*, 2020). Por sua vez, no presente estudo, a síntese sob irradiação direta do sol aconteceu durante a estação da primavera no hemisfério Sul, por volta das 11h30m da manhã até às 14h30m da tarde (UTC-3), na cidade de Brasília que se encontra com elevação acima do nível do mar de 1172 metros. Dois mecanismos podem ser propostos para a síntese rápida e eficiente de AgNPs utilizando essa rota: a intensidade da radiação solar UV que aumenta proporcionalmente com o aumento da altitude (Dong *et al.*, 2004) e a ação os fótons de luz solar que podem ser os responsáveis por acelerar as reações de biorredução atuando como catalisadores no processo de transferência de elétrons excitados que é mediada pelos metabólitos vegetais, permitindo que as reações ocorram em pouco tempo (Ahmed *et al.*, 2015; Jagtap; Bapat, 2013; Mankad *et al.*, 2020).

Em seguida, com base na absorbância alcançada ao longo das sínteses de acordo com as curvas de cinética, os métodos que envolvem uso de temperatura controlada (banho-maria e ultrassom) foram os mais eficientes na síntese das AgNPs, assim como relatado em estudos prévios que utilizaram tais equipamentos para a síntese dessas nanoestruturas utilizando extratos de sementes de *Cuscuta japonica* (dodder) (Patil *et al.*, 2021), folhas, cascas e raízes de *Ficus deltoidea* (figo visco) (Din *et al.*, 2022) e folhas de *Barleria buxifolia* (karachulli) (Sekar *et al.*, 2022).

Logo depois, o método que utilizou a energia fotoquímica (LED), seguido do método de irradiação por micro-ondas também promoveram a síntese de AgNPs, assim como no estudo de Lee *et al.* (2014) onde foi relatado o sucesso da síntese química de AgNPs utilizando luz LED em comprimento de onda de 520 nm com potência de 25 mW/cm², enquanto as vantagens como menor consumo de energia, homogeneidade no tamanho/forma das AgNPs e ainda o curto tempo de reação fazem com que o método utilizando irradiação por micro-ondas seja bastante explorado na síntese de AgNPs advindas de extratos vegetais (Ashraf *et al.*, 2020; Tormena *et al.*, 2020).

Os espectros de UV/Vis mostrando as bandas de absorção máxima na faixa entre 350 e 550 nm após as sínteses em cada condição estão na Figura II-8.

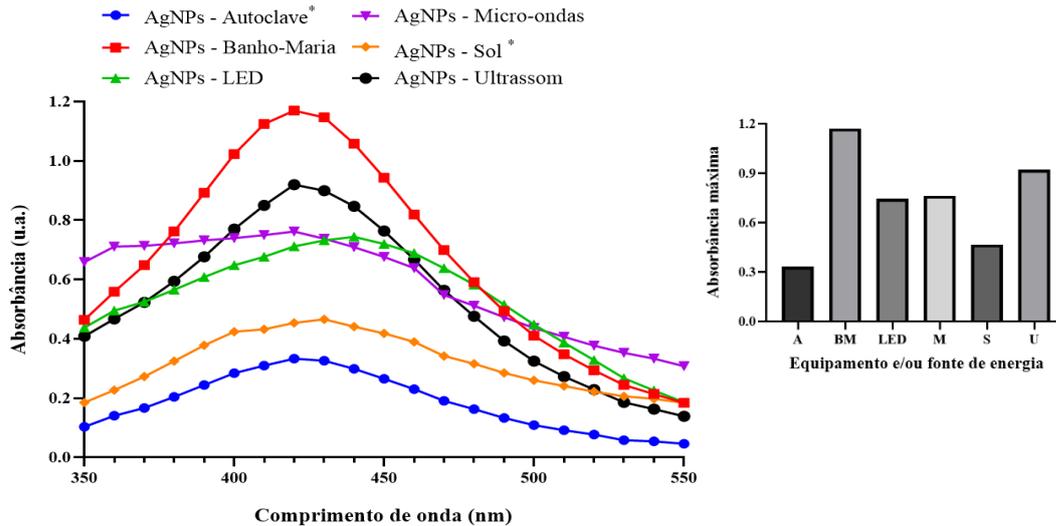


Figura II-8. Curvas de absorção das nanopartículas de prata (AgNPs) após o tempo especificado para cada rota de síntese, com 2 mg/mL de extrato aquoso das folhas de *Paullinia cupana* e 2 mM de AgNO_3 empregando diferentes equipamentos e/ou fonte de energia. *As amostras foram diluídas 1:10 (v/v) em água ultrapura. O gráfico de barras à direita da imagem mostra a absorbância máxima de cada suspensão de AgNPs sintetizada pelas rotas de síntese verde. A – autoclave; BM – banho-maria; LED – luz LED; M – micro-ondas; S – luz solar e U – ultrassom.

No geral, ocorrem poucas variações nas bandas de máxima absorção, sendo de 420 nm para as AgNPs sintetizadas em autoclave, banho-maria, micro-ondas e ultrassom, tendo desvios para comprimentos de onda maiores quando as AgNPs são sintetizadas por luz solar (430 nm) e luz LED (440 nm). Corroborando com os resultados de monitoramento da síntese, a intensidade de absorbância foi a seguinte: banho-maria (1,17 u.a.), ultrassom (0,920 u.a.), micro-ondas (0,762 u.a.), luz LED (0,744 u.a.), luz solar (0,466 u.a.) e autoclave (0,333 u.a.).

Resultados similares aos do presente estudo quanto à formação das bandas no espectro de UV/Vis foram relatados por Araruna *et al.* (2020) utilizando autoclave, banho-maria e micro-ondas como rotas na síntese de AgNPs a partir do extrato do mesocarpo de babaçu (*Attalea speciosa*) com bandas de máxima absorção em 420 nm. Swamy e Nargund (2017) expuseram misturas reacionais com sal metálico e extrato da semente de *Thevetia peruviana* (chapéu-de-napoleão) à luz solar e sintetizaram AgNPs com bandas de RPS em torno de 429 nm. Fatimah *et al.* (2020), a partir do extrato da flor de cunhã (*Clitoria ternatea*), sintetizaram AgNPs pelo método de ultrassom que apresentaram banda de absorção em 425 nm. Cardoso-Avila *et al.* (2015) relataram uma banda em 400 nm para AgNPs sintetizadas por rota química após irradiação com luz LED na região do azul (465 nm; 180 mW/cm²) e verde (520 nm; 50 mW/cm²).

2.4.2. Avaliação por meio de DLS e potencial Zeta de superfície

Para averiguar as possíveis modificações nas características coloidais das AgNPs, as medidas de DH, PdI e PtZ foram realizadas no dia das sínteses e ainda no dia seguinte, após armazenamento de alíquotas das suspensões deixadas sob temperatura ambiente (~ 22 °C) e em geladeira (~ 4 °C) (TABELA II-4).

Tabela II-4. Valores de diâmetro hidrodinâmico (DH), índice de polidispersividade (PdI) e potencial Zeta de superfície (PtZ) de nanopartículas de prata (AgNPs) sintetizadas a partir de extratos aquosos dos folíolos de *Paullinia cupana* a 2 mg/mL e 2 mM do AgNO₃, empregando diferentes equipamentos e/ou fonte de energia, no dia da síntese (D0) e após 24 horas com armazenamento à temperatura ambiente (D1 – TA) e em geladeira (D1 – GEL).

Tempo/armazenamento	DH	PdI	PtZ
	A		
D0	76,73 ± 1,4 ^a	0,284 ± 0,014	-33,0 ± 1,6
D1 – TA	77,33 ± 0,7 ^a	0,303 ± 0,044	-30,3 ± 4,9
D1 – GEL	72,36 ± 2,5 ^b	0,272 ± 0,017	-32,0 ± 0,8
BM			
D0	74,57 ± 4,8 ^a	0,462 ± 0,060	-36 ± 1,1
D1 – TA	66,46 ± 1,6 ^b	0,403 ± 0,015	-35,5 ± 1,2
D1 – GEL	68,55 ± 1,6	0,456 ± 0,031	-32,3 ± 3,1
LED			
D0	87,76 ± 4,7 ^c	0,428 ± 0,015	-34,4 ± 1,2 ^a
D1 – TA	62,56 ± 1,9 ^a	0,341 ± 0,053	-36,2 ± 2,3 ^a
D1 – GEL	72,42 ± 3,1 ^b	0,396 ± 0,030	-28,7 ± 1,9 ^b
M			
D0	64,70 ± 9,1 ^b	0,894 ± 0,181	-38,1 ± 0,3
D1 – TA	38,43 ± 5,3 ^a	0,874 ± 0,219	-31,6 ± 4,0
D1 – GEL	37,53 ± 5,4 ^a	0,874 ± 0,218	-31,2 ± 2,7
S			
D0	75,86 ± 1,3 ^a	0,395 ± 0,062	-33,0 ± 2,9
D1 – TA	74,25 ± 0,1 ^a	0,333 ± 0,021	-33,8 ± 1,8
D1 – GEL	68,50 ± 1,0 ^b	0,419 ± 0,021	-37,5 ± 0,4
U			
D0	97,55 ± 2,2 ^b	0,476 ± 0,012	-32,9 ± 1,3 ^b
D1 – TA	72,14 ± 2,7 ^a	0,418 ± 0,014	-37,2 ± 1,2 ^a
D1 – GEL	72,53 ± 1,2 ^a	0,404 ± 0,072	-36,0 ± 0,7 ^a

Os valores estão representados como média ± desvio padrão da média de medidas em triplicata. Análise estatística: teste *One-way* ANOVA ($p < 0,05$), seguido do teste de Tukey. Letras diferentes dentro de cada parâmetro para cada grupo de AgNPs nos diferentes equipamentos e/ou fonte de energia indicam resultados estatisticamente diferentes. Valores sem letras dentro de cada parâmetro para cada grupo de AgNPs nos diferentes equipamentos e/ou fonte de energia indicam que não há diferenças estatísticas (A – autoclave; BM – banho-maria; LED – luz LED; M – micro-ondas; S – luz solar e U – ultrassom).

A partir dos resultados da Tabela II-4, percebe-se que os valores de DH apresentaram diferenças estatísticas ($p < 0,05$) entre as medidas realizadas nos diferentes

dias e condições de armazenamento para todas as suspensões de AgNPs sintetizadas pelos diferentes equipamentos e/ou fontes de energia. Foi possível modular o DH das AgNPs após um dia da síntese inicial uma vez que os valores obtidos foram menores em relação àqueles medidos no dia da síntese, exceto para a alíquota das AgNPs-A armazenadas sob temperatura ambiente.

Em relação ao PdI, os menores valores, e que podem indicar populações de partículas mais homogêneas, foram advindos do método de autoclave, assim como relatado no estudo de Kora, Mounika e Jagadeeshwar (2020) com AgNPs sintetizadas a partir de extratos das folhas de arroz (*Oryza sativa*) com PdI entre 0,22 e 0,29. Por outro lado, o PdI das AgNPs sintetizadas em micro-ondas foram os mais elevados, indicando polidispersividade das amostras e sua provável agregação em suspensão, corroborando com Pereira (2019) que ao sintetizar AgNPs utilizando extratos aquosos de folhas de ipê-amarelo (*Handroanthus serratifolius*) obteve valores entre 0,4 e 0,8. O PtZ de todas as amostras de AgNPs demonstram que elas podem ser estáveis em suspensão, uma vez que a maioria dos valores esteve acima de -30 mV. Foram observadas diferenças significativas ($p < 0,05$) apenas nas leituras realizadas para as AgNPs-LED e AgNPs-U em relação às medições do dia da síntese e após 24 horas, principalmente das alíquotas mantidas em geladeira. Vale ressaltar que, após 24 horas, os valores de PtZ decaem, em módulo, para as AgNPs-A, AgNPs-BM e AgNPs-M, mas aumentam quando observados os valores das AgNPs-S e AgNPs-U, independente da condição de armazenamento.

Com base nos resultados dessa etapa de otimização, todas as rotas empregadas foram eficientes na síntese de AgNPs. Isso propõe a possibilidade de investigações mais abrangentes quanto aos efeitos de nanoestruturas metálicas sintetizadas por diferentes condições. A partir de então, por mais que as AgNPs sintetizadas por autoclave e luz solar tenham sido rapidamente formadas e, por isso, foram diluídas inicialmente para as análises espectrais, optou-se pela utilização de um equipamento em que o controle de temperatura e incidência de luz, além do acompanhamento visual durante o tempo de síntese fosse possível de ser acompanhado. Reunindo também sua capacidade elevada para a síntese das AgNPs, além de ser uma rota otimizada em diversos estudos, a utilização do banho-maria foi a condição escolhida para as etapas posteriores. No que tange às rotas de síntese verde mais sustentáveis, o uso de micro-ondas e ultrassom foi descartado devido tais equipamentos serem de maior custo de aquisição e, de modo geral, ambos têm um maior consumo de energia elétrica em relação à utilização do banho-maria.

As AgNPs sintetizadas no t3pico 2.4 do Cap3tulo II foram ainda estudadas quanto 3 a estabilidade coloidal por Espalhamento de Luz Din3mico (DLS) e mobilidade eletrofor3tica, an3lise estrutural por Espectroscopia no Infravermelho por Transformada de Fourier (FTIR) e Microscopia Eletr3nica de Transmiss3o (MET). Al3m disso, ensaio antibacteriano contra cepas de *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 9027) e *Staphylococcus aureus* (ATCC 6538), assim como ensaio leishmanicida contra formas promastigotas de *Leishmania amazonensis* (IFLA/BR/67/PH8) em conjunto com o teste citot3xico contra macr3fagos RAW 264.7 foram realizados. Os resultados referentes 3 esta pesquisa est3o dispon3veis em um manuscrito rec3m-publicado na revista *Biomass Conversion and Biorefinery* que pode ser acessado por meio do DOI 10.1007/s13399-023-05250-1.

3. CONCLUS3O

A partir da investiga3o dos par3metros envolvidos na s3ntese verde de AgNPs utilizando como fonte de metab3litos o extrato aquoso da parte vegetativa (fol3olos) de *Paullinia cupana* foi poss3vel otimizar o processo a partir da utiliza3o de concentra3es fixadas em 2 mg/mL do extrato vegetal e 2 mM de solu3o aquosa do sal met3lico, al3m de temperatura de rea3o de 70° C utilizando o equipamento banho-maria.

Como primeiro ind3cio da s3ntese bem-sucedida das nanoestruturas, observaram-se altera3es nas colora3es das suspens3es coloidais ap3s todas as condi3es testadas, independente do par3metro avaliado. O rendimento das AgNPs foi maior 3 medida em que se aumentava a concentra3o dos extratos e a temperatura de rea3o, mesmo sem obter qualquer tipo de modula3o das caracter3sticas f3sico-qu3micas ao avaliar as condi3es utilizadas. Do contr3rio, n3o foi observado efeito concentra3o-dependente ao aumentar as concentra3es do AgNO₃, no entanto conseguiu-se modular as propriedades de di3metro hidrodin3mico e polidispersividade das AgNPs uma vez que o primeiro aumentava 3 medida em que a concentra3o do sal met3lico tamb3m aumentava e o segundo diminu3a com o aumento da concentra3o dos 3ons Ag⁺.

Tamb3m foi poss3vel explorar, de forma in3dita, em um mesmo estudo, v3rias rotas de s3ntese biog3nica para AgNPs ressaltando-se que em todas estas rotas, ao final das rea3es, foram sintetizadas nanoestruturas com elevados valores de potencial Zeta, o que implica em estabilidade coloidal. Dessa forma, tal estudo permitiu inferir que 3 fact3vel controlar as caracter3sticas das AgNPs por meio da triagem racional das vari3veis envolvidas no processo.

CAPÍTULO III – Aplicações *in vitro* de AgNPs sintetizadas com extratos aquosos de folhas de *Paullinia cupana* coletados em diferentes períodos sazonais

1. OBJETIVOS DO CAPÍTULO III

- Biossintetizar as AgNPs sob as condições previamente otimizadas utilizando extratos aquosos das folhas de *Paullinia cupana* (guaraná) coletadas nas estações de inverno (período seco) – AgNPs-PS e de verão (período chuvoso) – AgNPs-PC;
- Caracterizar as AgNPs por meio de aspectos visuais das colorações das misturas reacionais e por técnicas visando à determinação dos perfis de Ressonância Plasmônica de Superfície (RPS) (análise espectrofotométrica por Ultravioleta Visível – UV/Vis); diâmetro hidrodinâmico e índice de polidispersividade (espalhamento de luz dinâmico, do inglês *Dynamic Light Scattering* – DLS); potencial Zeta (mobilidade eletroforética); diâmetro hidrodinâmico e concentração das nanopartículas (Análise de Rastreamento de Nanopartículas – ARN); diâmetro seco e morfologia (Microscopia Eletrônica de Transmissão – MET); composição elementar (Espectroscopia por Energia Dispersiva de raios X – EED);
- Avaliar a reprodutibilidade dos processos de fitossíntese de AgNPs;
- Avaliar a estabilidade coloidal das AgNPs ao longo do tempo;
- Avaliar a atividade antibacteriana das AgNPs e extratos aquosos vegetais;
- Investigar a capacidade antioxidante das AgNPs e extratos aquosos vegetais;
- Avaliar a viabilidade de linhagens celulares cancerosas humanas de câncer de pele não melanoma (A431), câncer de pulmão (A549) e linhagens não cancerosas de queratinócitos (HaCaT) e fibroblastos (HNTMC) expostas às AgNPs, ao AgNO₃ e aos extratos aquosos vegetais;
- Avaliar a atividade larvicida e pupicida das AgNPs, do AgNO₃ e extrato aquoso contra o organismo *Aedes aegypti*.
- Testar a atividade catalítica das AgNPs sob corantes orgânicos;

2. RESULTADOS E DISCUSSÃO

2.1. Análises visuais e espectrofotométricas das AgNPs

Inicialmente, a síntese das AgNPs a partir dos extratos aquosos de *Paullinia cupana* foi avaliada com base na alteração de cor do meio reacional das suspensões preparadas em dois lotes distintos utilizando o extrato aquoso do folíolo 2 coletado no período seco (extrato 5 da Tabela 3 do tópico “Material e Métodos”) e folíolo 3 coletado no período chuvoso (extrato 26 da Tabela 3 do tópico “Material e Métodos”), ambos preparados por decoção. A Figura III-1 ilustra os efeitos observados após a mistura do sal metálico (AgNO_3) com cada extrato aquoso, onde a tonalidade amarela mais intensa se tornou característica das suspensões de AgNPs.

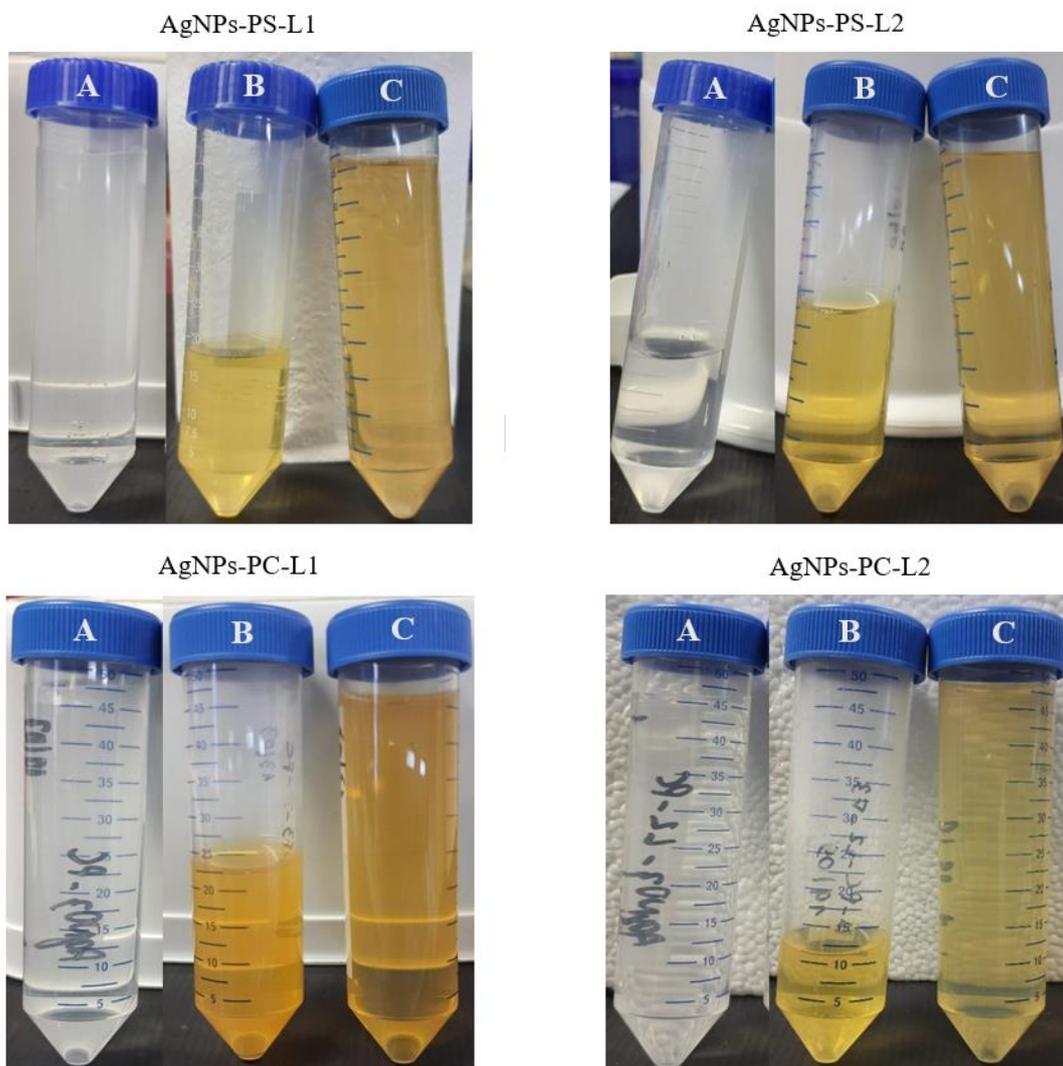


Figura III-1. Registro visual da síntese de nanopartículas de prata (AgNPs). (A) Solução aquosa de nitrato de prata (AgNO_3) a 2 mM. (B) Extrato aquoso das folhas de *Paullinia cupana* (2 mg/mL) coletadas no período seco (PS) e chuvoso (PC) em dois lotes diferentes (L1 e L2). (C) Suspensões de AgNPs sintetizadas a partir da mistura do sal metálico com os extratos aquosos.

No geral, são observadas diferenças entre as colorações das suspensões de AgNPs a depender da estação de coleta das folhas e do lote. Estas variações também podem ser indício da síntese bem-sucedida das AgNPs e é conhecida como efeito/espalhamento de Tyndall (Evensen, 2013). Nele, alterações ópticas visuais são observadas quando a luz sofre desvios em função da reflexão causada pelas nanoestruturas suspensas em meio aquoso. Outro aspecto a ser considerado é que as condições adotadas durante a síntese verde, entre elas a concentração do sal metálico, concentração do extrato, duração e temperatura do processo de síntese podem influenciar nas modificações das colorações das suspensões, bem como nas suas intensidades (Pourmortazavi *et al.*, 2015).

Além das análises visuais, a capacidade fitorredutora de extratos vegetais com posterior síntese de AgNPs requer confirmação por outras investigações, como a caracterização espectrofotométrica para interpretar tais resultados. Nesse sentido, o monitoramento das sínteses de AgNPs foi realizado ao longo de 180 minutos (FIGURA III-2) e, considerando a intensidade de absorvância que foi de 1,572 u.a. e 1,340 u.a. para o lote 1 e 2, respectivamente, pôde-se sugerir que os extratos aquosos das folhas coletadas no período chuvoso (estação verão) indicam maior potencial para reduzir os íons metálicos e conseqüentemente formar AgNPs, similarmente ao relatado por Oliveira *et al.* (2019) com AgNPs sintetizadas a partir do extrato das folhas de sucupira-branca (*Pterodon emarginatus*) coletadas no período de chuvas (estação verão).

Não obstante, as sínteses conduzidas ao utilizar os extratos de folhas coletadas no período seco (estação inverno) também apresentaram potencial para a síntese de AgNPs, com absorvância em 0,638 u.a. para o lote 1 e 0,648 u.a. para o lote 2 (FIGURA III-2), demonstrando ainda uma provável estabilização da absorvância, sugerindo máxima redução dos íons de prata, corroborando com Silva (2014) que utilizou extratos da casca e polpa de mangaba (*Hancornia speciosa*) coletados no inverno (período seco) para sintetizar AgNPs.

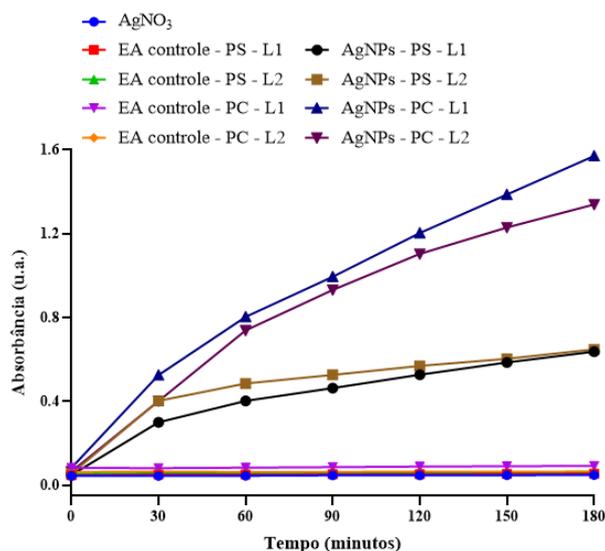


Figura III-2. Curvas cinéticas de monitoramento das reações de síntese de nanopartículas de prata (AgNPs) a 450 nm e seus controles durante 180 minutos utilizando extrato aquoso (EA) de folhas de *Paullinia cupana* coletadas no período seco (PS) e período chuvoso (PC) em dois diferentes lotes (L1 e L2). A síntese foi realizada em banho-maria a 70 °C, com 2 mM de AgNO₃ e 2 mg/mL de extrato aquoso. (AgNO₃: Solução aquosa de nitrato de prata. Ctr: extrato vegetal 2 mg/mL + água).

A análise por UV/Vis foi utilizada para determinar a banda de absorção máxima das AgNPs, sendo também mais uma análise que possibilita confirmar a presença das nanoestruturas metálicas nas suspensões aquosas uma vez que ao receberem radiações as AgNPs exibem bandas em comprimentos de onda específicos (Kuisma *et al.*, 2015; Patil; Chougale, 2021).

Conforme mostrado na Figura III-3A, as AgNPs recém-sintetizadas apresentaram intensidades de absorbâncias entre 0,700 e 0,821 u.a. com bandas de absorção em menores comprimentos de onda atribuídas às AgNPs-PS (420 e 410 nm – lote 1 e 2, respectivamente), enquanto são observados desvios para maiores comprimentos de onda ao analisar as AgNPs-PC (450 e 480 nm – lote 1 e 2, respectivamente). Por sua vez, ao avaliar as curvas de absorção das amostras mantidas em geladeira após um ano da síntese inicial (FIGURA III-3B) nota-se que os valores de intensidade de absorbância aumentaram para acima de 1 u.a. e que as bandas de máxima absorção das AgNPs-PS apresentaram desvios para maiores comprimentos de onda – *redshift* (450 e 440 nm – lote 1 e 2, respectivamente), diferentemente daquelas atribuídas às AgNPs-PC que tiveram um desvio para menores comprimentos de onda – *blueshift* (410 e 450 nm – lote 1 e 2, respectivamente).

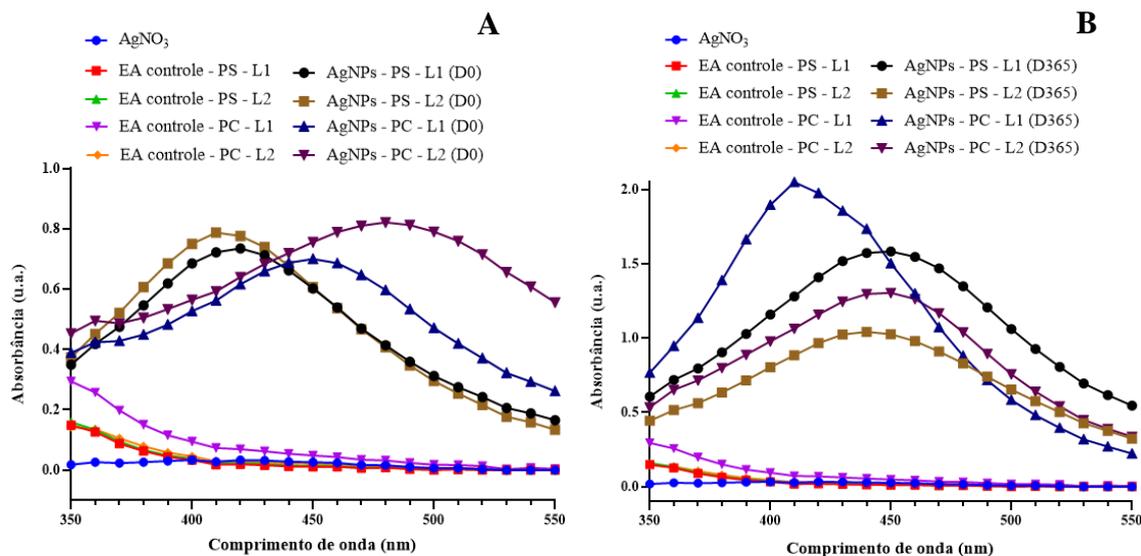


Figura III-3. Curvas de absorção na região do UV/Vis de nanopartículas de prata (AgNPs) a 450 nm e seus controles durante 180 minutos sintetizadas utilizando extrato aquoso (EA) de folhas de *Paullinia cupana* coletadas no período seco (PS) e período chuvoso (PC) em dois diferentes lotes (L1 e L2) logo após a síntese – D0 (A) e após 365 dias – D365 (B). A síntese foi realizada em banho-maria a 70 °C, com 2 mM de AgNO_3 e 2 mg/mL de extrato aquoso. (AgNO_3 : Solução aquosa de nitrato de prata. Ctr: extrato vegetal 2 mg/mL + água).

No geral, os espectros de absorbância variaram na forma e na simetria das curvas e, assim como descrito no Capítulo I deste estudo, os desvios observados nos comprimentos de onda máximo nas curvas de UV/Vis das AgNPs, bem como a ausência de bandas espectrais bem definidas representam, entre outros aspectos, variações no tamanho, na morfologia e, conseqüentemente, na estabilidade coloidal das nanoestruturas em suspensão e podem indicar quais das amostras analisadas tinham, de fato, maior rendimento na síntese das AgNPs. Dessa forma, avaliando apenas os dados espectrofotométricos apresentados é possível notar que o fenômeno de RPS é bem controlado a depender do período sazonal, preparação de diferentes lotes e após 365 dias de análise.

Segundo Singh *et al.* (2013), a síntese de AgNPs mediada por plantas pode ser afetada por variações geográficas/sazonais, dando origem a propriedades incongruentes e, nesse sentido, a partir das características espectrais das AgNPs demonstradas acima é possível observar alguns aspectos que podem influenciar nas características físico-químicas, entre elas o tamanho, concentração, estabilidade e morfologia. Portanto, investigações específicas que avaliam tais propriedades são requeridas e apresentadas nos próximos tópicos.

2.2. Avaliação da estabilidade coloidal por meio de DLS e potencial Zeta de superfície das AgNPs sintetizadas a partir de diferentes lotes

Dentre os principais problemas relacionados à síntese biogênica de AgNPs está a manutenção da estabilidade das nanoestruturas que após longos períodos de armazenamento sob condições distintas e, devido ao recobrimento de superfície por compostos fitoquímicos, pode apresentar alterações expressivas em suas características dimensionais e elétricas, afetando, por conseguinte, suas bioatividades. Nesse sentido, o diâmetro hidrodinâmico (DH), o índice de polidispersividade (PDI) e o potencial Zeta de superfície (PtZ) das AgNPs-PS e AgNPs-PC sintetizadas a partir de dois diferentes lotes foram monitorados por um período de 365 dias com alíquotas acondicionadas sob temperatura ambiente e em geladeira.

Neste estudo, o DH das AgNPs-PS (TABELA III-1) sintetizadas no lote 1 foi de $69,76 \pm 3,6$ nm e aumentou significativamente ($p < 0,05$) após 60 dias de armazenamento à temperatura ambiente ($101 \pm 3,5$ nm) e em geladeira ($174 \pm 8,6$ nm) e depois de 40 dias ($178,5 \pm 4$ nm), 180 dias ($158,7 \pm 33,9$ nm) e 270 dias em geladeira ($169,2 \pm 8,5$ nm). O lote 2 dessa amostra de AgNPs apresentou DH de $81,69 \pm 5,5$ nm logo após a síntese e teve diminuição significativa de tamanho ($p < 0,05$) apenas nas análises realizadas com incubação sob temperatura ambiente após 7 dias ($54,04 \pm 1,3$ nm) e 14 dias ($53,34 \pm 1,7$ nm) em relação à medida inicial. Ressalta-se que ao final de 365 dias, o tamanho das AgNPs-PS não diferiu significativamente das medidas iniciais para ambos os lotes independente da condição de armazenamento.

Em relação ao PDI, não foram identificadas mudanças expressivas nas medidas ao longo do monitoramento da estabilidade coloidal das AgNPs-PS (TABELA III-1), permanecendo com valores considerados moderados, mais precisamente entre $0,292 \pm 0,002$ e $0,464 \pm 0,009$ por 365 dias para ambos os lotes. O PtZ das AgNPs-PS recém-sintetizadas do lote 1 e 2 foi de $-31,5 \pm 0,8$ mV e $-38,1 \pm 0,5$ mV, respectivamente. Após 365 dias de análise esses valores foram, em maioria, estatisticamente diferentes ($p < 0,05$) da leitura inicial resultando em medidas com potencial Zeta menores, em módulo, independente da condição de armazenamento, com valores de $-17,6 \pm 2,8$ mV (geladeira) e $-19,5 \pm 5,2$ mV (temperatura ambiente) para o lote 1 e $-25,3 \pm 5,9$ mV (geladeira) e $-26 \pm 3,9$ mV (temperatura ambiente) para o lote 2 (TABELA III-1), o que pode representar uma tendência à diminuição da estabilidade coloidal e aumento da polidispersividade das amostras após esse período de análises.

Tabela III-1. Valores de diâmetro hidrodinâmico (DH), índice de polidispersividade (PdI) e potencial Zeta de superfície (PtZ) ao longo de 365 dias das nanopartículas de prata (AgNPs) sintetizadas utilizando extrato aquoso de folhas de *Paullinia cupana* coletadas no período seco (PS) em dois diferentes lotes (L1 e L2) e armazenadas à temperatura ambiente (TA) e em geladeira (GEL).

Tempo/Armazenamento/Lote	AgNPs – PS		
	DH (nm)	PdI	PtZ (mV)
D0 – L1	69,76 ± 3,6 *	0,403 ± 0,016	-31,5 ± 0,8 *
D0 – L2	81,69 ± 5,5 ×	0,448 ± 0,120	-38,1 ± 0,5 ×
D1 – TA – L1	66,03 ± 1,9	0,422 ± 0,019	-33,5 ± 1,1
D1 – GEL – L1	76,16 ± 3,9	0,354 ± 0,079	-32,4 ± 0,1
D1 – TA – L2	57,54 ± 8,3	0,361 ± 0,121	-36,9 ± 2,0
D1 – GEL – L2	71,2 ± 20,5	0,354 ± 0,228	-22,4 ± 11,5 ×
D7 – TA – L1	72,66 ± 2,2	0,349 ± 0,044	-36,7 ± 0,2
D7 – GEL – L1	73,54 ± 3,8	0,397 ± 0,053	-34,8 ± 0,8
D7 – TA – L2	54,04 ± 1,3 ×	0,318 ± 0,046	-32,3 ± 1,5
D7 – GEL – L2	67,2 ± 14,9	0,450 ± 0,055	-29,5 ± 2,2
D14 – TA – L1	71,17 ± 0,8	0,292 ± 0,002	-35,5 ± 3,2
D14 – GEL – L1	83,37 ± 0,7	0,423 ± 0,007	-25,7 ± 2,7
D14 – TA – L2	53,34 ± 1,7 ×	0,408 ± 0,012	-32,3 ± 3,6
D14 – GEL – L2	76,52 ± 17,7	0,402 ± 0,109	-32,9 ± 7,6
D40 – TA – L1	75,89 ± 2,9	0,565 ± 0,093	-32,1 ± 3,3
D40 – GEL – L1	178,5 ± 4,0 *	0,365 ± 0,062	-23,2 ± 1,2
D40 – TA – L2	56,58 ± 1,1	0,388 ± 0,035	-35,8 ± 0,7
D40 – GEL – L2	65,07 ± 11,1	0,358 ± 0,105	-35,3 ± 1,1
D60 – TA – L1	101 ± 3,5 *	0,389 ± 0,056	-23,5 ± 3,3 *
D60 – GEL – L1	174 ± 8,6 *	0,386 ± 0,030	-20,6 ± 1,9
D60 – TA – L2	56,96 ± 0,4	0,406 ± 0,008	-15,1 ± 0,8 ×
D60 – GEL – L2	59,27 ± 6,3	0,322 ± 0,121	-30,5 ± 1,4
D90 – TA – L1	63,54 ± 0,8	0,419 ± 0,023	-32,9 ± 0,8
D90 – GEL – L1	85,72 ± 7,0	0,337 ± 0,131	-24,5 ± 3,2
D90 – TA – L2	60,3 ± 1,4	0,359 ± 0,036	-22,7 ± 1,0 ×
D90 – GEL – L2	56,81 ± 6,2	0,379 ± 0,133	-22,6 ± 0,7 ×
D180 – TA – L1	63,06 ± 0,5	0,391 ± 0,057	-34,4 ± 1,1
D180 – GEL – L1	158,7 ± 33,9 *	0,348 ± 0,071	-40,2 ± 5,3 *
D180 – TA – L2	68,33 ± 0,3	0,302 ± 0,008	-29,2 ± 0,8
D180 – GEL – L2	61,59 ± 1,9	0,455 ± 0,009	-28 ± 2,0
D270 – TA – L1	75,31 ± 0,5	0,335 ± 0,035	-31,3 ± 0,3
D270 – GEL – L1	169,2 ± 8,5 *	0,509 ± 0,112	-25,7 ± 4,9
D270 – TA – L2	66,88 ± 2,3	0,432 ± 0,033	-18,5 ± 5,6 ×
D270 – GEL – L2	71,07 ± 1,1	0,385 ± 0,006	-14,9 ± 2,7 ×
D365 – TA – L1	67,27 ± 2,0	0,440 ± 0,023	-19,5 ± 5,2 *
D365 – GEL – L1	78,00 ± 0,4	0,464 ± 0,009	-17,6 ± 2,8 *
D365 – TA – L2	65,84 ± 0,5	0,361 ± 0,006	-26,00 ± 3,9
D365 – GEL – L2	64,26 ± 2,0	0,416 ± 0,002	-25,3 ± 5,9 ×

Os valores estão representados como média ± desvio padrão da média de medidas em triplicata. Análise estatística: teste One-way ANOVA ($p < 0,05$), seguido do teste de Tukey. O símbolo (*) representa valores estatisticamente diferentes em relação às medidas do dia 0 (D0) para as amostras do Lote 1 dentro de cada parâmetro. O símbolo (×) representa valores estatisticamente diferentes em relação às medidas do dia 0 (D0) para as amostras do Lote 2 dentro de cada parâmetro. Valores sem letras dentro de cada parâmetro indicam que não há diferenças estatísticas em relação às medidas do dia 0 (D0).

Em relação às AgNPs-PC (TABELA III-2), o DH no dia da síntese realizada no lote 1 foi de $91,74 \pm 1,1$ nm e diferiu significativamente ($p < 0,05$) da medida da alíquota de 180 dias sob refrigeração que apresentou tamanho de $100,9 \pm 1,6$ nm e da alíquota após 270 dias nessa mesma condição, com diâmetro de $114,2 \pm 8$ nm. O DH dessa amostra sintetizada no lote 2 foi de $107,3 \pm 1,3$ nm e apresentou-se estatisticamente diferente ($p < 0,05$) dos valores obtidos após 7 dias ($120,6 \pm 3,5$ nm) e 60 dias ($92,18 \pm 2,1$ nm) das amostras acondicionadas em geladeira e daqueles medidos nos dias 40 ($91,13 \pm 3$ nm), 60 ($89,32 \pm 0,8$ nm), 90 ($93,1 \pm 1,3$ nm) e 180 ($93,87 \pm 1$ nm) das amostras em temperatura ambiente. Mesmo com estas variações, ao final dos 365 dias de armazenamento, não foram notadas diferenças significativas em comparação aos valores das AgNPs recém-sintetizadas.

O PdI das AgNPs-PC recém-sintetizadas foi abaixo de 0,3 para os dois lotes e, apenas nas leituras após 270 e 365 dias, as medidas da alíquota do lote 2 mantida em geladeira foram significativamente diferentes ($p < 0,05$) da medida inicial, apresentando valores de $0,398 \pm 0,005$ e $0,399 \pm 0,031$, respectivamente (TABELA III-2). Após o término do monitoramento de estabilidade, o PtZ das AgNPs-PC foi menor, em módulo, que -30 mV para ambos os lotes e nas duas condições de armazenamento, o que fez com que essas medidas apresentassem diferenças estatísticas significativas ($p < 0,05$) em relação aos resultados obtidos no dia da síntese que foram de $-34,9 \pm 1,4$ mV e $-33,1 \pm 0,6$ mV para os lotes 1 e 2, respectivamente (TABELA III-2).

Essa convergência observada para os efeitos causados pelo armazenamento e pela avaliação da estabilidade coloidal das AgNPs sintetizadas por material vegetal coletado em estações sazonais distintas ao referir-se aos valores de potencial Zeta pode representar uma dificuldade em manter, por um longo período, as características coloidais das nanoestruturas uma vez estas sendo estabilizadas por biomoléculas vegetais que, a depender das condições de análise, podem perder tal capacidade de proteção. No entanto, torna-se de fundamental importância avaliar essas propriedades em estudos de síntese biogênica tendo em vista a necessidade de compreender os comportamentos que as AgNPs vão apresentar ao utilizar extratos altamente complexos como fonte de metabólitos ativos. Vale ressaltar que, mesmo diminuindo de forma significativa o potencial Zeta após 365 dias, manteve-se a carga negativa das AgNPs independente do lote e da condição de armazenamento e, portanto, as características iniciais e potenciais efeitos em suas aplicações ainda podem ser explorados.

Tabela III-2. Valores de diâmetro hidrodinâmico (DH), índice de polidispersividade (PdI) e potencial Zeta de superfície (PtZ) ao longo de 365 dias das nanopartículas de prata (AgNPs) sintetizadas utilizando extrato aquoso de folhas de *Paullinia cupana* coletadas no período chuvoso (PC) em dois diferentes lotes (L1 e L2) e armazenadas à temperatura ambiente (TA) e em geladeira (GEL).

Tempo/Armazenamento/Lote	AgNPs – PC		
	DH (nm)	PdI	PtZ (mV)
D0 – L1	91,74 ± 1,1 *	0,295 ± 0,019 *	-34,9 ± 1,4 *
D0 – L2	107,3 ± 1,3 ×	0,289 ± 0,022 ×	-33,1 ± 0,6 ×
D1 – TA – L1	85,37 ± 3,1	0,298 ± 0,041	-37,2 ± 6,2
D1 – GEL – L1	89,68 ± 3,9	0,33 ± 0,010	-34 ± 0,7
D1 – TA – L2	111,2 ± 10,9	0,306 ± 0,015	-32,4 ± 0,2
D1 – GEL – L2	105,3 ± 3,1	0,282 ± 0,031	-31,9 ± 1,5
D7 – TA – L1	88,38 ± 1,4	0,278 ± 0,058	-29,3 ± 0,6 *
D7 – GEL – L1	87,85 ± 1,3	0,273 ± 0,012	-29,5 ± 0,6 *
D7 – TA – L2	99,06 ± 1,0	0,281 ± 0,015	-33,2 ± 1,2
D7 – GEL – L2	120,6 ± 3,5 ×	0,326 ± 0,023	-35,1 ± 0,8
D14 – TA – L1	89,1 ± 0,3	0,230 ± 0,012	-31,6 ± 1,0
D14 – GEL – L1	92,27 ± 1,3	0,276 ± 0,017	-31,4 ± 0,5
D14 – TA – L2	97,9 ± 2,1	0,290 ± 0,016	-33 ± 0,3
D14 – GEL – L2	106 ± 3,6	0,312 ± 0,016	-34,4 ± 0,7
D40 – TA – L1	89,94 ± 0,8	0,227 ± 0,015	-33,3 ± 0,2
D40 – GEL – L1	94,35 ± 2,2	0,241 ± 0,076	-34,5 ± 0,2
D40 – TA – L2	91,13 ± 3,0 ×	0,329 ± 0,043	-35,7 ± 1,8
D40 – GEL – L2	104,3 ± 7,7	0,344 ± 0,079	-35,5 ± 1,1
D60 – TA – L1	88,8 ± 1,1	0,225 ± 0,013	-34,9 ± 0,7
D60 – GEL – L1	94,75 ± 3,2	0,214 ± 0,026	-34,3 ± 0,7
D60 – TA – L2	89,32 ± 0,8 ×	0,309 ± 0,012	-26 ± 0,7 ×
D60 – GEL – L2	92,18 ± 2,1 ×	0,378 ± 0,019	-30,7 ± 0,9
D90 – TA – L1	89,59 ± 0,9	0,244 ± 0,019	-33,5 ± 0,4
D90 – GEL – L1	96,11 ± 3,1	0,256 ± 0,015	-34,3 ± 0,5
D90 – TA – L2	93,10 ± 1,3 ×	0,345 ± 0,038	-29,5 ± 0,5
D90 – GEL – L2	99,58 ± 1,6	0,334 ± 0,038	-25,6 ± 1,2 ×
D180 – TA – L1	89,77 ± 0,8	0,261 ± 0,007	-31,1 ± 1,0
D180 – GEL – L1	100,9 ± 1,6 *	0,278 ± 0,021	-31,5 ± 0,3
D180 – TA – L2	93,87 ± 1,0 ×	0,283 ± 0,011	-33,1 ± 0,3
D180 – GEL – L2	99,76 ± 2,7	0,326 ± 0,035	-31 ± 0,5
D270 – TA – L1	88,43 ± 1,3	0,290 ± 0,040	-25,6 ± 2,1 *
D270 – GEL – L1	114,2 ± 8,0 *	0,381 ± 0,029	-21,9 ± 0,9 *
D270 – TA – L2	111,3 ± 1,3	0,302 ± 0,014	-13,2 ± 5,9 ×
D270 – GEL – L2	115,9 ± 1,4	0,398 ± 0,005 ×	-18,3 ± 0,6 ×
D365 – TA – L1	90,83 ± 2,2	0,321 ± 0,041	-23,5 ± 1,7 *
D365 – GEL – L1	90,18 ± 1,3	0,287 ± 0,019	-29,4 ± 0,1 *
D365 – TA – L2	99,96 ± 0,9	0,346 ± 0,016	-23,7 ± 1,9 ×
D365 – GEL – L2	102,5 ± 1,9	0,399 ± 0,031 ×	-26 ± 1,2 ×

Os valores estão representados como média ± desvio padrão da média de medidas em triplicata. Análise estatística: teste One-way ANOVA ($p < 0,05$), seguido do teste de Tukey. O símbolo (*) representa valores estatisticamente diferentes em relação às medidas do dia 0 (D0) para as amostras do Lote 1 dentro de cada parâmetro. O símbolo (×) representa valores estatisticamente diferentes em relação às medidas do dia 0 (D0) para as amostras do Lote 2 dentro de cada parâmetro. Valores sem letras dentro de cada parâmetro indicam que não há diferenças estatísticas em relação às medidas do dia 0 (D0).

É importante salientar que as diferenças em relação aos dados espectrais, dimensionais e elétricos observadas no decorrer dos testes de estabilidade das AgNPs podem estar relacionadas com (i) a época de coleta/localização do material vegetal, (ii) com a parte da planta utilizada, que influencia na disponibilidade das biomoléculas que vão posteriormente interagir nos processos de redução dos íons metálicos e (iii) com a temperatura/ambiente de armazenamento das suspensões coloidais, que podem causar desequilíbrio nos agentes de cobertura da superfície das AgNPs modificando o tamanho, a homogeneidade e o potencial Zeta (Akula; Ravishankar, 2011; Kuskoski *et al.*, 2012; Salles *et al.*, 2022). Dessa forma, torna-se de fundamental importância a avaliação dessas variáveis durante o monitoramento dos parâmetros físico-químicos de nanomateriais biogênicos mesmo em sínteses realizadas sob condições similares, onde ainda é esperado que tais variações ocorram e os valores obtidos podem ser estimados como reprodutíveis a depender dos casos analisados.

Portanto, ao avaliar os indicativos relatados acima, a amostra AgNPs-PS sintetizada a partir do lote 2 e a amostra AgNPs-PC sintetizada a partir do lote 1 foram as escolhidas para dar continuidade aos testes de caracterização, atividades biológicas e catalíticas. Vale ressaltar tais testes não foram realizados no intuito de indicar qual era o melhor grupo de AgNPs, mas sim de propor um estudo completo quanto à investigação de características e aplicações das AgNPs sintetizadas a partir de extratos preparados com material vegetal coletado em diferentes períodos sazonais, avaliando esse parâmetro que tem importância indispensável em pesquisas que visam explorar a biodiversidade.

2.3. Análise de Rastreamento de Nanopartículas (ARN)

Ao analisar os resultados obtidos pelo ARN (TABELA III-3), observa-se que o diâmetro de $68,5 \pm 0,7$ nm das AgNPs-PS é menor do que aquele descrito para as AgNPs-PC, com $89,3 \pm 2,1$ nm. Por sua vez, a concentração de partículas foi mais elevada para a amostra de nanoestruturas sintetizadas com folhas coletadas no período chuvoso, sendo de $1,5 \times 10^8$ partículas/mL, em comparação àquela obtida após síntese verde a partir de folhas do período seco, com $5,33 \times 10^7$ partículas/mL.

Como pode ser observado no Apêndice 12, houve uma distribuição multimodal com populações de diversos tamanhos na amostra AgNPs-PC, enquanto verificou-se uma distribuição estreita e unimodal para as AgNPs-PS. Essas características intrínsecas a cada grupo de partículas podem ser correlacionadas à capacidade quelante e redutora

dos compostos fitoquímicos disponíveis nos extratos aquosos das folhas de guaraná de cada período sazonal que podem gerar propriedades distintas nas AgNPs sintetizadas.

Tabela III-3. Diâmetro médio e concentração de nanopartículas de prata (AgNPs) sintetizadas a partir do extrato aquoso de folhas de *Paullinia cupana* coletadas no período seco (PS) e período chuvoso (PC) obtidos por Análise de Rastreamento de Nanopartículas (ARN).

Amostra	Diâmetro médio (nm)	Concentração (partículas/mL)
AgNPs-PS	68,5 ± 0,7	5,33 x 10 ⁷
AgNPs-PC	89,3 ± 2,1	1,5 x 10 ⁸

Os valores estão representados como média ± desvio padrão da média de medidas em triplicata.

Não foram encontrados estudos que utilizaram a técnica de ARN para estudar o diâmetro e a concentração de AgNPs sintetizadas a partir de extratos de *Paullinia cupana* nem de plantas relacionadas à mesma família botânica. No entanto, um estudo conduzido por De Barros (2017) mostrou que extratos da casca de laranja (*Citrus sinensis*) foram empregados na síntese verde de AgNPs e que, a partir da análise de ARN, nanoestruturas com diâmetro acima de 130 nm foram descritas. Utilizando extrato de *Aristolochia manshuriensis*, Yugay *et al.* (2023) sintetizaram AgNPs com tamanho de 119 nm e concentração de 18,32 x 10¹⁰ partículas/mL. Por sua vez, Ramos (2018) mediu a síntese de AgNPs a partir do uso do extrato do caule de cajupú (*Anacardium microcarpum*), uma planta com ocorrência na Amazônia, e verificou que ao utilizar uma concentração de 0,1% do extrato aquoso as AgNPs tinham diâmetro de 72,9 nm e concentração de 8,91 x 10⁹ partículas/mL.

2.4. Microscopia Eletrônica de Transmissão (MET) e Espectroscopia por Energia Dispersiva de Raios X (EED)

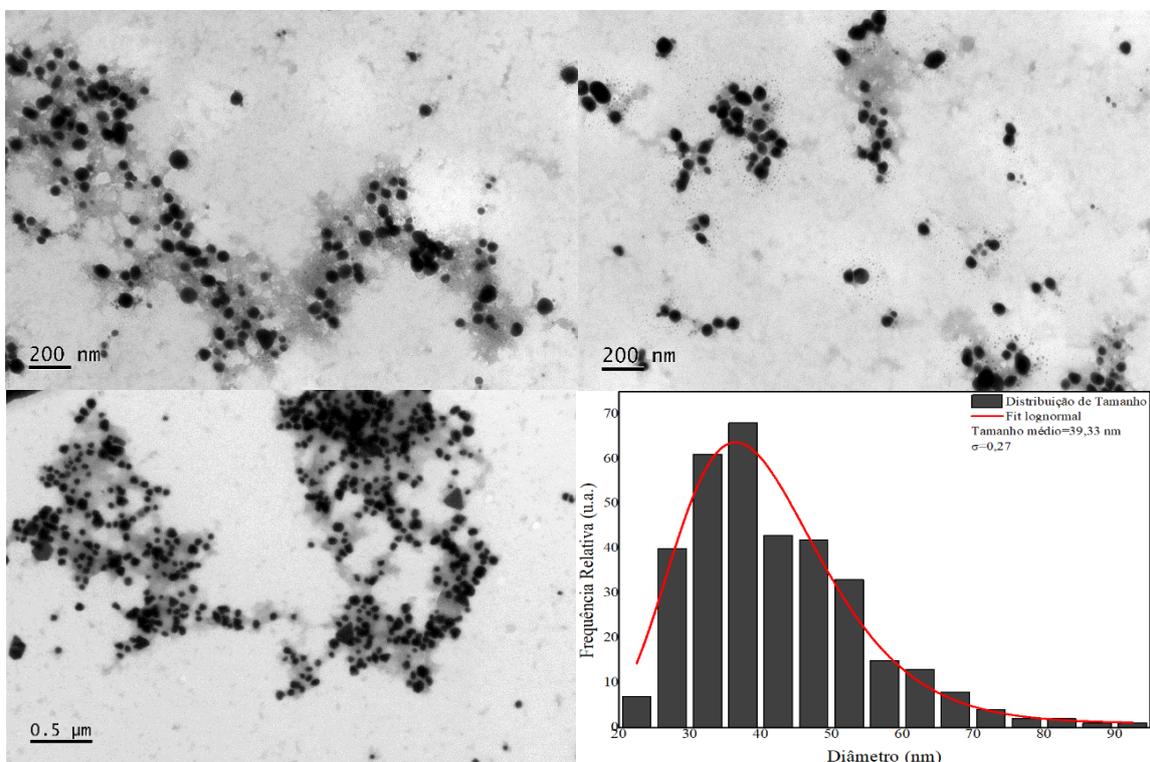
As análises por MET são amplamente realizadas em pesquisas na área de nanotecnologia uma vez que por meio desta técnica são obtidas imagens dos nanomateriais em duas dimensões, permitindo investigar seus diâmetros secos, morfologias e prováveis estados de agregação.

A Figura III-4A mostra que as AgNPs-PS têm diâmetro de 39,33 ± 0,27 nm (R²= 0,95), enquanto a Figura III-4B apresenta as AgNPs-PC com tamanho de 42,43 ± 0,26 nm (R²= 0,97), sendo que estas duas amostras incluem partículas com morfologias variadas, como por exemplo esferoidais, quase-esféricas, bastonetes, triangulares, prismáticas, hexagonais, entre outras pouco definidas. Essas morfologias podem estar

associadas às diferentes formas de nucleação das partículas que é decorrente do meio em que as formam ser complexo (Graça, 2023) e de certa maneira isso era esperado uma vez que, de acordo com a Figura III-3, as bandas plasmônicas de máxima absorção são diferentes. É importante salientar que, mesmo a partir da alteração das condições sazonais e, como consequência, dos diferentes compostos fitoquímicos entre os extratos, não foram observadas mudanças expressivas entre os diâmetros secos das AgNPs.

No geral, as imagens permitem distinguir claramente as formas e confirmam o pequeno tamanho das AgNPs, mas, a partir dos histogramas, é possível observar uma considerável distribuição no tamanho das populações das nanoestruturas, o que pode ter relação (i) com as bandas alargadas que são mostradas nos espectros de UV/Vis, (ii) com os valores medianos de PDI que refletem polidispersividade para as amostras e ainda (iii) com o pH das suspensões de AgNPs que contribuem para o aumento de tamanho das partículas (Petryayeva; Krull, 2011; Sato, 2022). Além disso, em comum às imagens, nota-se a camada de estabilização ao redor da superfície das AgNPs que se refere às biomoléculas do extrato aquoso das folhas de guaraná presentes na mistura de reação (Rengarajan *et al.*, 2023; Sadeghi; Gholamhoseinpoor, 2015; Trieu *et al.*, 2023).

A



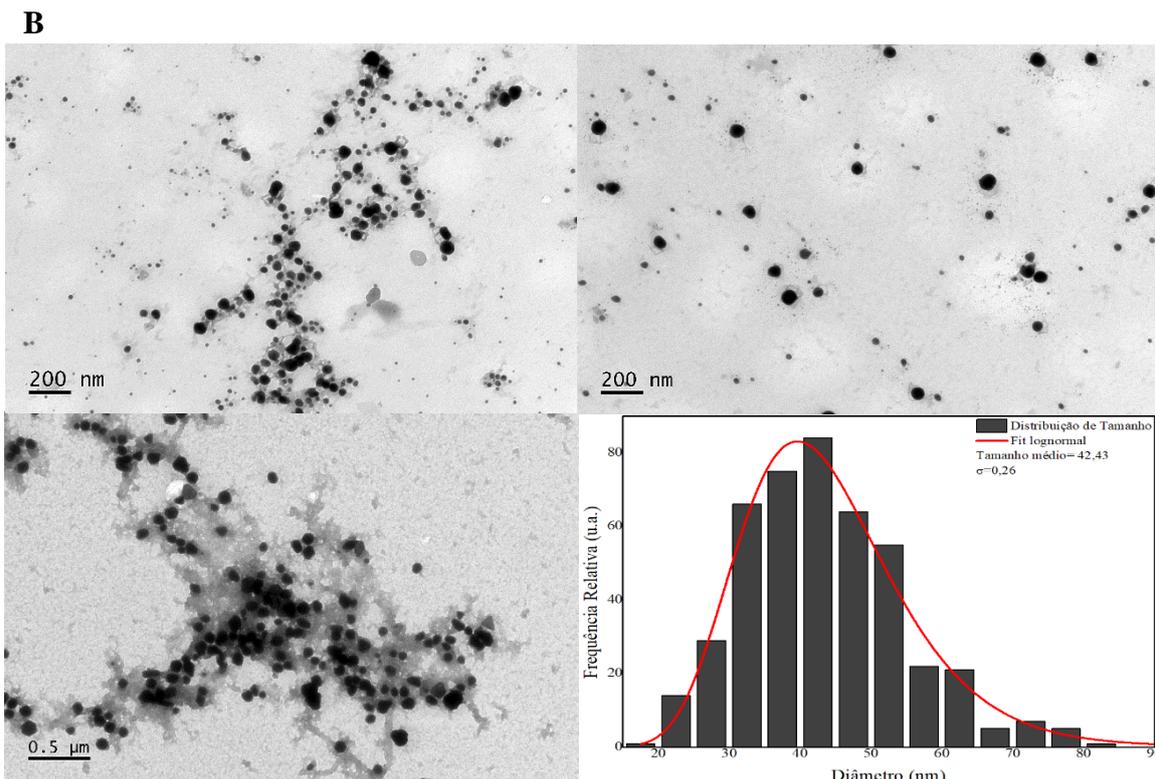


Figura III-4. Imagens obtidas por Microscopia Eletrônica de Transmissão (MET) e histogramas de distribuição de diâmetro referentes às nanopartículas de prata (AgNPs) sintetizadas a partir do extrato aquoso de folhas de *Paullinia cupana* coletadas no período seco (A) e período chuvoso (B).

Por outro lado, as informações fornecidas pela técnica de EED revelam o conteúdo dos átomos presentes nas amostras por meio, principalmente, da intensidade dos picos obtidos e que permite a quantificação dos elementos químicos. Conforme verifica-se na Figura III- 5A, a composição dada à prata pura no espectro das AgNPs-PS é de 18,03% e na Figura III-5B o teor é de 26,5% nas amostras de AgNPs-PC, com ambas apresentando picos de dispersão no início dos espectros e em torno de 3 keV, típico da prata coloidal (Bayat *et al.*, 2021; Ípek *et al.*, 2023). Foram também detectados sinais fracos de magnésio (Mg) e silício (Si), além de porcentagem considerável dos átomos de carbono (C) e oxigênio (O) que podem ser provenientes da camada de biomoléculas que cobrem a superfície das AgNPs (Hatipoğlu, 2022).

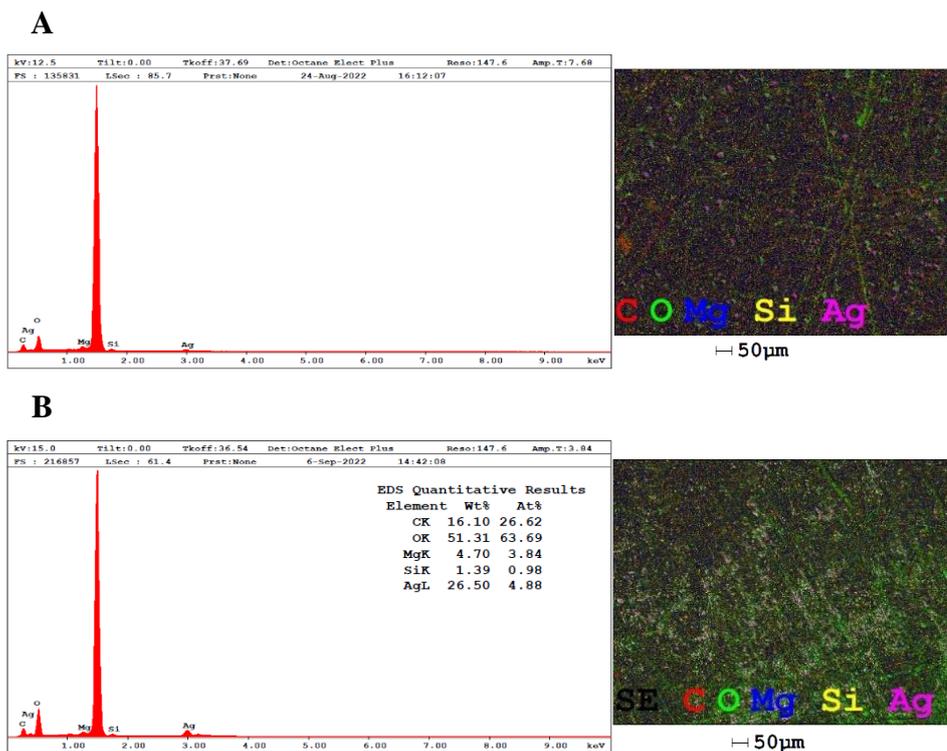


Figura III-5. Espectros por Energia Dispersiva de Raios X (EED) e mapa elementar mostrando a distribuição dos átomos presentes nas amostras de nanopartículas de prata (AgNPs) sintetizadas a partir do extrato aquoso de folhas de *Paullinia cupana* coletadas no período seco (A) e período chuvoso (B).

2.5. Aplicações biológicas e catalíticas das AgNPs-PS e AgNPs-PC

2.5.1. Atividade antibacteriana

Os valores das Concentrações Inibitórias Mínimas (CIM) de AgNPs-PS e AgNPs-PC que inibiram o crescimento de diferentes cepas bacterianas, tanto Gram-positivas quanto Gram-negativas, estão apresentadas na Tabela III-4. Nota-se que a concentração de 21,25 µg/mL foi similar para a maioria das bactérias, exceto para a cepa Gram-negativa *Salmonella enterica* cuja concentração foi o dobro, ou seja, 42,5 µg/mL, indicando uma maior resistência desta cepa bacteriana ao ser exposta às AgNPs-PS. Diferentemente, no estudo de Mehwish *et al.* (2021) a CIM de AgNPs sintetizadas a partir de extrato aquoso de semente de acácia-branca (*Moringa oleifera*) foi de 9 µg/mL para essa mesma bactéria.

Por sua vez, as bactérias *Bacillus cereus* (Gram-positiva) e *Acinetobacter baumannii* (Gram-negativa) foram mais sensíveis à ação das AgNPs-PC com CIM de 10,6 µg/mL. Tais resultados foram mais satisfatórios em relação aos obtidos por Hashemitabar, Aflakian e Sabzevar (2023) e Rather *et al.* (2022) que encontraram CIM de 25 µg/mL para as mesmas cepas após o tratamento com AgNPs sintetizadas por

extratos de *Teucrium polium* e *Cuphea carthagenensis* (sete-sangrias), respectivamente. Recentemente, AgNPs sintetizadas utilizando extrato aquoso da casca das sementes de *Paullinia cupana* apresentaram CIM de 50 µg/mL para *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus*, sendo maior que os valores descritos no presente estudo independente da amostra de AgNPs (Nogueira, 2022).

Em relação aos resultados com a solução aquosa de AgNO₃ foi visto que, em geral, o efeito inibitório no crescimento bacteriano foi superior ao observado após os tratamentos com as AgNPs. Xiu, Ma e Alvarez (2011) relatam que os íons Ag⁺ apresentam diâmetro em torno de 0,26 nm e isso aumenta sua biodisponibilidade e o potencial de assimilação pelas células bacterianas, elevando sua toxicidade para os microrganismos.

Ao analisar os valores das Concentrações Bactericidas Mínimas (CBM) (TABELA III-4) foi possível verificar que, em sua maioria, eles foram iguais ou pelo menos duas vezes superiores às concentrações relatadas para a CIM, não havendo correlação direta entre os dois grupos de AgNPs testadas que pudesse inferir qual amostra seria mais eficiente contra as bactérias avaliadas, mas sendo possível indicar que essas nanoestruturas podem ser adequadas para utilização como agentes de descontaminação bacteriana. Além disso, vale ressaltar que, com base nos valores de CIM e CBM, a susceptibilidade bacteriana foi similar para ambas as classes de bactérias testadas (Gram-positivas e Gram-negativas).

Os extratos aquosos das folhas de guaraná coletadas no período seco e período chuvoso também foram avaliados quanto ao seu potencial antibacteriano, no entanto não foram observados efeitos inibitórios no crescimento de nenhuma das bactérias (dados não mostrados), similarmente ao relatado por Antonelli-Ushirobira *et al.* (2007) que testaram o extrato de sementes de guaraná sobre *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Staphylococcus aureus* obtendo CIM acima de 1000 µg/mL, diferentemente dos compostos isolados cafeína, epicatequina e catequina que apresentaram CIM dez vezes menor que os valores do extrato bruto. Por sua vez, Carvalho *et al.* (2016) demonstraram atividade bacteriostática com CIM de 250 µg/mL ao expor as bactérias *Escherichia coli*, *Staphylococcus epidermidis* e *Staphylococcus aureus* ao extrato de sementes de guaraná.

Tabela III-4. Atividade antibacteriana de nanopartículas de prata (AgNPs) sintetizadas a partir do extrato aquoso de folhas de *Paullinia cupana* coletadas no período seco (PS), período chuvoso (PC) e da solução aquosa de nitrato de prata (AgNO₃).

Cepas bacterianas	AgNPs-PS		AgNPs-PC		AgNO ₃	
	CIM	CBM	CIM	CBM	CIM	CBM
<i>Bacillus cereus</i>	21,25	42,50	10,60	42,50	5,30	5,30
<i>Staphylococcus aureus</i>	21,25	21,25	21,25	21,25	10,60	10,60
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	21,25	42,50	21,25	42,50	10,60	10,60
<i>Acinetobacter baumannii</i>	21,25	21,25	10,60	21,25	5,30	5,30
<i>Escherichia coli</i>	21,25	21,25	21,25	21,25	10,60	21,25
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	21,25	21,25	21,25	21,25	10,60	10,60
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	21,25	42,50	21,25	42,50	21,25	42,50
<i>Salmonella enterica</i>	42,50	42,50	21,25	42,50	10,60	10,60

CIM: concentração inibitória mínima (µg/mL); CBM: concentração bactericida mínima (µg/mL).

A atividade antimicrobiana da prata é conhecida desde a antiguidade, sendo interessante devido sua alta toxicidade aos microrganismos e baixa toxicidade às células humanas (Pal; Tak; Song, 2007). Vale ressaltar que o mecanismo de ação dos íons Ag⁺ já foi anteriormente elucidado, mas não há um consenso sobre os mecanismos relacionados aos efeitos antibacterianos das AgNPs (Jung *et al.*, 2008; Salam *et al.*, 2012).

Alguns fatores são comumente relacionados à potente ação antibacteriana de AgNPs, dentre eles o pequeno diâmetro aliado à elevada área superficial que facilitam a permeação das nanoestruturas nas membranas bacterianas (Balu *et al.*, 2022; Quintero-Quiroz *et al.*, 2019). Outro fator de destaque é a atração eletrostática uma vez que os íons metálicos são carregados positivamente e a membrana celular bacteriana é carregada negativamente, promovendo assim a adsorção das partículas com posterior ação tóxica. Mesmo no caso de AgNPs carregadas negativamente, como no presente estudo, a atividade microbicida pode ocorrer uma vez que essas nanoestruturas interagem com os aminoácidos que contêm enxofre (cisteína, homocisteína, metionina,

taurina) causando danos à membrana celular das bactérias (Abbaszadegan *et al.*, 2015; Dakal *et al.*, 2016; Salvioni *et al.*, 2017).

A nível celular, as AgNPs podem interferir no metabolismo, respiração e replicação dos microrganismos uma vez que os íons Ag^+ podem interagir com alguns grupos funcionais da estrutura de proteínas ou de moléculas carregadas negativamente que estão presentes na parede celular bacteriana (tiol, sulfidril, imidazol, amino, fosfato) e com isso podem levar à alteração da estrutura proteica, mudanças de permeabilidade da membrana, geração de Espécies Reativas de Oxigênio (EROs) e ao bloqueio da síntese de ATP impedindo a divisão celular e causando a morte das bactérias (Ahmed *et al.*, 2018; Fayaz *et al.*, 2010; Lopez-Carballo *et al.*, 2013; Sathishkumar *et al.*, 2009; Yamanaka; Hara; Kudo, 2005).

2.5.2. Atividade antioxidante

2.5.2.1. DPPH

A atividade antioxidante das AgNPs-PS, AgNPs-PC e dos seus respectivos extratos vegetais, além do controle positivo (ácido ascórbico) foi avaliada pelo método de DPPH. De acordo com o observado na Figura III-6, exceto na menor concentração-teste (12,5 $\mu\text{g/mL}$) onde a inibição do radical livre causada por ambas as amostras de AgNPs foi abaixo de 20%, observam-se diferenças significativas ($p < 0,05$) entre as incubações realizadas com as AgNPs-PS e AgNPs-PC, destacando-se a ação inibitória causada pelas nanoestruturas do período chuvoso que foi de 66,86% na maior concentração (150 $\mu\text{g/mL}$), enquanto para as nanoestruturas do período seco essa porcentagem foi de 50,89%. Vale ressaltar que a atividade antioxidante do padrão ácido ascórbico foi superior a 95%, independente da concentração utilizada e, portanto, diferiu consideravelmente ($p < 0,05$) dos valores obtidos após as incubações do radical livre com as AgNPs que tiveram um comportamento dose-dependente.

Os valores de IC_{50} expressam a concentração necessária do agente antioxidante para reduzir pela metade a quantidade do radical livre e, dessa forma, quanto menores são esses valores, maior é atividade antioxidante. Para o ácido ascórbico, o IC_{50} foi de 22,43 $\mu\text{g/mL}$, enquanto para as AgNPs-PS e AgNPs-PC são necessários 43,16 $\mu\text{g/mL}$ e 36,93 $\mu\text{g/mL}$, respectivamente, para que aconteça a mesma redução do DPPH. Tais resultados são mais eficientes do que o relatado por Dua *et al.* (2023) e Badmus *et al.* (2020) que obtiveram um IC_{50} de 48,96 $\mu\text{g/mL}$ e 51,8 $\mu\text{g/mL}$ ao testar a atividade

antioxidante de AgNPs sintetizadas a partir do extrato de *Eupatorium adenophorum* e *Annona muricata* (graviola), respectivamente.

Os extratos aquosos das folhas de *Paullinia cupana* coletadas nos diferentes períodos sazonais foram testados em concentrações mais elevadas em relação às concentrações das AgNPs tendo em vista as suas condições iniciais de preparo (concentração bruta de 100 mg/mL). A partir do demonstrado na Figura III-6, observa-se que o EPC tem atividade antioxidante próxima ao controle positivo (ácido ascórbico) a partir da concentração de 500 µg/mL, com inibição acima de 90% (IC₅₀ de 229,7 µg/mL), diferentemente do EPS que tem capacidade antioxidante dependente da dose e apenas chegou próximo a esse percentual de inibição na maior concentração-teste (1500 µg/mL), com IC₅₀ de 476,4 µg/mL. No estudo de Dalonso e Petkowicz (2012), o extrato metanólico de sementes de guaraná apresentou uma forte capacidade de eliminação do radical DPPH que variou de 83,4% a 90,9% em concentrações de 100 a 10000 µg/mL.

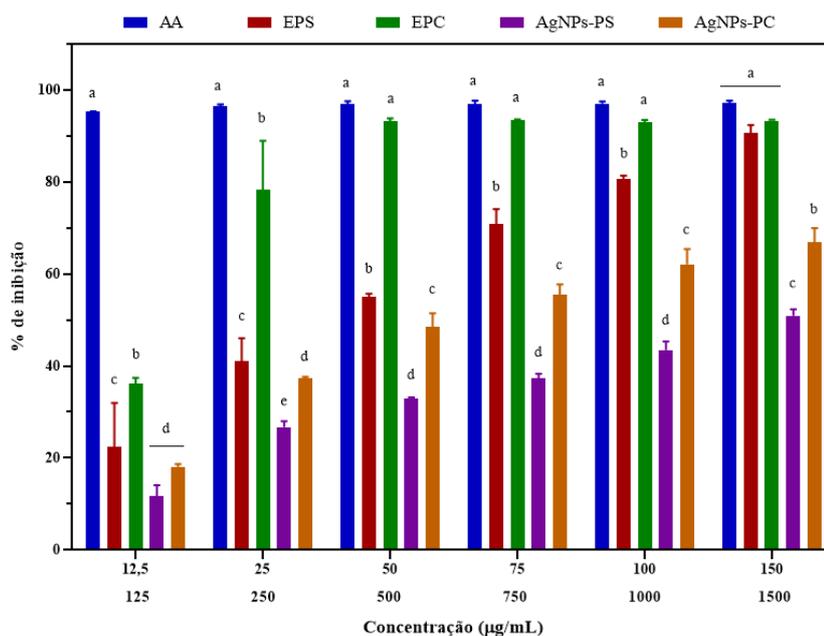


Figura III-6. Atividade antioxidante de nanopartículas de prata (AgNPs) sintetizadas a partir do extrato aquoso de folhas de *Paullinia cupana* coletadas no período seco (PS) e período chuvoso (PC), além de seus respectivos extratos aquosos (EPS e EPC) e da solução aquosa de ácido ascórbico (AA) contra o radical livre DPPH. Dentro de cada concentração, diferentes letras sobrescritas indicam significância estatística ($p < 0,05$) pelo teste Two-Way ANOVA, seguido do teste de Tukey. No eixo X, a linha superior indica as concentrações-teste das AgNPs e do AA. A linha inferior indica as concentrações-teste dos extratos aquosos de folhas de *Paullinia cupana*.

2.5.2.2. ABTS

A determinação da atividade antioxidante contra o radical ABTS resultou em inibição similar, sem diferenças estatísticas ($p < 0,05$), quando comparados os resultados das AgNPs-PS e AgNPs-PC nas concentrações entre 12,5 $\mu\text{g/mL}$ e 75 $\mu\text{g/mL}$ (FIGURA III-7). Apesar da capacidade inibitória ter aumentado de maneira dependente à dose, foi observado apenas nas duas maiores concentrações-teste inibições significativas ($p < 0,05$) entre as amostras, com as AgNPs-PC promovendo inibição de 68,32% e 73,62% do ABTS e as AgNPs-PS com porcentagens de 64,34% e 66,72% de inibição nas concentrações de 100 $\mu\text{g/mL}$ e 150 $\mu\text{g/mL}$, respectivamente. Ao analisar a ação do ácido ascórbico verifica-se que, a partir de uma concentração intermediária, há quase 100% de inibição do ABTS, com IC_{50} de 24,98 $\mu\text{g/mL}$ e percentual inibitório estatisticamente diferente ($p < 0,05$) das AgNPs independente da dose.

Em relação aos valores de IC_{50} das AgNPs, as nanoestruturas do período seco tiveram uma concentração sutilmente menor (54,2 $\mu\text{g/mL}$) do que as do período chuvoso (61,19 $\mu\text{g/mL}$), mas ambas foram mais eficientes ao comparar com o resultado obtido por Loganathan *et al.* (2022) que sintetizaram AgNPs a partir o extrato aquoso de *Passiflora subpeltata* e verificaram que a concentração inibitória obtida no teste antioxidante contra o radical ABTS foi de 109,94 $\mu\text{g/mL}$.

No ensaio antirradical ABTS utilizando os extratos vegetais das folhas de *Paullinia cupana*, exceto na menor concentração testada (125 $\mu\text{g/mL}$), o EPC apresentou destaque tendo aumento na porcentagem de inibição de maneira dose-dependente e sendo estatisticamente diferente ($p < 0,05$) do EPS. O IC_{50} dos extratos foi 414,5 $\mu\text{g/mL}$ e 445,3 $\mu\text{g/mL}$ para extratos foliares do período seco e chuvoso, respectivamente (FIGURA III-7). Silva *et al.* (2022) encontraram um potencial antioxidante referente à eliminação do radical ABTS a partir da utilização de extratos das sementes e cascas de guaraná de 9534 μM equivalentes de Trolox/gEA e 68 μM equivalentes de Trolox/gEA, respectivamente.

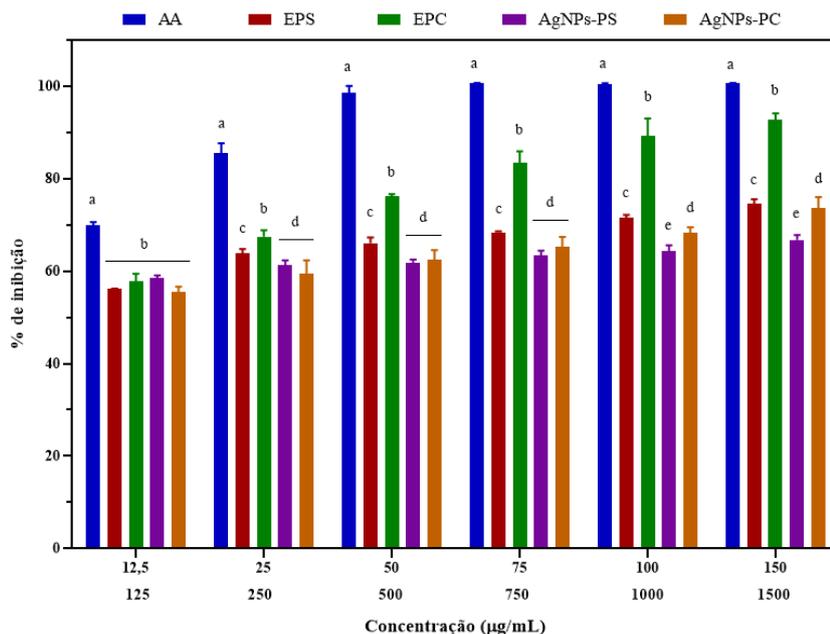


Figura III-7. Atividade antioxidante de nanopartículas de prata (AgNPs) sintetizadas a partir do extrato aquoso de folhas de *Paullinia cupana* coletadas no período seco (PS) e período chuvoso (PC), além de seus respectivos extratos aquosos (EPS e EPC) e da solução aquosa de ácido ascórbico (AA) contra o radical livre ABTS. Dentro de cada concentração, diferentes letras sobreescritas indicam significância estatística ($p < 0,05$) pelo teste Two-Way ANOVA, seguido do teste de Tukey. No eixo X, a linha superior indica as concentrações-teste das AgNPs e do AA. A linha inferior indica as concentrações-teste dos extratos aquosos de folhas de *Paullinia cupana*.

De acordo com Valko *et al.* (2006), as células vegetais anulam os efeitos prejudiciais causados pelas EROs por meio da produção de componentes enzimáticos que atuam no desenvolvimento da planta (peroxidase, superóxido dismutase) e por componentes não enzimáticos (compostos fenólicos, flavonóides) que são a principal fonte de moléculas antioxidantes. Tais componentes agem por meio de seus grupos hidroxilas e anéis aromáticos em mecanismos que envolvem transferência de elétrons livres e/ou átomos de hidrogênio, além de desempenharem um efeito sinérgico agindo também como redutores e estabilizadores durante a síntese das AgNPs biogênicas (Hussain *et al.*, 2019; Zhang; Tsao, 2016). As atividades antioxidantes reportadas para os extratos aquosos de guaraná corroboram com os achados descritos na Tabela I-1 do tópico 2.2.1 do Capítulo I onde é possível verificar que a quantificação de compostos fenólicos na preparação por decocção com folhas do período chuvoso foi de 728,4 µgEAG/gEA em comparação ao extrato preparado com folhas do período seco que teve conteúdo fenólico de 437,5 µgEAG/gEA.

2.5.3. Atividade anticâncer

A Figura III-8 evidencia que nos experimentos com as células A431 (câncer de pele não-melanoma) após exposição às AgNPs e ao controle positivo (AgNO_3) houve menos de 20% de células vivas na maior concentração-teste (20 $\mu\text{g/mL}$) independente da amostra utilizada e tais resultados apresentaram diferença significativa ($p < 0,05$) em relação ao controle experimental. Para essas amostras foi observado um comportamento dose-dependente, com os valores de IC_{50} para a solução aquosa do sal metálico, para as AgNPs-PS e para as AgNPs-PC de 5,122 $\mu\text{g/mL}$, 5,851 $\mu\text{g/mL}$ e 5,51 $\mu\text{g/mL}$, respectivamente. No estudo de Singh *et al.* (2021), o tratamento com AgNPs sintetizadas utilizando extrato de folhas de mamão (*Carica papaya*) diminuiu em 36% a viabilidade das células A431 na concentração de 5 $\mu\text{g/mL}$.

Os extratos aquosos das folhas de guaraná causaram, no máximo, 7% de perda na viabilidade das células A431 mesmo tendo sido empregados em concentrações superiores (tendo em vista sua concentração inicial de 100 mg/mL), com o EPS apresentando IC_{50} de 458,2 $\mu\text{g/mL}$, enquanto para o EPC esse valor chegou a 638,1 $\mu\text{g/mL}$ (FIGURA III-8).

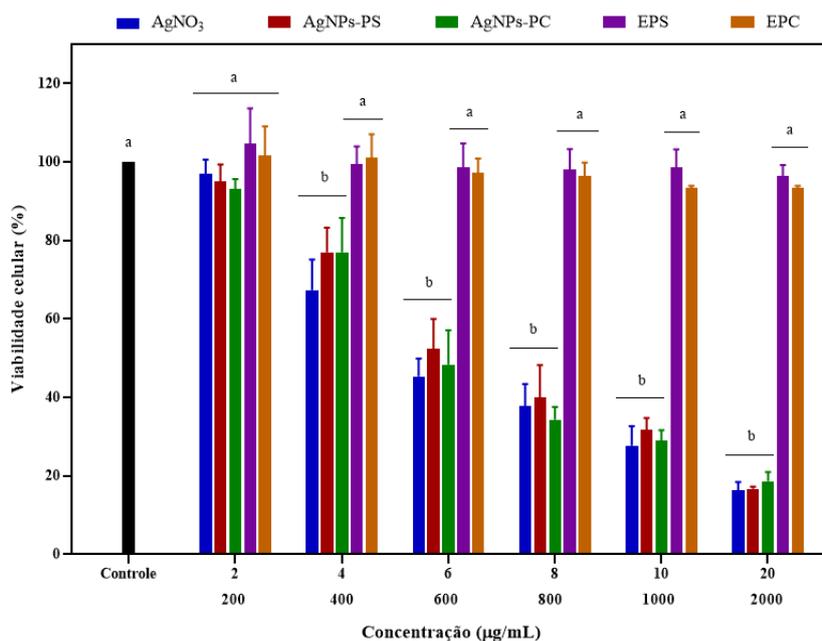


Figura III-8. Viabilidade celular da linhagem A431 (câncer de pele não-melanoma) após incubação por 24 horas com diferentes concentrações de nanopartículas de prata (AgNPs) sintetizadas a partir do extrato aquoso de folhas de *Paullinia cupana* coletadas no período seco (PS) e período chuvoso (PC), além de seus respectivos extratos aquosos (EPS e EPC) e da solução aquosa de nitrato de prata (AgNO₃). O controle foi realizado apenas com meio de cultivo suplementado, sem nenhum tratamento. Dados expressos em barras que representam a média \pm desvio padrão da média de três experimentos independentes em quadruplicata. Teste Two-Way ANOVA, seguido do teste de Tukey, onde letras diferentes significam diferenças significativas ($p < 0,0001$) em relação ao controle. No eixo X, a linha superior indica as concentrações-teste das AgNPs e do AgNO₃. A linha inferior indica as concentrações-teste dos extratos aquosos de folhas de *Paullinia cupana*.

De acordo com a Figura III-9, ao analisar os dados de citotoxicidade frente às células HaCaT (queratinócitos de pele humana) foi verificado que apenas na menor concentração (2 µg/mL) nenhum tratamento proposto culminou em alterações significativas ($p < 0,05$) na viabilidade em relação ao controle experimental. A partir da concentração de 4 µg/mL as AgNPs apresentaram um número de células vivas abaixo de 45% e este valor foi decaindo até a maior concentração-teste (20 µg/mL), onde a viabilidade das células foi de 2,75% e 3,25% para as AgNPs-PS (IC₅₀ 3,94 µg/mL) e AgNPs-PC (IC₅₀ 3,909 µg/mL), respectivamente, similarmente ao encontrado após exposição à solução aquosa de AgNO₃ (IC₅₀ 3,497 µg/mL). Por outro lado, Badmus *et al.* (2020) não observaram citotoxicidade ao expor AgNPs sintetizadas a partir do extrato aquoso das folhas de graviola (*Annona muricata*) em HaCaT nas concentrações entre 4,37 e 35 µg/mL.

Por sua vez, ao incubar as células HaCaT com diferentes concentrações dos extratos aquosos de folhas de *Paullinia cupana* coletadas no período seco e chuvoso

verificou-se que estes não promoveram perdas expressivas da viabilidade em comparação ao controle experimental uma vez que na maior concentração testada (2000 $\mu\text{g/mL}$) cerca de 95% das células permaneceram vivas e o IC_{50} foi definido em 1106 $\mu\text{g/mL}$ para o EPS e 1052 $\mu\text{g/mL}$ para o EPC (FIGURA III-9).

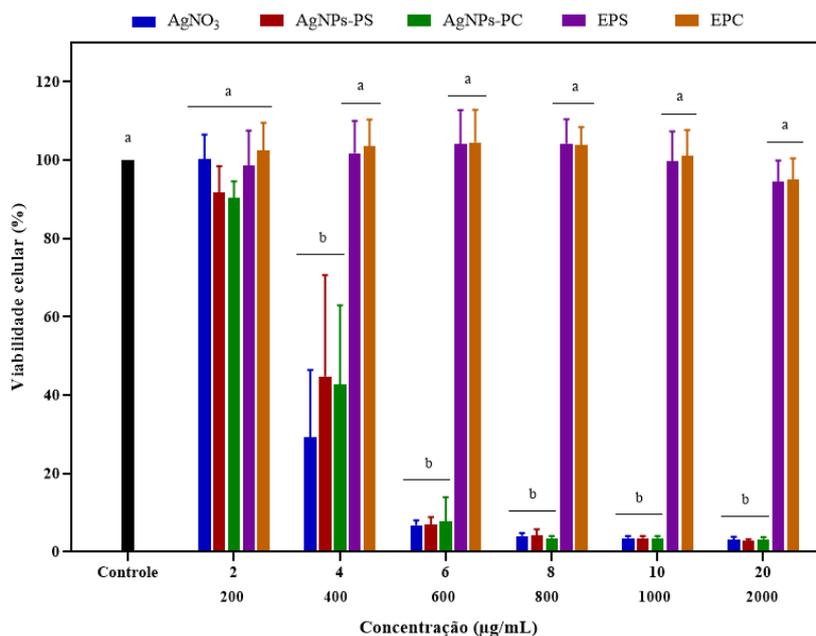


Figura III-9. Viabilidade celular da linhagem HaCaT (queratinócitos de pele humana) após incubação por 24 horas com diferentes concentrações de nanopartículas de prata (AgNPs) sintetizadas a partir do extrato aquoso de folhas de *Paullinia cupana* coletadas no período seco (PS) e período chuvoso (PC), além de seus respectivos extratos aquosos (EPS e EPC) e da solução aquosa de nitrato de prata (AgNO_3). O controle foi realizado apenas com meio de cultivo suplementado, sem nenhum tratamento. Dados expressos em barras que representam a média \pm desvio padrão da média de três experimentos independentes em quadruplicata. Teste Two-Way ANOVA, seguido do teste de Tukey, onde letras diferentes significam diferenças significativas ($p < 0,0001$) em relação ao controle. No eixo X, a linha superior indica as concentrações-teste das AgNPs e do AgNO_3 . A linha inferior indica as concentrações-teste dos extratos aquosos de folhas de *Paullinia cupana*.

Ao analisar a viabilidade das células A549 (adenocarcinoma de pulmão) expostas às AgNPs, observou-se diminuição considerável ($p < 0,05$) da viabilidade celular em comparação ao controle e ao AgNO_3 em todas as concentrações (FIGURA III-10). Com o aumento da concentração das nanoestruturas foi visualizado um comportamento dose-dependente chegando a 5% e 7% de viabilidade celular causada pelas AgNPs-PS e AgNPs-PC na maior concentração empregada (20 $\mu\text{g/mL}$) e IC_{50} de 5,436 $\mu\text{g/mL}$ e 5,609 $\mu\text{g/mL}$, respectivamente. O sal metálico foi o tratamento que mais resultou em sensibilidade às células tendo como IC_{50} um valor de 4,75 $\mu\text{g/mL}$. Recentemente, Pandey *et al.* (2023) observaram alterações na morfologia de células

A549 tratadas com diferentes concentrações de AgNPs (5 a 25 $\mu\text{g}/\text{mL}$) sintetizadas a partir de extrato foliar de *Blumea lacera*.

Os extratos aquosos de folhas de *Paullinia cupana* apresentaram um baixo perfil de citotoxicidade às células A549 independente da concentração testada, mantendo-as viáveis para além de 90% mesmo quando foram utilizados 2000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ (FIGURA III-10). Em relação ao IC_{50} , o EPC apresentou valor de 1017 $\mu\text{g}/\text{mL}$, enquanto o EPS causou maior susceptibilidade, com IC_{50} de 827,5 $\mu\text{g}/\text{mL}$.

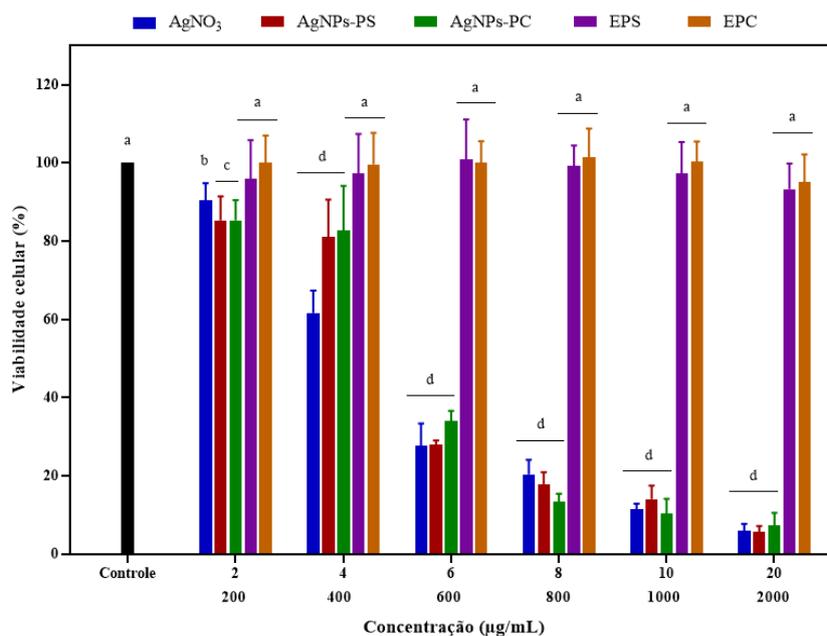


Figura III-10. Viabilidade celular da linhagem A549 (adenocarcinoma de pulmão) após incubação por 24 horas com diferentes concentrações de nanopartículas de prata (AgNPs) sintetizadas a partir do extrato aquoso de folhas de *Paullinia cupana* coletadas no período seco (PS) e período chuvoso (PC), além de seus respectivos extratos aquosos (EPS e EPC) e da solução aquosa de nitrato de prata (AgNO_3). O controle foi realizado apenas com meio de cultivo suplementado, sem nenhum tratamento. Dados expressos em barras que representam a média \pm desvio padrão da média de três experimentos independentes em quadruplicata. Teste Two-Way ANOVA, seguido do teste de Tukey, onde letras diferentes significam diferenças significativas ($p < 0,0001$) em relação ao controle. No eixo X, a linha superior indica as concentrações-teste das AgNPs e do AgNO_3 . A linha inferior indica as concentrações-teste dos extratos aquosos de folhas de *Paullinia cupana*.

Os resultados de viabilidade celular de fibroblastos da linhagem HNTMC estão demonstrados na Figura III-11. Nota-se que apenas na menor concentração de AgNPs e AgNO_3 não há diferenças estatísticas significativas ($p < 0,05$) em relação ao controle experimental e que a partir da concentração de 6 $\mu\text{g}/\text{mL}$ essas amostras são altamente citotóxicas, reduzindo a viabilidade para abaixo de 20%, mantendo-se dessa maneira até a maior concentração testada (20 $\mu\text{g}/\text{mL}$). Quando avaliados os valores de IC_{50} , o ensaio confirmou que o tratamento com a solução de sal metálico foi mais danoso às células,

apresentando valor de 3,49 $\mu\text{g/mL}$, seguido dos resultados para as nanoestruturas com IC_{50} em 4 $\mu\text{g/mL}$ para as AgNPs-PS e 4,231 $\mu\text{g/mL}$ para as AgNPs-PC.

Não foram encontrados estudos que testaram o efeito citotóxico de AgNPs na linhagem HNTMC. No entanto Silva *et al.* (2021) relataram que a exposição por 24 horas dessas células a nanopartículas magnéticas com funcionalização de superfície resultou em um IC_{50} de 1,86 $\mu\text{g/mL}$, com morte celular induzida por apoptose. Por sua vez, Jovito *et al.* (2021) demonstraram ação citotóxica reduzida nas células HNTMC após exposição por 24 horas à nanofolhas de óxido de grafeno e suas conjugações, com viabilidade em torno de 75% na concentração de 200 $\mu\text{g/mL}$.

Os efeitos dos extratos aquosos de folhas de *Paullinia cupana* revelaram sutis diferenças quanto ao potencial de inibição da viabilidade de células HNTMC (FIGURA III-11). Após a exposição ao EPS, aproximadamente 91% de células permaneceram vivas na maior concentração (IC_{50} de 998,3 $\mu\text{g/mL}$), enquanto o tratamento com o EPC promoveu a manutenção da viabilidade igual ou superior a 100% em qualquer concentração empregada (IC_{50} de 309,6 $\mu\text{g/mL}$).

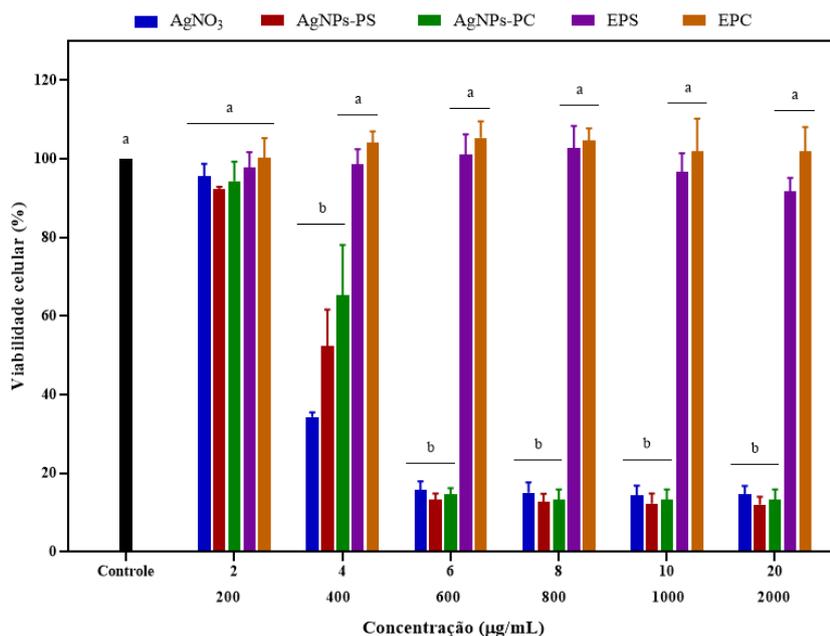


Figura III-11. Viabilidade celular da linhagem HNTMC (fibroblastos) após incubação por 24 horas com diferentes concentrações de nanopartículas de prata (AgNPs) sintetizadas a partir do extrato aquoso de folhas de *Paullinia cupana* coletadas no período seco (PS) e período chuvoso (PC), além de seus respectivos extratos aquosos (EPS e EPC) e da solução aquosa de nitrato de prata (AgNO₃). O controle foi realizado apenas com meio de cultivo suplementado, sem nenhum tratamento. Dados expressos em barras que representam a média \pm desvio padrão da média de três experimentos independentes em quadruplicata. Teste Two-Way ANOVA, seguido do teste de Tukey, onde letras diferentes significam diferenças significativas ($p < 0,0001$) em relação ao controle. No eixo X, a linha superior indica as concentrações-teste das AgNPs e do AgNO₃. A linha inferior indica as concentrações-teste dos extratos aquosos de folhas de *Paullinia cupana*.

Dessa forma, essa investigação descreve atividades citotóxicas não específicas das AgNPs sintetizadas a partir dos extratos aquosos das folhas de *Paullinia cupana* uma vez que as nanoestruturas demonstraram citotoxicidade tanto contra as células cancerosas quanto às células não cancerosas. Ademais, é possível indicar que nenhuma diferença considerável em termos de porcentagem de viabilidade celular foi observada ao comparar os efeitos induzidos pelas AgNPs-PS com as AgNPs-PC e nem entre o EPS e EPC independente da linhagem celular e/ou concentração testada.

Essa pesquisa baseou-se na síntese verde de AgNPs utilizando extratos aquosos das folhas de *Paullinia cupana*, uma espécie nativa da biodiversidade amazônica, onde pôde-se avaliar, entre outros aspectos, a composição fitoquímica dos extratos foliares obtidos a partir de coleta em diferentes períodos sazonais e ainda pela preparação por distintos métodos. Em geral, os efeitos benéficos ou deletérios causados pelas nanoestruturas podem ser correlacionados com os metabólitos dos extratos vegetais utilizados nas reações de síntese verde uma vez que as biomoléculas podem atuar como fonte de energia favorecendo a sobrevivência das células ou atuar de forma sinérgica juntamente com a ação tóxica da prata nanoestruturada já que tais metabólitos podem, por si só, causar citotoxicidade às células. Além disso, a atividade citotóxica das AgNPs pode ainda ser desencadeada por diversos fatores, entre eles (i) a influência da dose/concentração de partículas, (ii) o tamanho, (iii) a morfologia, (iv) a carga de superfície (potencial Zeta), (v) o tipo de cobertura na superfície e (vi) o tempo de incubação com as células (Barbalinardo *et al.*, 2018; Gliga *et al.*, 2014; Nguyen *et al.*, 2013; Soares *et al.*, 2016; Stoehr *et al.*, 2011).

De forma geral, como observado nas Figuras III-8, III-9, III-10, e III-11, os extratos aquosos foliares não afetaram significativamente a viabilidade das células não cancerosas em nenhuma das concentrações testadas, apresentando similaridade com os resultados obtidos pelo controle, diferindo estatisticamente das suas respectivas nanoestruturas e em algumas concentrações causando até mesmo proliferações celulares mesmo que esses aumentos não tenham acontecido de forma dose-dependente. Tais resultados são consistentes com estudos prévios onde a citotoxicidade de extratos de guaraná contendo biomoléculas funcionais como a cafeína, teobromina, catequina, epicatequina e taninos foi avaliada sob células não cancerosas. Lima *et al.* (2017) expuseram fibroblastos da linhagem NIH-3T3 ao extrato de guaraná e constataram que cerca de 90% das células continuaram viáveis, semelhante ao descrito por Bittencourt *et al.* (2013) que relataram a ausência de citotoxicidade do extrato de sementes de guaraná

sobre a mesma linhagem celular ao testar concentrações entre 0,5 e 10 mg/mL, após 6 horas de incubação. Roggia *et al.* (2020) incubaram células da micróglia (linhagem BV-2) com extratos do pó de guaraná e obtiveram aumento de células viáveis duas vezes maior em relação à viabilidade alcançada pelo controle negativo, após 24 horas.

Mesmo sem relatos da atividade anticâncer de AgNPs sintetizadas com partes vegetais de *Paullinia cupana*, algumas pesquisas foram realizadas e demonstraram o efeito na viabilidade de células cancerosas após o tratamento com extratos de guaraná ou com metabólitos isolados da planta. No estudo de Carvalho *et al.* (2016), o extrato bruto de sementes de guaraná revelou-se antiproliferativo quando testado sob o crescimento de células de leucemia HL-60, com IC₅₀ de 70,25 µg/mL. Por sua vez, Cadoná *et al.* (2017) observaram que o extrato de guaraná foi eficaz na diminuição de colônias de células cancerosas de mama MCF-7 em concentrações a partir de 0,1 µg/mL, enquanto para as células cancerosas de cólon HT-29 essa diminuição ocorreu apenas na concentração de 100 µg/mL. O alcaloide teobromina foi responsável pela inibição da proliferação de células de glioblastoma da linhagem U87-MG a partir da concentração de 3 µM, causando ainda alterações morfológicas evidentes, como por exemplo o encolhimento das células tumorais (Sugimoto *et al.*, 2014).

2.5.4. Atividade inseticida

Essa etapa do estudo aborda a avaliação da atividade inseticida das nanoestruturas diante de larvas e pupas do mosquito *Aedes aegypti*. Como relatado anteriormente, esse ensaio foi conduzido apenas com a amostra AgNPs-PS tendo em vista (i) a ordem de coleta do material vegetal que foi, inicialmente, realizada no período seco, (ii) a disponibilidade de tempo e de recursos da equipe técnico-científica do Insetário ArboControl, onde os testes foram realizados e (iii) a ausência de diferenças expressivas nos resultados obtidos nos tópicos anteriores do Capítulo III no que tange às investigações das bioatividades das AgNPs-PS e AgNPs-PC.

Resumidamente, o ciclo de desenvolvimento do mosquito *Aedes aegypti*, transmissor de arboviroses como a dengue, Zika e Chikungunya, após a eclosão dos ovos, compreende a fase larval onde os organismos passam por quatro estágios (L1, L2, L3 e L4), também chamados de instar, que são os períodos de alimentação e crescimento e nos quais há a troca da estrutura referente ao exoesqueleto (Anoopkumar *et al.*, 2017). Por sua vez, as pupas do *Aedes aegypti* não se alimentam e são formadas logo após as larvas do quarto estágio de desenvolvimento adquirirem tamanho e energia

suficiente para ativar a metamorfose completa, sendo considerada a fase anterior que dá origem aos mosquitos adultos (Chouin-Carneiro; Santos, 2017).

2.5.4.1. Ensaio em larvas de *Aedes aegypti*

Tendo em vista a maior vulnerabilidade na fase larval, os ensaios foram realizados com as larvas do terceiro instar a partir da exposição dos organismos às AgNPs e à solução aquosa do sal metálico (AgNO_3) (controle positivo). Os resultados mostram que os efeitos deletérios são dose-dependentes e mais proeminentes com o passar do tempo, sendo que a CL_{50} e a CL_{90} , juntamente com os valores de limite de confiança inferior e superior, além dos valores de R^2 são apresentados na Tabela III-5.

Tabela III-5. Atividade inseticida das nanopartículas de prata sintetizadas a partir do extrato aquoso de folhas de *Paullinia cupana* coletadas no período seco (AgNPs-PS) e da solução aquosa de nitrato de prata (AgNO_3) após 24, 48 e 72 horas de exposição em larvas do terceiro instar de *Aedes aegypti*.

Amostra	Tempo (h)	CL_{50} ($\mu\text{g/mL}$) (IC 95%)	CL_{90} ($\mu\text{g/mL}$) (IC 95%)	R^2
AgNPs-PS	24	9,936 (9,273 – 10,22)	15,64 (13,96 – 17,23)	0,8451 (CL_{50}) 0,8434 (CL_{90})
	48	1,669 (1,347 – 2,040)	3,867 (3,137 – 4,571)	0,8470 (CL_{50}) 0,8313 (CL_{90})
	72	0,6097 (0,5475 – 0,6849)	1,065 (0,8841 – 1,240)	0,9322 (CL_{50}) 0,9266 (CL_{90})
AgNO_3	24	9,179 (8,345 – 9,873)	14,50 (12,99 – 16,03)	0,8862 (CL_{50}) 0,8822 (CL_{90})
	48	2,682 (2,335 – 3,071)	6,955 (5,695 – 8,100)	0,9242 (CL_{50}) 0,9231 (CL_{90})
	72	0,9730 (0,8478 – 1,114)	2,457 (2,196 – 2,701)	0,9452 (CL_{50}) 0,9373 (CL_{90})

CL_{50} : concentração letal para 50% das larvas; CL_{90} : concentração letal para 90% das larvas; IC: intervalo de confiança de 95% (inferior - superior); R^2 : coeficiente de correlação.

As curvas de dose-resposta das Figuras III-12 e III-13 apresentam similaridades nos índices de mortalidade (%) dos testes realizados com as AgNPs-PS e com o AgNO_3 , respectivamente. No geral, a susceptibilidade das larvas às nanoestruturas foi maior em comparação àquela observada após o contato dos organismos com a solução aquosa do sal metálico. Os valores de CL_{50} das AgNPs foram de 9,936 $\mu\text{g/mL}$ (24h), 1,669 $\mu\text{g/mL}$ (48h) e 0,6097 $\mu\text{g/mL}$ (72h), enquanto para o AgNO_3 tais valores foram de 9,179 $\mu\text{g/mL}$ (24h), 2,682 $\mu\text{g/mL}$ (48h) e 0,9730 $\mu\text{g/mL}$ (72h) (TABELA III-5).

Elumalai *et al.* (2016) obtiveram CL₅₀ de 21,23 µg/mL para a solução aquosa de AgNO₃ a 1 mM após exposição contra as larvas do mosquito *Aedes aegypti*. Similarmente ao descrito em nossa pesquisa, Azarudeen *et al.* (2017b) encontraram CL₅₀ de 9,2 µg/mL para as AgNPs de *Merremia emarginata* contra as larvas de *Aedes aegypti* após 24h, enquanto Amarasinghe *et al.* (2020) e Sharma, Kumar e Tripathi (2019) relataram CL₅₀ de 1,51 µg/mL e 0,61 µg/mL após 48h e 72h, utilizando AgNPs sintetizadas a partir de extratos de *Annona glabra* (araticum-do-brejo) e *Achyranthes aspera*, respectivamente.

A fim de compreender de maneira mais aprofundada o potencial larvicida das amostras, foram calculados os valores de CL₉₀ após o período do experimento (TABELA III-5). As concentrações referentes às AgNPs consistiram em 15,64 µg/mL, 3,867 µg/mL e 1,065 µg/mL, respectivamente para os intervalos de 24h, 48h e 72h. Por sua vez, exceto no tempo de 24h onde a CL₉₀ da solução aquosa do AgNO₃ foi inferior (14,5 µg/mL), a exposição das larvas ao sal metálico resultou em concentrações superiores no decorrer de 48h (6,955 µg/mL) e 72h (2,457 µg/mL). No estudo de Kumar *et al.* (2017), foi descrita CL₉₀ de 12,11 µg/mL para AgNPs sintetizadas a partir do extrato foliar de *Derris trifoliata* e no estudo de Parthiban *et al.* (2019) a CL₉₀ das AgNPs sintetizadas utilizando o extrato de *Annona reticulata* (condessa) foi 13,96 µg/mL, valendo-se ressaltar que esses valores foram muito próximos aos obtidos pelas AgNPs sintetizadas pelos extratos foliares de *Paullinia cupana* após 24h.

Em suma, as AgNPs sintetizadas a partir do extrato aquoso de folhas de guaraná controlaram efetivamente o crescimento das larvas de *Aedes aegypti*, sendo mais eficazes que a solução aquosa do sal metálico, principalmente após 48h e 72h de exposição. É válido lembrar que utilizar uma estratégia para controlar a população desses vetores torna-se importante na redução da ocorrência de diferentes doenças letais transmitidas por eles e que podem afetar de maneira descontrolada a população mundial. Sendo assim, as AgNPs que foram sintetizadas neste estudo podem ser potenciais candidatas à protagonistas nesta estratégia de controle biológico.

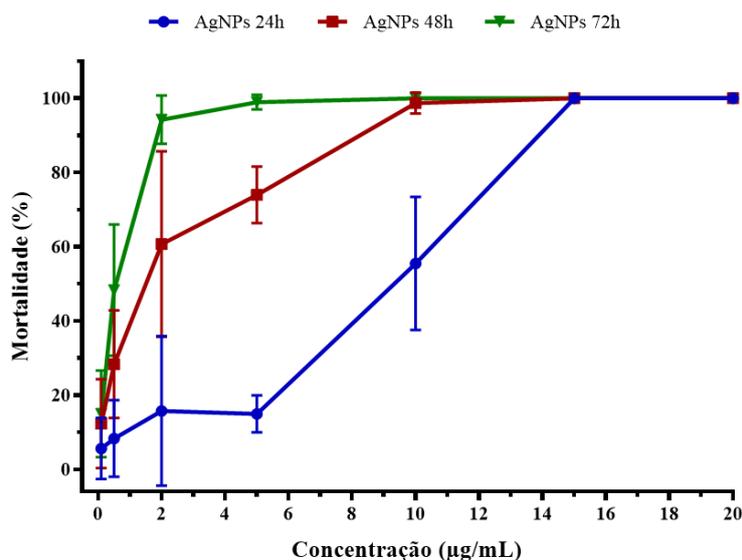


Figura III-12. Curva dose-resposta (mortalidade – %) das larvas de *Aedes aegypti* após exposição por 24, 48 e 72 horas a diferentes concentrações de nanopartículas de prata sintetizadas a partir do extrato aquoso de folhas de *Paullinia cupana* coletadas no período seco (AgNPs-PS).

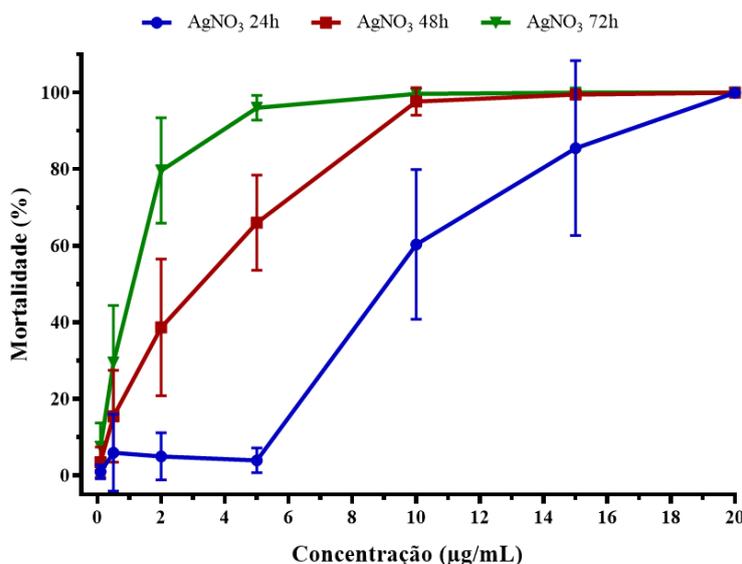


Figura III-13. Curva dose-resposta (mortalidade – %) das larvas de *Aedes aegypti* após exposição por 24, 48 e 72 horas à solução aquosa de nitrato de prata (AgNO₃).

O extrato de folhas de *Paullinia cupana* não apresentou eficácia ao ser utilizado como controle biológico para a mortalidade larval do mosquito *Aedes aegypti* mesmo em concentrações elevadas (200 a 2000 µg/mL) (dados não mostrados). Diferentemente do estudo de Govindarajan (2011) que testou o efeito do extrato metanólico das folhas de *Cardiospermum halicacabum* (balãozinho), planta da mesma família botânica do guaraná, contra o crescimento das larvas desse mosquito, apresentando CL₅₀ de 156,8 µg/mL e CL₉₀ de 300,44 µg/mL. Outros extratos de partes vegetais de plantas da família

Sapindaceae foram investigados quanto à ação inseticida, como por exemplo no estudo de Silva *et al.* (2004) onde os resultados revelaram a presença de taninos catéquicos e proantocianidinas em uma fração metanólica preparada a partir da casca do caule de *Magonia pubescens* (tingui do cerrado) que teve CL₅₀ de 3,1 µg/mL e CL₉₀ de 36,6 µg/mL quando expostas às larvas do terceiro instar. Famuyiwa, Famuyiwa e Aladesanmi (2018) relataram que os triterpenos friedelina e α -amirina, isolados de *Blighia sapida* (morentina), tiveram CL₅₀ entre 50 e 70 µg/mL e CL₉₀ entre 80 e 130 µg/mL após 24h de exposição às larvas do quarto instar.

Adicionalmente, são relatadas alterações estruturais e morfo-histológicas nas larvas de *Aedes aegypti* desencadeadas pela exposição a moléculas isoladas ou de extratos brutos de plantas da família Sapindaceae, mesma família botânica da *Paullinia cupana*. Entre elas, o uso de taninos catéquicos de *Magonia pubescens* (tingui do cerrado) e do extrato etanólico de *Sapindus saponaria* (ibaró) que resultaram em efeitos tóxicos, sob diferentes graus, principalmente a nível histológico em regiões distintas do mesêntero (órgão digestivo de insetos mastigadores responsável pela absorção de nutrientes) das larvas, como por exemplo a ocorrência de camadas epiteliais irregulares, desprendimento de células da membrana basal, desestruturação das microvilosidades e alta vacuolização do citoplasma que, em conjunto, podem levar a um processo avançado de lise celular. Além disso, alguns estudos relataram que as larvas apresentaram redução na mobilidade e estado letárgico de maneira dependente da dose dos extratos empregados (Barreto *et al.*, 2006; Valotto *et al.*, 2010).

Com relação aos possíveis mecanismos de ação das AgNPs, a atividade larvicida observada pode ser atribuída, inicialmente, à interação das nanoestruturas com a matriz lipoprotéica extracelular, causando o aumento da permeabilidade da membrana plasmática das células das larvas (Govindarajan *et al.*, 2016). Além disso, o ambiente ácido do intestino médio dos insetos, o potencial Zeta (geralmente negativo) e o pequeno diâmetro facilitam a internalização e mucoadesão das nanoestruturas, principalmente, por meio do exoesqueleto (Benelli, 2016; Jiang *et al.*, 2015). No espaço intracelular desses organismos, as AgNPs se ligam em proteínas que contêm enxofre ou a compostos contendo fósforo, como o DNA, levando à desnaturação de organelas e enzimas, além de reduzir a síntese de ATP e a troca iônica, o que resulta em perda de função e em morte celular (Azarudeen *et al.*, 2017a; Sap-Iam *et al.*, 2010; Sareen *et al.*, 2012).

2.5.4.2. Ensaio em pupas de *Aedes aegypti*

Os efeitos contra as pupas do mosquito *Aedes aegypti* após exposição de AgNPs e solução aquosa de AgNO₃ estão apresentados na Tabela III-6 e foram avaliados a partir da determinação da CL₅₀ e CL₉₀, bem como do intervalo de confiança para cada parâmetro, além dos valores de R² ajustados às curvas para cada tempo de exposição. Os ensaios pupicidas conduzidos neste estudo demonstram que a taxa de mortalidade ao final dos testes foi de 100% nas maiores concentrações empregadas e aumentou de forma dependente das doses para as duas amostras testadas (FIGURA III-14 e III-15).

De acordo com Oliveira *et al.* (2022), devido ao curto período nesse estágio de desenvolvimento, as pupas não se alimentam e por isso tendem a ser menos susceptíveis à biodisponibilidade dos agentes nocivos. No entanto, a partir dos resultados obtidos, é possível observar que as AgNPs foram mais ativas do que a solução aquosa do AgNO₃ tendo em vista que os valores de CL₅₀ das nanoestruturas foram 6,885 µg/mL após 24h e 2,84 µg/mL decorridos 48h do ensaio, enquanto tais valores foram quase 1,5 vezes superiores após a exposição dos organismos ao AgNO₃ (9,959 µg/mL em 24h; 4,194 µg/mL em 48h) (TABELA III-6). Os valores de CL₉₀ para as pupas foram também calculados com base nas taxas de mortalidade obtidas após 24h e 48h e alcançaram, respectivamente, concentrações de 11,98 µg/mL e 6,79 µg/mL para as AgNPs e 14,82 µg/mL e 11,08 µg/mL para o sal metálico (TABELA III-6).

Tabela III-6. Atividade inseticida das nanopartículas de prata sintetizadas a partir do extrato aquoso de folhas de *Paullinia cupana* coletadas no período seco (AgNPs-PS) e da solução aquosa de nitrato de prata (AgNO₃) após 24 e 48 horas de exposição em pupas de *Aedes aegypti*.

Amostra	Tempo (h)	CL ₅₀ (µg/mL) (IC 95%)	CL ₉₀ (µg/mL) (IC 95%)	R ²
AgNPs-PS	24	6,885 (6,172 – 7,684)	11,98 (10,42 – 13,38)	0,7822 (CL ₅₀) 0,7854 (CL ₉₀)
	48	2,840 (2,139 – 3,563)	6,790 (5,279 – 8,275)	0,6393 (CL ₅₀) 0,6391 (CL ₉₀)
AgNO ₃	24	9,959 (9,164 – 10,70)	14,82 (13,42 – 16,01)	0,9134 (CL ₅₀) 0,9194 (CL ₉₀)
	48	4,194 (3,305 – 5,187)	11,08 (8,614 – 13,50)	0,6240 (CL ₅₀) 0,6344 (CL ₉₀)

CL₅₀: concentração letal para 50% das pupas; CL₉₀: concentração letal para 90% das pupas; IC: intervalo de confiança (inferior - superior); R²: coeficiente de correlação.

Portanto, tais resultados apoiam informações relevantes sobre a capacidade das AgNPs sintetizadas a partir do extrato de folhas de *Paullinia cupana* em interferir em mais uma fase do ciclo de vida do mosquito *Aedes aegypti* e estão de acordo com pesquisas anteriores nas quais AgNPs biogênicas foram testadas contra pupas desse mosquito. Murugan *et al.* (2015) sintetizaram nanoestruturas utilizando extratos aquosos foliares de artemísia (*Artemisia vulgaris*) e, após 24h de exposição, foi observada CL₅₀ de 13,089 µg/mL, enquanto Suresh *et al.* (2015) sintetizaram AgNPs mediadas pelo extrato das folhas de quebra-pedra (*Phyllanthus niruri*) com CL₅₀ de 13,043 µg/mL, após o mesmo período de exposição. Nalini *et al.* (2017) observaram atraso na pupação e o desenvolvimento anormal das asas dos mosquitos *Aedes aegypti* adultos após o tratamento por 24h com AgNPs sintetizadas a partir do extrato de *Artemisia nilagirica*.

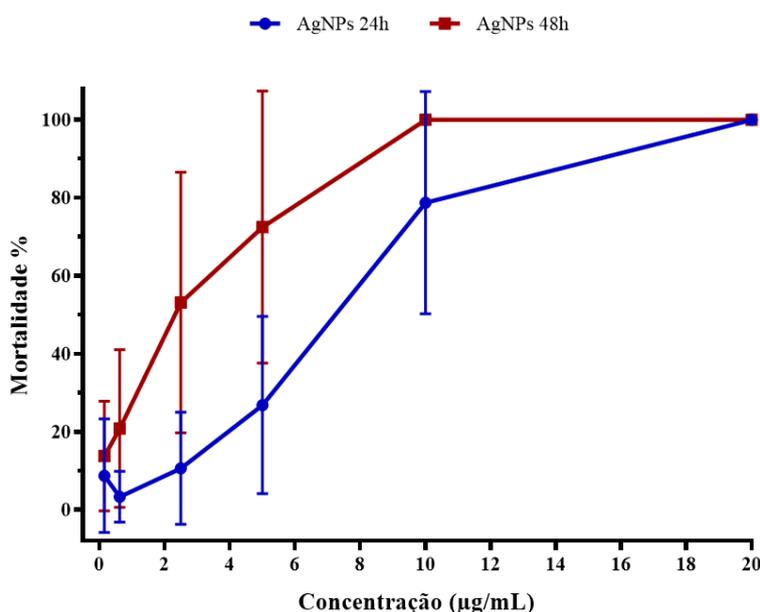


Figura III-14. Curva dose-resposta (mortalidade – %) das pupas de *Aedes aegypti* após exposição por 24 e 48 horas a diferentes concentrações de nanopartículas de prata sintetizadas a partir do extrato aquoso de folhas de *Paullinia cupana* coletadas no período seco (AgNPs-PS).

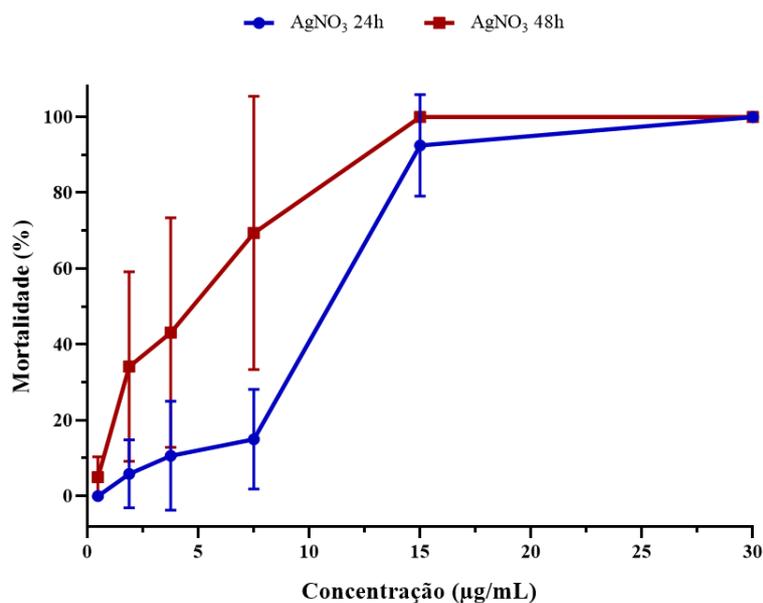


Figura III-15. Curva dose-resposta (mortalidade – %) das pupas de *Aedes aegypti* após exposição por 24 e 48 horas à solução aquosa de nitrato de prata (AgNO_3).

2.5.5. Atividade catalítica

A remoção catalítica de compostos tóxicos, incluindo os corantes orgânicos sintéticos, tem recebido considerável atenção dado o impacto que tais moléculas podem causar ao meio ambiente. Já foi relatado que a produção de corantes em todo o mundo gira em torno de 7×10^5 toneladas ao ano e que cerca de 10% desse volume é descartado no ambiente como efluente de águas residuais (Benkhaya; M'rabet; El Harfi, 2020; Chandanshive *et al.*, 2018). Devido sua alta estabilidade em condições normais, além de alta solubilidade em meios aquosos, dificultando sua eliminação por métodos comuns, esses compostos representam uma séria ameaça à vida humana e animal (Ismail *et al.*, 2019; Lellis *et al.*, 2019).

Nesse estudo, foram utilizados o corante catiônico de tiazina azul de metileno (AM) e o corante azo aniônico laranja de metila (LM) que devido às suas estruturas químicas complexas oferecem dificuldade em suas decomposições. Tais corantes são utilizados por diversos setores, incluindo o têxtil e, ao serem liberados, podem causar comprometimentos a nível biológico, como por exemplo, o esgotamento do oxigênio da superfície da água, inibição do crescimento de plantas, bioacumulação nos solos, além de entrada na cadeia alimentar e potencial toxicidade e carcinogenicidade (Srećković *et al.*, 2023).

Adane, Adugna e Alemayehu (2021) abordaram que várias técnicas baseadas em métodos físico-químicos têm sido utilizadas para o tratamento de efluentes, porém o

alto custo, o tempo de reação, a geração de subprodutos e a baixa eficiência de remoção podem torná-las limitadas. Dessa forma, a busca por catalisadores que superem tais desafios têm sido realizada e as partículas metálicas se destacam devido suas propriedades intrínsecas em nanoescala. Nesta pesquisa, as AgNPs sintetizadas por rota biogênica a partir dos extratos aquosos de folhas de *Paullinia cupana* coletadas em diferentes períodos sazonais foram empregadas como alternativa para a degradação do AM e LM na presença do substrato borohidreto de sódio (NaBH₄).

2.5.5.1. Azul de metileno (AM)

A eficiência de degradação catalítica causada pelas AgNPs foi investigada para a redução do poluente AM em meio aquoso sob temperatura ambiente na presença de NaBH₄. Como é mostrado na Figura III-16A, o corante apresenta duas bandas de absorção no espectro de UV/Vis, uma em torno de 290 nm e a outra em 664 nm, com um ombro pronunciado em torno de 614 nm (linha preta) e essas bandas correspondem à transição $\pi \rightarrow \pi^*$ e $n \rightarrow \pi^*$, respectivamente (Joseph; Mathew, 2015; Hamedi; Shojaosadati, 2019).

A Figura III-16A apresenta também o espectro de UV/Vis da reação do corante com o substrato (NaBH₄) por um período de 90 minutos e como é possível perceber não há qualquer decréscimo significativo na intensidade de absorção com o passar do tempo, evidenciando que a degradação é nula. No entanto, o processo é acelerado após a adição das AgNPs com o monitoramento por UV/Vis mostrando que a conclusão da reação foi confirmada por meio da diminuição gradual da intensidade de absorbância em torno de 664 nm (FIGURA III-16B e III-16C) e do desaparecimento da coloração azul na solução aquosa, após 40 minutos, independentemente do tipo de nanocatalisador utilizado (FIGURA III-16D). Outro fator de destaque é que à medida em que a banda intensa em torno de 664 nm diminui, surge uma nova banda próxima de 256 nm que pode ser atribuído à formação do azul de leucometileno (Raj *et al.*, 2020; Vijayan; Joseph; Mathew, 2019).

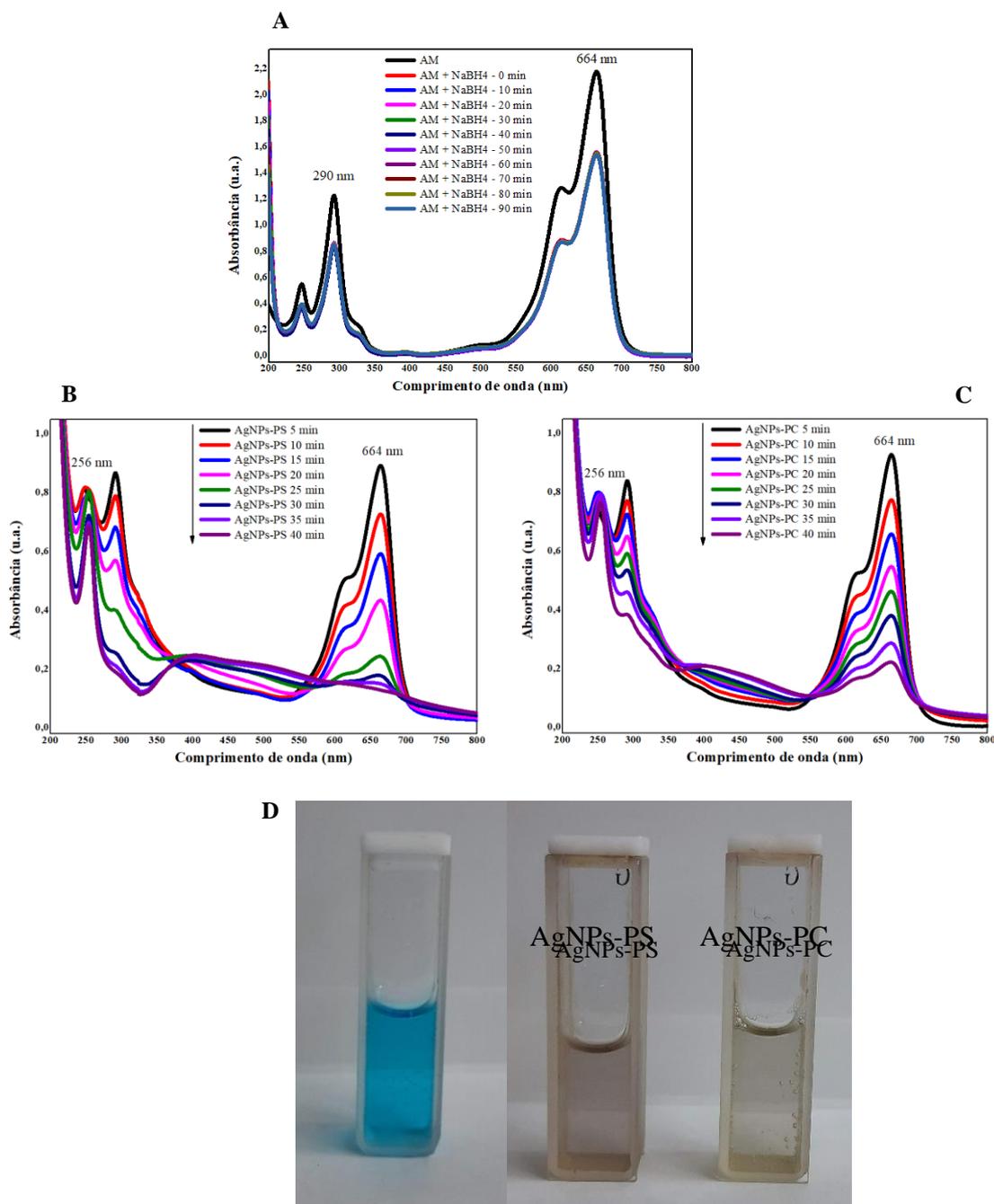


Figura III-16. (A) Espectros de UV/Vis do corante azul de metileno (AM) (linha preta) e sua degradação na ausência dos nanocatalisadores. (B) Degradação do corante na presença das nanopartículas de prata sintetizadas a partir do extrato aquoso de folhas de *Paullinia cupana* coletadas no período seco (AgNPs-PS) e (C) período chuvoso (AgNPs-PC). (D) Imagens das soluções aquosas do AM com o substrato (à esquerda) e das soluções após as reações com os nanocatalisadores (ao centro e à direita).

A porcentagem de eliminação do AM está demonstrada na Figura III-17A e evidencia o sucesso do emprego dos nanocatalisadores metálicos já que as AgNPs-PS removeram 91,12% do corante e as AgNPs-PC removeram 93,52%, após 40 minutos. Além disso, a cinética química da redução do AM na presença das AgNPs e do NaBH₄

foi estudada utilizando os dados experimentais e aplicando os diferentes modelos baseados nas equações 5, 6 e 7. A partir dos resultados obtidos, os valores do coeficiente de regressão linear (R^2) foram aplicados para determinar o modelo cinético mais adequado à degradação do poluente com a utilização dos diferentes nanocatalisadores. De acordo com o descrito no Apêndice 13A e nas Figuras III-17B e III-17C, a cinética de segunda ordem foi a que melhor se ajustou à reação contendo as AgNPs-PS com R^2 de 0,9762, enquanto a cinética de primeira ordem, com valor de R^2 de 0,945, foi a indicada após a utilização das AgNPs-PC. A constante de velocidade de reação (k), determinada pelos dois modelos escolhidos, apresentou taxa de $0,1218 \text{ min}^{-1}$ na reação com as AgNPs-PS e $0,0579 \text{ min}^{-1}$ para a reação conduzida com as AgNPs-PC, sendo que quanto maiores esses valores, mais rápida é a degradação catalítica.

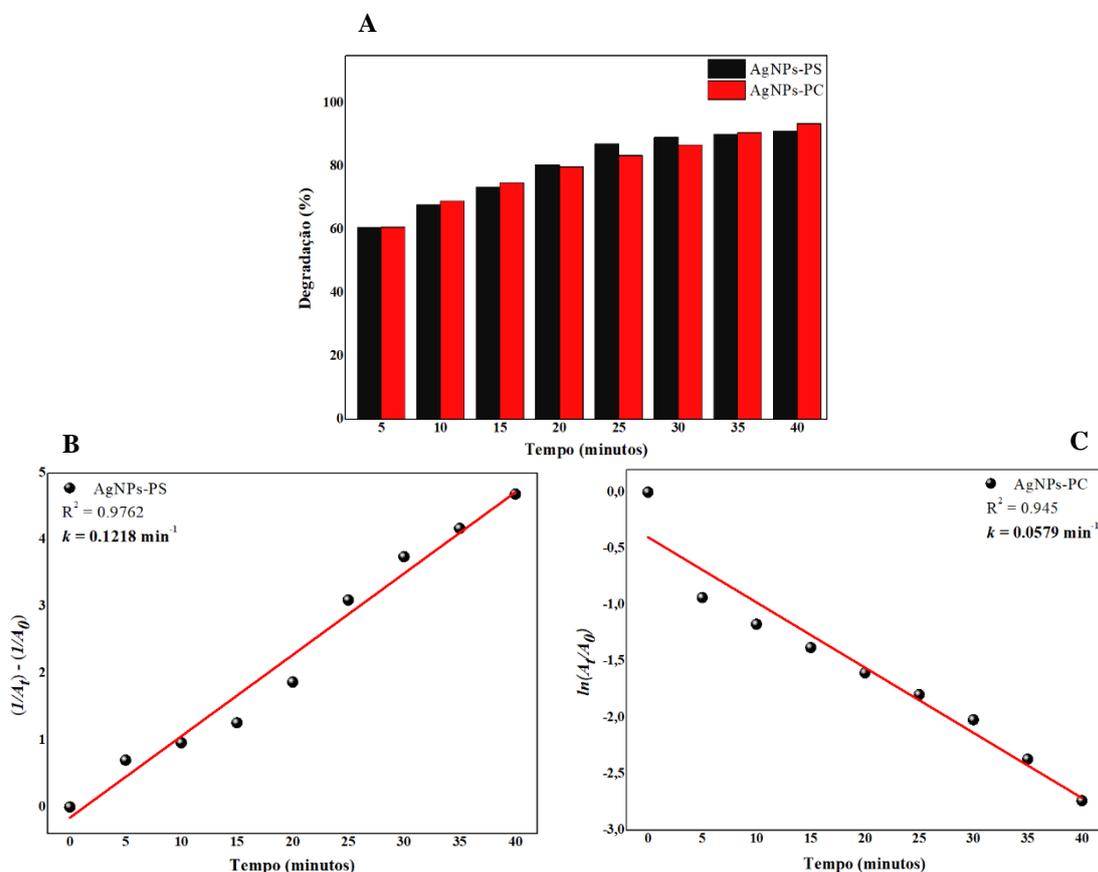


Figura III-17. (A) Degradação catalítica (%) do corante azul de metileno (AM) nos diferentes tempos de exposição aos nanocatalisadores. (B) Gráfico cinético de segunda ordem da regressão linear do logaritmo de absorbância *versus* tempo (minutos) da degradação do AM na presença das nanopartículas de prata sintetizadas a partir do extrato aquoso de folhas de *Paullinia cupana* coletadas no período seco (AgNPs-PS). (C) Gráfico cinético de primeira ordem da regressão linear do logaritmo de absorbância *versus* tempo (minutos) da degradação do AM na presença das nanopartículas de prata sintetizadas a partir do extrato aquoso de folhas de *Paullinia cupana* coletadas no período chuvoso (AgNPs-PC).

Para efeitos comparativos, algumas pesquisas que abordaram a síntese de AgNPs utilizando outros extratos vegetais foram compiladas e os seus resultados quanto à eficácia catalítica na degradação do corante AM estão descritos na Tabela III-7.

Tabela III-7. Comparação dos resultados deste estudo com a eficiência catalítica de nanopartículas de prata (AgNPs) biogênicas em relação à degradação do corante orgânico azul de metileno (AM).

Planta	Tempo de reação	Constante de velocidade (<i>k</i>)	Referência
<i>Ficus sycomorus</i> (sicômoro)	12 minutos	0,156 min ⁻¹	Zayed <i>et al.</i> (2022)
<i>Jatropha curcas</i> (pinhão-mansão)	12 minutos	0,1145 min ⁻¹	Francis, Koshy e Mathew (2018)
<i>Antidesma acidum</i>	18 minutos	0,0908 min ⁻¹	Basumatary <i>et al.</i> (2023)
<i>Crinum asiaticum</i> (crino branco)	20 minutos	0,097 min ⁻¹	Shukla <i>et al.</i> (2022)
<i>Carissa opaca</i>	50 minutos	0,031 min ⁻¹	Ullah <i>et al.</i> (2022)
<i>Parkia speciosa</i> (petai)	180 minutos	0,0098 min ⁻¹	Ravichandran <i>et al.</i> (2019)
<i>Paullinia cupana</i>	40 minutos	0,1218 min ⁻¹	Lima (2024)*
<i>Paullinia cupana</i>	40 minutos	0,0579 min ⁻¹	Lima (2024)**

*Resultado advindo da utilização de AgNPs sintetizadas a partir do extrato aquoso de folhas de *Paullinia cupana* coletadas no período seco (AgNPs-PS). **Resultado advindo da utilização de AgNPs sintetizadas a partir do extrato aquoso de folhas de *Paullinia cupana* coletadas no período chuvoso (AgNPs-PC).

2.5.5.2. Laranja de metila (LM)

A atividade catalítica das AgNPs foi testada na presença de NaBH_4 frente à redução do corante orgânico LM em meio aquoso sob temperatura ambiente. Conforme visualizado na Figura III-18A, o espectro de UV/Vis do corante apresenta duas bandas características em torno dos comprimentos de onda de 270 e 464 nm (linha preta) que são atribuídos ao grupo azo ($\text{N}=\text{N}$) acoplado por um anel duplo de benzeno na molécula do corante (Akilandaeswari *et al.*, 2021; Francis *et al.*, 2017).

Ao analisar as curvas de absorção na ausência das nanoestruturas é possível notar que não há qualquer diminuição da intensidade de absorbância após 60 minutos de reação (FIGURA III-18A). Por outro lado, como pode ser visto nas Figuras III-18B e III-18C, ao incorporar os nanocatalisadores metálicos à mistura de reação é possível perceber um rápido decaimento da banda em 464 nm ao longo do tempo atingindo quase a linha de base e a total degradação é finalizada aos 14 minutos, o que pode ser confirmado também pelo desaparecimento da cor das soluções (FIGURA III-18D). Vale ressaltar que uma nova banda em 247 nm surge nos espectros contendo os nanocatalisadores e isso acontece devido às absorções do grupo $-\text{NH}_2$ provenientes das moléculas incolores de hidrazina, do ácido sulfanílico e de aminas aromáticas que são produtos da degradação catalítica do LM, indicando a remoção do corante da solução aquosa (Maruthai; Muthukumarasamy; Baskaran, 2019; Vidhu; Philip, 2014).

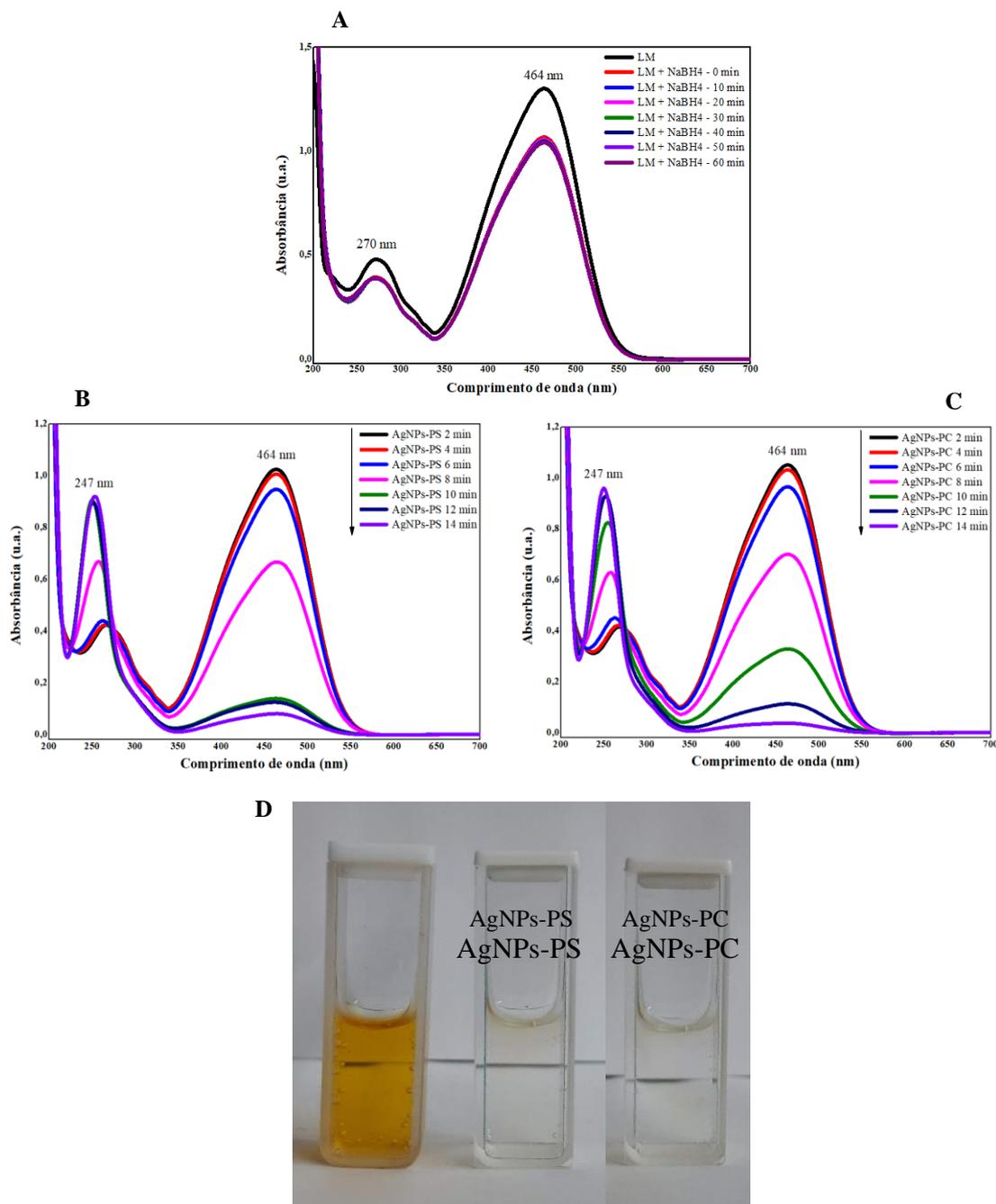


Figura III-18. (A) Espectros de UV/Vis do corante laranja de metila (LM) (linha preta) e sua degradação na ausência dos nanocatalisadores. (B) Degradação do corante na presença das nanopartículas de prata sintetizadas a partir do extrato aquoso de folhas de *Paullinia cupana* coletadas no período seco (AgNPs-PS) e (C) período chuvoso (AgNPs-PC). (D) Imagens das soluções aquosas do LM com o substrato (à esquerda) e das soluções após as reações com os nanocatalisadores (ao centro e à direita).

A porcentagem de degradação do corante de maneira dependente do tempo é mostrada na Figura III-19A e foi de 92,89% ao utilizar as AgNPs-PS e de 96,42% empregando as AgNPs-PC ao final de 14 minutos. No que diz respeito à cinética química envolvida na redução do LM, também foram aplicados os três modelos de

equações lineares (equações 5, 6 e 7) para avaliar os dados de coeficiente de regressão linear (R^2) e constante de velocidade de reação (k). Com isso, conforme apresentado no Apêndice 13B e nas Figuras III-19B e III-19C, foi definido que o modelo cinético que melhor se aplica às reações de degradação do poluente LM foi o de ordem zero independentemente do tipo de nanocatalisador empregado já que o R^2 foi de 0,9176 e 0,9498 para as AgNPs-PS e AgNPs-PC, respectivamente, o que indica uma boa correlação entre as curvas lineares ajustadas e os dados experimentais. Curiosamente, os valores de k foram quase idênticos, apresentando taxa de $0,0945 \text{ min}^{-1}$ e $0,0946 \text{ min}^{-1}$, confirmando a atuação eficiente de ambas as amostras na degradação catalítica.

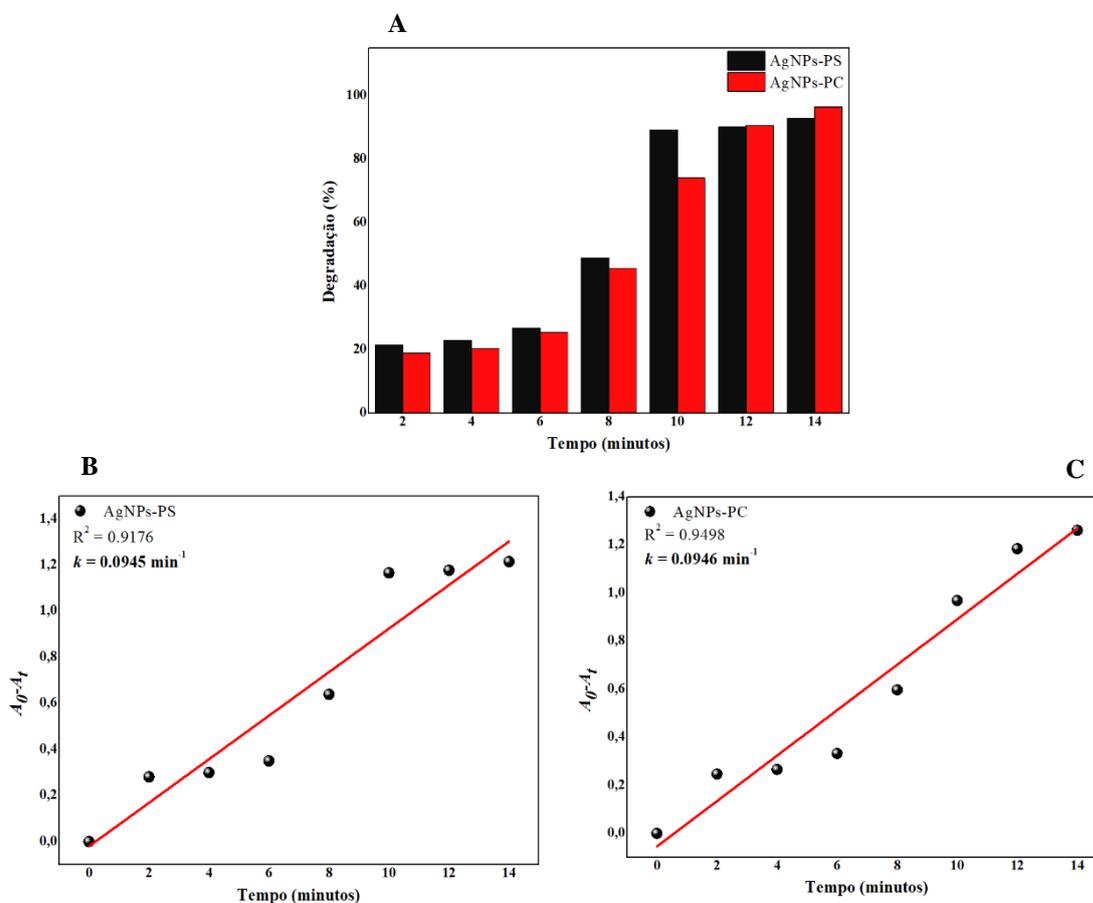


Figura III-19. (A) Degradação catalítica (%) do corante laranja de metila (LM) nos diferentes tempos de exposição aos nanocatalisadores. (B) Gráfico cinético de segunda ordem da regressão linear do logaritmo de absorbância *versus* tempo (minutos) da degradação do LM na presença das nanopartículas de prata sintetizadas a partir do extrato aquoso de folhas de *Paullinia cupana* coletadas no período seco (AgNPs-PS). (C) Gráfico cinético de primeira ordem da regressão linear do logaritmo de absorbância *versus* tempo (minutos) da degradação do LM na presença das nanopartículas de prata sintetizadas a partir do extrato aquoso de folhas de *Paullinia cupana* coletadas no período chuvoso (AgNPs-PC).

Na Tabela III-8 estão resumidos alguns parâmetros de estudos que comprovam o desempenho catalítico de diferentes AgNPs biogênicas para degradar o LM.

Tabela III-8. Comparação dos resultados deste estudo com a eficiência catalítica de nanopartículas de prata (AgNPs) biogênicas em relação à degradação do corante orgânico laranja de metila (LM).

Planta	Tempo de reação	Constante de velocidade (k)	Referência
<i>Berberis vulgaris</i> (uva-espim)	9 minutos	0,4109 min ⁻¹	Hashemi <i>et al.</i> (2022a)
<i>Heterotheca subaxillaris</i>	11 minutos	0,120 min ⁻¹	Rajasekar <i>et al.</i> (2022)
<i>Anacardium occidentale</i> (caju)	20 minutos	0,1178 min ⁻¹	Edison <i>et al.</i> (2016)
<i>Simarouba glauca</i>	40 minutos	0,055 min ⁻¹	Paramesh <i>et al.</i> (2021)
<i>Alpinia nigra</i>	90 minutos	0,01607 min ⁻¹	Baruah <i>et al.</i> (2019)
<i>Acacia catechu</i>	30 minutos	0,01911 min ⁻¹	Chand <i>et al.</i> (2020)
<i>Paullinia cupana</i>	14 minutos	0,0945 min ⁻¹	Lima (2024)*
<i>Paullinia cupana</i>	14 minutos	0,0946 min ⁻¹	Lima (2024)**

*Resultado advindo da utilização de AgNPs sintetizadas a partir do extrato aquoso de folhas de *Paullinia cupana* coletadas no período seco (AgNPs-PS). **Resultado advindo da utilização de AgNPs sintetizadas a partir do extrato aquoso de folhas de *Paullinia cupana* coletadas no período chuvoso (AgNPs-PC).

A propriedade catalítica das nanopartículas metálicas depende do seu potencial redox que deve estar entre o potencial redutor do NaBH₄ e dos corantes, ou seja, ele deve ser maior que o potencial redutor dos substratos e menor em relação ao potencial dos poluentes, sendo que quanto maior o poder redutor dos nanocatalisadores mais rapidamente ocorrerá a reação (Mallick; Witcomb; Scurrall, 2006). Conforme demonstrado nos resultados previamente descritos, mesmo sendo um forte agente redutor, o NaBH₄ sozinho não é capaz de reduzir o AM e o LM e isso ocorre devido à diferença considerável de potencial redox entre eles, o que torna as reações termodinamicamente permitidas, mas cineticamente não vantajosas (Gupta; Singh; Sharma, 2011).

A redução catalítica promovida pela ação das AgNPs sintetizadas utilizando extratos aquosos das folhas de *Paullinia cupana* pode ser estudada com base no modelo Langmuir-Hinshelwood (L-H) no qual os nanocatalisadores atuam por meio do efeito de

“retransmissão de elétrons” (Ahmad *et al.*, 2015; Naseem *et al.*, 2020; Wunder *et al.*, 2010). Dessa forma, a degradação dos poluentes orgânicos observada no presente estudo é baseada em um processo de transferência de elétrons que ocorre após a adição dos nanocatalisadores de prata à mistura reacional, com posterior adsorção das moléculas de NaBH₄ e do corante em sua superfície por meio de atração eletrostática que também pode ser facilitada pela presença de alguns compostos fitoquímicos melhorando a ligação entre os doadores e receptores de elétrons (Charti *et al.*, 2021; Jain; Bhargava; Panwar, 2014; Jiang; Liu; Sun, 2005; Ghosh *et al.*, 2002).

A Figura III-20 ilustra o mecanismo proposto para a reação química de redução dos poluentes pelas AgNPs. Em uma primeira etapa do processo, o substrato é dissociado e o BH₄⁻ produzido age como doador de elétrons (nucleófilo) formando uma camada de elétrons com cargas negativas ao redor das AgNPs (I). Na segunda etapa, as AgNPs agem como mediadoras no compartilhamento de elétrons que são transferidos para as moléculas do corante que atuam como receptores de elétrons (eletrófilo) e então ocorrem modificações nas estruturas químicas dos poluentes, como a quebra das ligações azo ou alterações nas aminas (II) (Bastús *et al.*, 2014; Fairuzi *et al.*, 2018; Vandarkuzhali *et al.*, 2018). Por fim, os produtos de redução formados são estáveis, não tóxicos e ao serem desorvidos da superfície das AgNPs difundem para a solução que adquire coloração incolor (III) (Kumar *et al.*, 2022; Seku *et al.*, 2022).

Outro fator de destaque a ser analisado é que em reações onde a concentração do NaBH₄ é utilizada em excesso em relação à concentração dos corantes pode-se presumir que as taxas referentes à velocidade de degradação catalítica são independentes da concentração do substrato, mas dependentes da concentração dos poluentes (Yuan *et al.*, 2017). A taxa acelerada de redução do AM e do LM na presença das AgNPs pode ainda ser atribuída ao pequeno diâmetro dessas nanoestruturas e conseqüentemente à sua grande área de superfície que oferece mais sítios ativos para que as reações de degradação catalítica ocorram, além da diminuição da energia de ativação necessária para desencadear os mecanismos de transferência de elétrons (Bindhu; Umadevi, 2015; Junejo; Safdar, 2019; Zhang; Li; Chen, 2009).

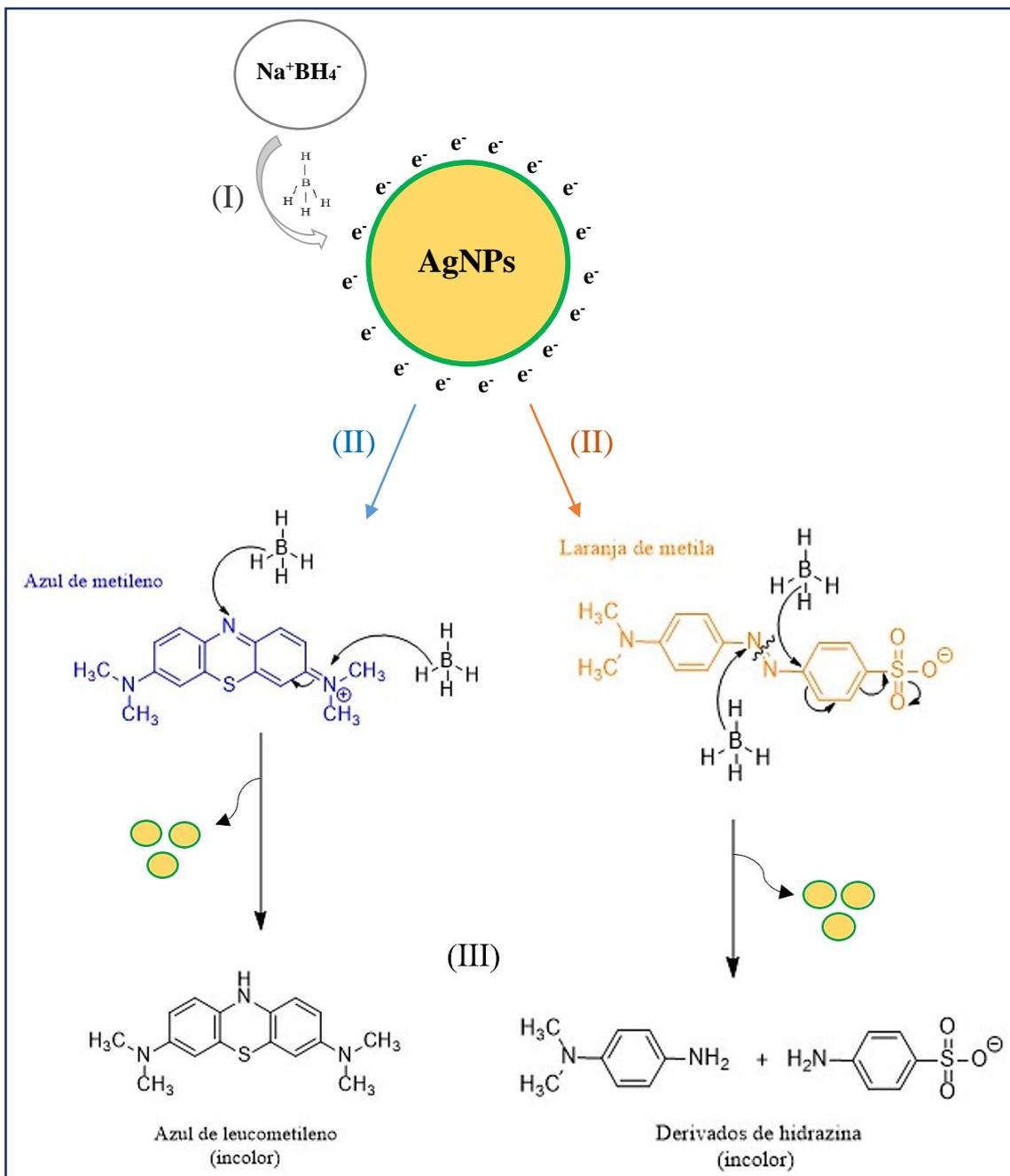


Figura III-20. Mecanismo proposto para a degradação catalítica de diferentes corantes na presença do substrato borohidreto de sódio (NaBH₄) e das nanopartículas de prata (AgNPs) sintetizadas a partir do extrato aquoso de folhas de *Paullinia cupana* coletadas no período seco e chuvoso. (I) Etapa de doação de elétrons (e⁻) do BH₄⁻ para a superfície das AgNPs. (II) Transferência de elétrons para os corantes, causando modificações na estrutura química dos poluentes. (III) Formação dos produtos de degradação com coloração incolor.

3. CONCLUSÃO

Diante das condições otimizadas, foram sintetizadas AgNPs a partir da utilização do extrato foliar de *Paullinia cupana* independente da época de coleta do material vegetal, sendo observado um maior potencial redutor do extrato das folhas do período chuvoso. A síntese das AgNPs em diferentes lotes ocasionou variação nas bandas de máxima absorção, assim como em suas intensidades relativas, indicando propriedades dimensionais, morfológicas e físico-químicas diferentes. Por sua vez, a avaliação da estabilidade coloidal após 365 dias sob armazenamento em condições distintas demonstrou que, exceto nos dados referentes ao DH, houveram diferenças estatisticamente significativas no PdI e, principalmente, nos valores de PtZ.

Em relação às bioatividades, as AgNPs mostraram efeito tóxico similar às bactérias Gram-negativas e Gram-positivas em concentrações variando de 10,60 µg/mL a 42,50 µg/mL enquanto os extratos aquosos não apresentaram qualquer efeito. Da mesma forma, as AgNPs demonstraram elevada atividade antioxidante, destacando-se as AgNPs-PC com IC₅₀ de 36,93 µg/mL frente ao radical livre DPPH e AgNPs-PS com IC₅₀ de 54,20 µg/mL diante do radical livre ABTS. Nesse ensaio, o EPC apresentou IC₅₀ de 229,7 µg/mL quando testado contra o DPPH e ambos os extratos promoveram eliminação similar do radical ABTS dentro da faixa de concentrações-teste.

No geral, os efeitos citotóxicos das AgNPs não variaram quando comparadas as épocas de coleta das folhas de *Paullinia cupana*. Tais efeitos foram mais expressivos contra as linhagens não cancerosas HaCaT (IC₅₀ em torno de 3,9 µg/mL) e HNTMC (IC₅₀ entre 4 e 4,231 µg/mL), em relação às células cancerosas A431 e A549 onde os valores de IC₅₀ ficaram entre 5,436 e 5,851 µg/mL. Por sua vez, o EPS e o EPC exerceram efeito de maneira não dependente da sazonalidade ou do tipo celular já que, em alguns casos, inibiram a viabilidade quando utilizados nas concentrações testadas, enquanto em outros casos promoveram a proliferação celular, o que pode estar relacionado às biomoléculas vegetais que compõem os extratos e que servem de fonte de energia para as células sob condições *in vitro*.

A atividade inseticida das AgNPs, contra larvas e pupas de *Aedes aegypti*, revelou taxas de mortalidade superiores àquelas observadas pela solução de AgNO₃, enquanto nenhuma ação tóxica foi observada após exposição dos organismos ao extrato aquoso foliar de *Paullinia cupana*. No teste larval, os valores de CL₅₀ e CL₉₀ das AgNPs foram de 0,6097 µg/mL e 1,065 µg/mL após 72h de exposição e no ensaio

pupicida, após 48h, a CL_{50} foi de 2,840 $\mu\text{g/mL}$ e a CL_{90} foi de 6,790 $\mu\text{g/mL}$.

Os estudos catalíticos realizados mostraram que as nanoestruturas sintetizadas foram responsivas à redução dos corantes orgânicos, promovendo a alteração de cor das misturas reacionais e causando mais de 90% de degradação catalítica após os tempos de exposição. A utilização das AgNPs como nanocatalisadores foi confirmada pelas constantes de taxa de reação e pelos valores de coeficiente de correlação advindos das equações aplicadas para cada modelo cinético proposto, evidenciando a possibilidade de incremento nas suas aplicações biomédicas e ambientais.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A partir dos resultados apresentados nessa tese fica demonstrado que *Paullinia cupana*, uma planta nativa da biodiversidade brasileira e reconhecida por suas diversas propriedades terapêuticas, além da importância econômica e social, tem potencial de utilização em nanotecnologia verde para a síntese de AgNPs.

A prospecção dos extratos aquosos de folíolos e flores de guaraná mostrou-se eficiente na biorredução dos íons metálicos e posterior síntese das AgNPs, independentemente do método de preparação dos extratos e do período sazonal de coleta do material botânico vegetal. A investigação do perfil fitoquímico dos extratos aquosos demonstrou que o emprego de temperatura durante a extração das biomoléculas favoreceu a elucidação dos compostos biológicos, contribuindo também para o aumento da capacidade antioxidante. Adicionalmente, foram observadas diferenças no rendimento da síntese das AgNPs evidenciando que utilizar o método de decocção resulta em nanoestruturas com características espectrais, físico-químicas, morfológicas, estruturais e antibacterianas promissoras.

A otimização dos parâmetros envolvidos na síntese verde das AgNPs utilizando extratos de folhas de guaraná mostrou que apenas pela variação das condições reacionais é possível alterar a coloração das suspensões coloidais e modular os diâmetros hidrodinâmicos e índices de polidispersividade ao modificar a concentração do sal metálico e o equipamento/fonte de energia utilizados no momento da síntese. A triagem inicial nas condições propostas nesse estudo indicou a ausência de modulação nas características de potencial Zeta das nanoestruturas, independente do parâmetro avaliado, mas foi considerada satisfatória devido sintetizar AgNPs com elevados valores de cargas de superfície, em módulo, sugerindo estabilidade e potenciais bioatividades.

Os resultados revelaram ainda que as AgNPs sintetizadas sob condições otimizadas utilizando o extrato aquoso de folhas de guaraná coletadas no período seco e chuvoso apresentaram estabilidade prolongada em diferentes condições de armazenamento, além de morfologias variadas. As AgNPs mostraram atividades, no mínimo, bacteriostáticas contra as diversas cepas avaliadas, diferentemente dos seus respectivos extratos aquosos. As AgNPs e os extratos aquosos promoveram efeitos antioxidantes expressivos na eliminação dos radicais livres DPPH e ABTS. A atividade citotóxica das AgNPs exibiu eficácia dose-dependente e não específica, principalmente contra linhagens não cancerosas (HaCaT e HNTMC), enquanto os extratos aquosos

demonstraram maior ação citotóxica às células cancerosas (A431 e A549). Foi evidenciado acentuado potencial inseticida, a partir da determinação dos valores de CL₅₀ e CL₉₀, causado pelas AgNPs após exposição às larvas e às pupas de *Aedes aegypti*. Além disso, nos ensaios catalíticos, as AgNPs mostraram excelente atividade na redução dos corantes orgânicos azul de metileno e laranja de metila, com curtos tempos para a completa degradação dos poluentes à temperatura ambiente.

Por fim, considera-se que esse trabalho ampliou o conhecimento quanto à síntese verde de AgNPs biogênicas, permitindo suportar ideias para a continuação de pesquisas relacionadas aos diversos temas propostos. Como um dos principais motivos que nortearam toda essa pesquisa, destaca-se o pensamento crítico sobre a importância do uso sustentável dos recursos da biodiversidade a fim de garantir a sua manutenção e preservação para a atual e para as futuras gerações.

PRODUÇÃO CIENTÍFICA

LIMA, A. K. O.; VASCONCELOS, A. A.; KOBAYASHI, R. K. T.; NAKAZATO, G.; BRAGA, H. C.; TAUBE, P. S. Green synthesis: characterization and biological activity of silver nanoparticles using aqueous extracts of plants from the Arecaceae family. **Acta Scientiarum Technology**, v. 43, p. e52011-e52011, 2020.

GALÚCIO, J. M. P.; SOUZA, S. G. B.; VASCONCELOS, A. A.; **LIMA, A. K. O.**; DA COSTA, K. S.; BRAGA, H. C.; TAUBE, P. S. Synthesis, Characterization, Applications, and Toxicity of Green Synthesized Nanoparticles. **Current Pharmaceutical Biotechnology**, v. 23, n. 3, p. 420-443, 2022.

SOUZA, S. G. B.; SILVA, K. J. S.; AZEVEDO, M. M. R.; **LIMA, A. K. O.**; BRAGA, H. C.; TADA, D. B.; GUL, K.; MALIK, S.; NAKAZATO, G.; TAUBE, P. S. Green synthesis and characterization of honey-mediated silver nanoparticles. **Applied Nanoscience**, v. 14, p. 191-201, 2023.

VIEIRA, I. R. S.; TESSARO, L.; **LIMA, A. K. O.**; VELLOSO, I. P. S.; CONTE-JUNIOR, C. A. Recent Progress in Nanotechnology Improving the Therapeutic Potential of Polyphenols for Cancer. **Nutrients**, v. 15, n. 14, p. 3136, 2023.

ARAÚJO, J. L.; VIEIRA, J. A.; SILVA, M. S.; **LIMA, A. K. O.**; LUZ, G. V. S.; CARNEIRO, M. L. B.; AZEVEDO, R. B. Benefits of using polymeric nanoparticles in breast cancer treatment: a systematic review. **3 Biotech**, v. 13, n. 11, p. 357, 2023.

VIEIRA, I. R. S.; DA SILVA, A. A.; DA SILVA, B. D.; NETO, L. T.; TESSARO, L.; **LIMA, A. K. O.**; GARCIA, M. P.; RIBEIRO, J. A. A.; RODRIGUES, C. M.; DE SOUSA, A. M. F.; CARVALHO, N. M. F.; RAJKOVIC, A.; CONTE-JUNIOR, C. A. Antioxidant, Antimicrobial, and Anticancer Potential of Green Synthesized ZnO Nanoparticles from Açai (*Euterpe oleracea* Mart.) Berry Seed Residue Extract. **Waste and Biomass Valorization**, v. 15, n. 3, p. 1-18, 2024.

LIMA, A. K. O.; SILVEIRA, A. P.; SILVA, R. C.; MACHADO, Y. A. A.; ARAÚJO, A. R.; ARAÚJO, S. S. M.; VIEIRA, I. R. S.; ARAÚJO, J. L.; SANTOS, L. C.; RODRIGUES, K. A. F.; SILVA, S. W.; RIBEIRO, J. A. A.; RODRIGUES, C. M.; GARCIA, M. P. Phytosynthesis of silver nanoparticles using guarana (*Paullinia cupana* Kunth) leaf extract employing different routes: characterization and investigation of *in vitro* bioactivities. **Biomass Conversion and Biorefinery**, v. 14, p. 1-17, 2024.

REREFÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AADIL, Keshaw Ram et al. Hydrogen peroxide sensing and cytotoxicity activity of *Acacia* lignin stabilized silver nanoparticles. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 82, p. 39-47, 2016.

ABBASZADEGAN, Abbas et al. The effect of charge at the surface of silver nanoparticles on antimicrobial activity against gram-positive and gram-negative bacteria: a preliminary study. **Journal of Nanomaterials**, v. 16, n. 1, p. 53-53, 2015.

ABDELGHANY, T. M. et al. Recent advances in green synthesis of silver nanoparticles and their applications: about future directions. A review. **BioNanoScience**, v. 8, n. 1, p. 5-16, 2018.

ABDULLAH, Hannan Safiyyah Tan Sian Hui et al. Green synthesis, characterization and applications of silver nanoparticle mediated by the aqueous extract of red onion peel. **Environmental Pollution**, v. 271, p. 116295, 2021.

ABOYEWA, Jumoke A. et al. Green synthesis of metallic nanoparticles using some selected medicinal plants from southern africa and their biological applications. **Plants**, v. 10, n. 9, p. 1929, 2021.

ACEVEDO-RODRÍGUEZ, Pedro et al. Generic relationships and classification of tribe Paullinieae (Sapindaceae) with a new concept of supertribe Paulliniodeae. **Systematic Botany**, v. 42, n. 1, p. 96-114, 2017.

ADANE, Teshale; ADUGNA, Amare Tiruneh; ALEMAYEHU, Esayas. Textile industry effluent treatment techniques. **Journal of Chemistry**, v. 2021, p. 1-14, 2021.

AHMAD, Aftab et al. Size dependent catalytic activities of green synthesized gold nanoparticles and electro-catalytic oxidation of catechol on gold nanoparticles modified electrode. **RSC advances**, v. 5, n. 120, p. 99364-99377, 2015.

AHMAD, Naheed; SHARMA, Seema. Green synthesis of silver nanoparticles using extracts of *Ananas comosus*. **Green and Sustainable Chemistry**, v. 2, n. 4, p. 141-147, 2012.

AHMAD, Tausif et al. Mechanistic investigation of phytochemicals involved in green synthesis of gold nanoparticles using aqueous *Elaeis guineensis* leaves extract: Role of phenolic compounds and flavonoids. **Biotechnology and Applied Biochemistry**, v. 66, n. 4, p. 698-708, 2019.

AHMED, Bilal et al. ROS mediated destruction of cell membrane, growth and biofilms of human bacterial pathogens by stable metallic AgNPs functionalized from bell pepper extract and quercetin. **Advanced Powder Technology**, v. 29, n. 7, p. 1601-1616, 2018.

AHMED, Khan Behlol Ayaz et al. Sunlight mediated synthesis of silver nanoparticles using redox phytoprotein and their application in catalysis and colorimetric mercury sensing. **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology**, v. 151, p. 39-45, 2015.

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

AKILANDAEASWARI, B.; MUTHU, Karuppiyah. One-pot green synthesis of Au-Ag bimetallic nanoparticles from *Lawsonia inermis* seed extract and its catalytic reduction

of environmental polluted methyl orange and 4-nitrophenol. **Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers**, v. 127, p. 292-301, 2021.

AKTHER, Tahira et al. Fungal-mediated synthesis of pharmaceutically active silver nanoparticles and anticancer property against A549 cells through apoptosis. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 26, p. 13649-13657, 2019.

AKULA, Ramakrishna; RAVISHANKAR, Gokare Aswathanarayana. Influence of abiotic stress signals on secondary metabolites in plants. **Plant Signaling & Behavior**, v. 6, n. 11, p. 1720-1731, 2011.

ALABDALLAH, Nadiyah M.; HASAN, Md Mahadi. Plant-based green synthesis of silver nanoparticles and its effective role in abiotic stress tolerance in crop plants. **Saudi Journal of Biological Sciences**, v. 28, n. 10, p. 5631-5639, 2021.

ALAMIER, Waleed M. et al. Biosynthesis of Ag nanoparticles using *Caralluma acutangula* extract and its catalytic functionality towards degradation of hazardous dye pollutants. **Crystals**, v. 12, n. 8, p. 1069, 2022.

ALBERNAZ, Vanessa Lima. Síntese verde de nanopartículas de prata com extrato aquoso de folhas de *Brosimum gaudichaudii*, caracterização físicoquímica, morfológica e suas aplicações no desenvolvimento de um nanobiossensor eletroquímico. 2014.

ALEXANDER, J. Wesley. History of the medical use of silver. **Surgical infections**, v. 10, n. 3, p. 289-292, 2009.

AL-HALHOULI, Ala'aldeen et al. Fabrication and evaluation of a novel non-invasive stretchable and wearable respiratory rate sensor based on silver nanoparticles using inkjet printing technology. **Polymers**, v. 11, n. 9, p. 1518, 2019.

ALI, Ghadir et al. Phytogenic-mediated silver nanoparticles using *Persicaria hydropiper* extracts and its catalytic activity against multidrug resistant bacteria. **Arabian Journal of Chemistry**, v. 15, n. 9, p. 104053, 2022.

ALWHIBI, Mona S. et al. Green synthesis, characterization and biomedical potential of Ag@Au core-shell noble metal nanoparticles. **Journal of King Saud University-Science**, v. 34, n. 4, p. 102000, 2022.

AMARASINGHE, L. D. et al. Comparative study on larvicidal activity of green synthesized silver nanoparticles and *Annona glabra* (Annonaceae) aqueous extract to control *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae). **Heliyon**, v. 6, n. 6, 2020.

AMIN, Muhammad et al. Green synthesis of silver nanoparticles through reduction with *Solanum xanthocarpum* L. berry extract: characterization, antimicrobial and urease inhibitory activities against *Helicobacter pylori*. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 13, n. 8, p. 9923-9941, 2012.

AMRUTHRAJ, Nagoth Joseph; PREETAM RAJ, John Poonga; LEBEL, Antoine. Capsaicin-capped silver nanoparticles: its kinetics, characterization and biocompatibility assay. **Applied Nanoscience**, v. 5, p. 403-409, 2015.

ANAND, K. et al. Agroforestry waste *Moringa oleifera* petals mediated green synthesis of gold nanoparticles and their anti-cancer and catalytic activity. **Journal of Industrial and Engineering Chemistry**, v. 21, p. 1105-1111, 2015.

ÂNGELO, Paula et al. Guarana (*Paullinia cupana* var. *sorbilis*), an anciently consumed stimulant from the Amazon rain forest: the seeded-fruit transcriptome. **Plant Cell Reports**, v. 27, n. 1, p. 117-124, 2008.

ANOOPKUMAR, A. N. et al. Life cycle, bio-ecology and DNA barcoding of mosquitoes *Aedes aegypti* (Linnaeus) and *Aedes albopictus* (Skuse). **Journal of Communicable Diseases**, v. 49, n. 3, p. 32-41, 2017.

ANTONELLI-USHIROBIRA, Tânia Mara et al. Chemical and microbiological study of extract from seeds of guaraná (*Paullinia cupana* var. *sorbilis*). **Acta Farm Bonaerense**, v. 26, p. 5-9, 2007.

ANTUNES, Patricia Beleza. **Análise comparativa das frações polpa, casca, semente e pó comercial do guaraná (*Paullinia cupana*): caracterização química e atividade antioxidante *in vitro***. 2011. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo.

ARARUNA, Felipe Bastos et al. Green syntheses of silver nanoparticles using babassu mesocarp starch (*Attalea speciosa* Mart. ex Spreng.) and their antimicrobial applications. **Environmental Nanotechnology, Monitoring & Management**, v. 13, p. 100281, 2020.

ARYA, Geeta et al. Green synthesis of silver nanoparticles using *Prosopis juliflora* bark extract: reaction optimization, antimicrobial and catalytic activities. **Artificial Cells, Nanomedicine and Biotechnology**, v. 46, n. 5, p. 985-993, 2018.

ASHRAF, Hina et al. Microwave-assisted green synthesis and characterization of silver nanoparticles using *Melia azedarach* for the management of *Fusarium* wilt in tomato. **Frontiers in Microbiology**, v. 11, p. 238, 2020.

ATROCH, André Luiz. Avaliação de progênies de meios irmãos de guaranazeiro (*Paullinia cupana* var. *sobilis* (Mart.) Ducke) utilizando caracteres morfoagronômicos. 2009.

ATROCH, André Luiz; DO NASCIMENTO FILHO, Firmino J. Guarana—*Paullinia cupana* Kunth var. *sorbilis* (Mart.) Ducke. In: **Exotic Fruits**. Academic Press, 2018. p. 225-236.

AVATO, Pinarosa et al. Seed oil composition of *Paullinia cupana* var. *sorbilis* (Mart.) Ducke. **Lipids**, v. 38, n. 7, p. 773-780, 2003.

AZARUDEEN, Raja Mohamed Sait Thameem et al. Single-step biofabrication of silver nanocrystals using *Naregamia alata*: a cost effective and eco-friendly control tool in the fight against malaria, Zika virus and St. Louis encephalitis mosquito vectors. **Journal of Cluster Science**, v. 28, p. 179-203, 2017a.

AZARUDEEN, Raja Mohamed Sait Thameem et al. Size-controlled biofabrication of silver nanoparticles using the *Merremia emarginata* leaf extract: Toxicity on *Anopheles stephensi*, *Aedes aegypti* and *Culex quinquefasciatus* (Diptera: Culicidae) and non-target mosquito predators. **Journal of Asia-Pacific Entomology**, v. 20, n. 2, p. 359-366, 2017b.

BADMUS, Jelili A. et al. Photo-assisted bio-fabrication of silver nanoparticles using *Annona muricata* leaf extract: exploring the antioxidant, anti-diabetic, antimicrobial, and cytotoxic activities. **Heliyon**, v. 6, n. 11, 2020.

BAIG, Nadeem; KAMMAKAKAM, Irshad; FALATH, Wail. Nanomaterials: A review of synthesis methods, properties, recent progress, and challenges. **Materials Advances**, v. 2, n. 6, p. 1821-1871, 2021.

BALU, Satheesh Kumar et al. Size-Dependent Antibacterial, Antidiabetic, and Toxicity of Silver Nanoparticles Synthesized Using Solvent Extraction of *Rosa indica* L. Petals. **Pharmaceuticals**, v. 15, n. 6, p. 689, 2022.

BARBALINARDO, Marianna et al. Protein corona mediated uptake and cytotoxicity of silver nanoparticles in mouse embryonic fibroblast. **Small**, v. 14, n. 34, p. 1801219, 2018.

BARRETO, Cleyde Ferreira et al. Estudo das alterações morfo-histológicas em larvas de *Aedes aegypti* (Diptera, Culicidae) submetidas ao extrato bruto etanólico de *Sapindus saponaria* Lin (Sapindaceae). 2006.

BARUAH, Debjani et al. *Alpinia nigra* fruits mediated synthesis of silver nanoparticles and their antimicrobial and photocatalytic activities. **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology**, v. 201, p. 111649, 2019.

BASILE, Adriana et al. Antibacterial and antioxidant activities of ethanol extract from *Paullinia cupana* Mart. **Journal of ethnopharmacology**, v. 102, n. 1, p. 32-36, 2005.

BASTÚS, Neus G. et al. Synthesis of highly monodisperse citrate-stabilized silver nanoparticles of up to 200 nm: kinetic control and catalytic properties. **Chemistry of Materials**, v. 26, n. 9, p. 2836-2846, 2014.

BASUMATARY, Sunshri et al. Biosynthesis of silver nanoparticles using *Antidesma acidum* leaf extract: Its application in textile organic dye degradation. **Environmental Nanotechnology, Monitoring & Management**, v. 19, p. 100769, 2023.

BAYAT, Maryam et al. Facile biogenic synthesis and characterization of seven metal-based nanoparticles conjugated with phytochemical bioactives using *Fragaria ananassa* leaf extract. **Molecules**, v. 26, n. 10, p. 3025, 2021.

BAYDA, Samer et al. The history of nanoscience and nanotechnology: from chemical-physical applications to nanomedicine. **Molecules**, v. 25, n. 1, p. 112, 2019.

BEHRAVAN, Mahmoodreza et al. Facile green synthesis of silver nanoparticles using *Berberis vulgaris* leaf and root aqueous extract and its antibacterial activity. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 124, p. 148-154, 2019.

BÉLTEKY, Péter et al. Are smaller nanoparticles always better? Understanding the biological effect of size-dependent silver nanoparticle aggregation under biorelevant conditions. **International Journal of Nanomedicine**, v. 16, p. 3021, 2021.

BENELLI, Giovanni. Plant-mediated biosynthesis of nanoparticles as an emerging tool against mosquitoes of medical and veterinary importance: a review. **Parasitology Research**, v. 115, n. 1, p. 23-34, 2016.

BENKHAYA, Said; M'RABET, Souad; EL HARFI, Ahmed. A review on classifications, recent synthesis and applications of textile dyes. **Inorganic Chemistry Communications**, v. 115, p. 107891, 2020.

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

BEZERRA, Thana Esashika. Potencial biotecnológico dos fungos endofíticos do guaraná (*Paullinia cupana* var. *sorbilis*) no controle biológico da antracnose. 2015.

BINDHU, M. R.; UMADEVI, Mahalingam. Antibacterial and catalytic activities of green synthesized silver nanoparticles. **Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, v. 135, p. 373-378, 2015.

BIRLA, Sonal S. et al. Rapid synthesis of silver nanoparticles from *Fusarium oxysporum* by optimizing physiocultural conditions. **The Scientific World Journal**, v. 2013, 2013.

BITTENCOURT, L. S. et al. The protective effects of guaraná extract (*Paullinia cupana*) on fibroblast NIH-3T3 cells exposed to sodium nitroprusside. **Food and Chemical Toxicology**, v. 53, p. 119-125, 2013.

BONILLA, Jeannine; SOBRAL, Paulo Jose do Amaral. Antioxidant and antimicrobial properties of ethanolic extracts of guarana, boldo, rosemary and cinnamon. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 20, 2017.

BORASE, Hemant P. et al. Plant extract: a promising biomatrix for ecofriendly, controlled synthesis of silver nanoparticles. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v. 173, n. 1, p. 1-29, 2014.

BOSE, Debadin; CHATTERJEE, Someswar. Biogenic synthesis of silver nanoparticles using guava (*Psidium guajava*) leaf extract and its antibacterial activity against *Pseudomonas aeruginosa*. **Applied Nanoscience**, v. 6, n. 6, p. 895-901, 2016.

BOUAFIA, Abderrhmane et al. The recent progress on silver nanoparticles: Synthesis and electronic applications. **Nanomaterials**, v. 11, n. 9, p. 2318, 2021.

BRASIL. Ministério do Meio Ambiente. Biodiversidade. 2021. Disponível em: <https://www.gov.br/mma/pt-br/assuntos/biodiversidade#>: (www.gov.br). Acesso em: 31 dez. 2023.

BUERKI, Sven et al. An updated infra-familial classification of Sapindaceae based on targeted enrichment data. **American Journal of Botany**, v. 108, n. 7, p. 1234-1251, 2021.

CADONÁ, Francine C. et al. Guaraná, a highly caffeinated food, presents *in vitro* antitumor activity in colorectal and breast cancer cell lines by inhibiting AKT/mTOR/S6K and MAPKs pathways. **Nutrition and Cancer**, v. 69, n. 5, p. 800-810, 2017.

CALDERÓN-JIMÉNEZ, Bryan et al. Silver nanoparticles: Technological advances, societal impacts, and metrological challenges. **Frontiers in Chemistry**, v. 5, p. 6, 2017.

CARDOSO-AVILA, P. E. et al. Photochemical transformation of silver nanoparticles by combining blue and green irradiation. **Journal of Nanoparticle Research**, v. 17, n. 3, p. 1-10, 2015.

CARVALHO, Lidiane Vasconcelos do Nascimento 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, 2016.

CHAKRABORTY, Bidhayak et al. Evaluation of antioxidant, antimicrobial and antiproliferative activity of silver nanoparticles derived from *Galphimia glauca* leaf extract. **Journal of King Saud University-Science**, v. 33, n. 8, p. 101660, 2021.

CHAND, Kishore et al. Green synthesis, characterization and photocatalytic application of silver nanoparticles synthesized by various plant extracts. **Arabian Journal of Chemistry**, v. 13, n. 11, p. 8248-8261, 2020.

CHANDANSHIVE, Vishal V. et al. In situ phytoremediation of dyes from textile wastewater using garden ornamental plants, effect on soil quality and plant growth. **Chemosphere**, v. 210, p. 968-976, 2018.

CHANDRAKER, Sandip Kumar et al. A review on plant-mediated synthesis of silver nanoparticles, their characterization and applications. **Nano Express**, v. 2, n. 2, p. 022008, 2021.

CHARTI, Ibtissam et al. Ecofriendly synthesis of stabilized silver nanoparticles and the evaluation of their potential applications. **Current Research in Green and Sustainable Chemistry**, v. 4, p. 100102, 2021.

CHAUHAN, Shalini; UPADHYAY, Mukesh Kumar. Fruit based synthesis of silver nanoparticles-an effect of temperature on the size of particles. **Recent Research in Science and Technology**, 2012.

CHENG, Youliang et al. Variability and improvement of optical and antimicrobial performances for CQDs/mesoporous SiO₂/Ag NPs composites via *in situ* synthesis. **Green Processing and Synthesis**, v. 10, n. 1, p. 403-411, 2021.

CHOU, Kan-Sen; LU, Yu-Chieh; LEE, Hsien-Hsuen. Effect of alkaline ion on the mechanism and kinetics of chemical reduction of silver. **Materials Chemistry and Physics**, v. 94, n. 2-3, p. 429-433, 2005.

CHOUDHARY, Manoj Kumar; KATARIA, Jyoti; SHARMA, Shweta. A biomimetic synthesis of stable gold nanoparticles derived from aqueous extract of *Foeniculum vulgare* seeds and evaluation of their catalytic activity. **Applied Nanoscience**, v. 7, p. 439-447, 2017.

CHOUIN-CARNEIRO, Thaís; SANTOS, Flavia Barreto dos. Transmission of major arboviruses in Brazil: the role of *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* vectors. **Biological Control of Pest and Vector Insects**, v. 2, 2017.

CLSI. (*Clinical and Laboratory Standards Institute*). Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically; Approved Standard—Tenth Edition. CLSI document M07-A10. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2015.

CRUZ, Diana et al. Preparation and physicochemical characterization of Ag nanoparticles biosynthesized by *Lippia citriodora* (Lemon Verbena). **Colloids and Surfaces B: biointerfaces**, v. 81, n. 1, p. 67-73, 2010.

DA SILVA, G. et al. 1H quantitative nuclear magnetic resonance and principal component analysis as tool for discrimination of guarana seeds from different geographic regions of Brazil. **Magnetic Resonance in Food Science 2016 Proceedings**, v. 1, p. 21-25, 2016.

DA SILVA, Givaldo Souza 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.

DAIMA, Hemant K. et al. Synergistic influence of polyoxometalate surface corona towards enhancing the antibacterial performance of tyrosine-capped Ag nanoparticles. **Nanoscale**, v. 6, n. 2, p. 758-765, 2014.

DAKAL, Tikam Chand et al. Mechanistic basis of antimicrobial actions of silver nanoparticles. **Frontiers in Microbiology**, v. 7, p. 1831, 2016.

DALONSO, Nicole; PETKOWICZ, Carmen Lúcia de Oliveira. Guarana powder polysaccharides: characterisation and evaluation of the antioxidant activity of a pectic fraction. **Food Chemistry**, v. 134, n. 4, p. 1804-1812, 2012.

DAS, Gitishree et al. Photo-mediated optimized synthesis of silver nanoparticles using the extracts of outer shell fibre of *Cocos nucifera* L. fruit and detection of its antioxidant, cytotoxicity and antibacterial potential. **Saudi Journal of Biological Sciences**, v. 28, n. 1, p. 980-987, 2021.

DAS, Pratik et al. Facile green synthesis of non-genotoxic, non-hemolytic organometallic silver nanoparticles using extract of crushed, wasted, and spent *Humulus lupulus* (hops): Characterization, anti-bacterial, and anti-cancer studies. **Environmental Research**, v. 204, p. 111962, 2022.

DE BARROS, Caio Henrique Nasi. **Síntese e caracterização de nanopartículas de prata: estudo de interações com biomoléculas e atividade antimicrobiana**. 2017. Tese de Doutorado. [sn].

DE GOIS, Jefferson S. et al. Direct solid analysis for the determination of Mn, Ni, Rb and Sr in powdered stimulant plants using high-resolution continuum source atomic absorption spectrometry followed by chemometric classification based on elemental composition, polyphenol content and antioxidant activity. **Microchemical Journal**, v. 124, p. 283-289, 2016.

DE OLIVEIRA, Ana Ligia Leandrini et al. Chemical composition of guarana flowers and nectar and their ecological significance. **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 112, p. 104769, 2024.

DIN, Shahrulnizahana Mohammad et al. Antibacterial silver nanoparticles using different organs of *Ficus deltoidea* Jack var. *kunstleri* (King) Corner. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, v. 44, p. 102473, 2022.

DONG, Shouan et al. Photochemical synthesis of gold nanoparticles by the sunlight radiation using a seeding approach. **Gold bulletin**, v. 37, n. 3-4, p. 187-195, 2004.

DRUMMER, Sean; MADZIMBAMUTO, Tafirenyika; CHOWDHURY, Mahabubur. Green synthesis of transition-metal nanoparticles and their oxides: a review. **Materials**, v. 14, n. 11, p. 2700, 2021.

DUA, Tarun Kumar et al. Green synthesis of silver nanoparticles using *Eupatorium adenophorum* leaf extract: characterizations, antioxidant, antibacterial and photocatalytic activities. **Chemical Papers**, p. 1-10, 2023.

DUCHAN, Erin; PATEL, Neil D.; FEUCHT, Cynthia. Energy drinks: a review of use and safety for athletes. **The Physician and Sportsmedicine**, v. 38, n. 2, p. 171-179, 2010.

DURÁN, Nelson; NAKAZATO, Gerson; SEABRA, Amedea B. Antimicrobial activity of biogenic silver nanoparticles, and silver chloride nanoparticles: an overview and comments. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 100, p. 6555-6570, 2016.

EDISON, T. Jebakumar Immanuel; SETHURAMAN, M. G. Instant green synthesis of silver nanoparticles using *Terminalia chebula* fruit extract and evaluation of their catalytic activity on reduction of methylene blue. **Process Biochemistry**, v. 47, n. 9, p. 1351-1357, 2012.

- EDISON, Thomas Nesakumar Jebakumar Immanuel et al. Reductive-degradation of carcinogenic azo dyes using *Anacardium occidentale* testa derived silver nanoparticles. **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology**, v. 162, p. 604-610, 2016.
- EDWARDS, Howell GM et al. FT-Raman spectroscopic studies of guarana and some extracts. **Analytica Chimica Acta**, v. 532, n. 2, p. 177-186, 2005.
- EL KHOURY, Elsy et al. Green synthesis of curcumin conjugated nanosilver for the applications in nucleic acid sensing and anti-bacterial activity. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 127, p. 274-280, 2015.
- ELUMALAI, D. et al. Green synthesis of silver nanoparticle using *Achyranthes aspera* and its larvicidal activity against three major mosquito vectors. **Engineering in Agriculture, Environment and food**, v. 9, n. 1, p. 1-8, 2016.
- ESMAILE, Faezeh; KOOHESTANI, Hassan; ABDOLLAH-POUR, Hassan. Characterization and antibacterial activity of silver nanoparticles green synthesized using *Ziziphora clinopodioides* extract. **Environmental Nanotechnology, Monitoring & Management**, v. 14, p. 100303, 2020.
- ETTADILI, F. E. et al. Recent advances in the nanoparticles synthesis using plant extract: Applications and future recommendations. **Journal of Molecular Structure**, v. 1248, p. 131538, 2022.
- EVENSEN, Harold T. A Hands-on, Introductory Course for First-year Engineering Students in Microsystems and Nanomaterials. In: **2013 ASEE Annual Conference & Exposition**. 2013. p. 23.53. 1-23.53. 13.
- FAIRUZI, A. A. et al. Degradation of methylene blue using silver nanoparticles synthesized from *Imperata cylindrica* aqueous extract. In: **IOP Conference Series: Earth and Environmental Science**. IOP Publishing, 2018. p. 012018.
- FAMUYIWA, F. G.; FAMUYIWA, S. O.; ALADESANMI, A. J. Activity of the compounds isolated from *Blighia sapida* (sapindaceae) stem bark against *Aedes aegypti* larvae. **Ife Journal of Science**, v. 20, n. 3, p. 601-605, 2018.
- FATIMAH, Is et al. Ultrasound-assisted biosynthesis of silver and gold nanoparticles using *Clitoria ternatea* flower. **South African Journal of Chemical Engineering**, v. 34, p. 97-106, 2020.
- FAYAZ, Amanulla Mohammed et al. Biogenic synthesis of silver nanoparticles and their synergistic effect with antibiotics: a study against gram-positive and gram-negative bacteria. **Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine**, v. 6, n. 1, p. 103-109, 2010.
- FENFEN, L. Ü. et al. Roles of biomolecules in the biosynthesis of silver nanoparticles: case of *Gardenia jasminoides* extract. **Chinese Journal of Chemical Engineering**, v. 22, n. 6, p. 706-712, 2014.
- FIGUEIRA, Marcela de Souza. Efeitos do extrato aquoso de guaraná (*Paullinia cupana*) em pó nos mecanismos envolvidos com a absorção de colesterol *in vitro* e em células Caco-2. 2021.
- FILIFE, Vasco; HAWES, Andrea; JISKOOT, Wim. Critical evaluation of Nanoparticle Tracking Analysis (NTA) by NanoSight for the measurement of nanoparticles and protein aggregates. **Pharmaceutical research**, v. 27, n. 5, p. 796-810, 2010.

FRANCIS, Sijo et al. Green synthesis and characterization of gold and silver nanoparticles using *Mussaenda glabrata* leaf extract and their environmental applications to dye degradation. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 24, p. 17347-17357, 2017.

FRANCIS, Sijo; KOSHY, Ebey; MATHEW, Beena. Microwave aided synthesis of silver and gold nanoparticles and their antioxidant, antimicrobial and catalytic potentials. **Journal of Nanostructures**, v. 8, n. 1, p. 55-66, 2018.

GARG, D. et al. Synthesis of silver nanoparticles utilizing various biological systems: mechanisms and applications—a review. **Progress in Biomaterials**, 5: 1–15. 2020.

GAVHANE, Asmita J. et al. Synthesis of silver nanoparticles using extract of neem leaf and triphala and evaluation of their antimicrobial activities. **International Journal of Pharma and Bio Sciences**, v. 3, n. 3, p. 88-100, 2012.

GECER, Esmá Nur; ERENLER, Ramazan. Biogenic synthesis of silver nanoparticles using *Echium vulgare*: Characterisation, quantitative analysis of bioactive compounds, antioxidant activity and catalytic degradation. **Journal of the Indian Chemical Society**, p. 101003, 2023.

GHOREISHI, Sayed M.; BEHPOUR, Mohsen; KHAYATKASHANI, Maryam. Green synthesis of silver and gold nanoparticles using *Rosa damascena* and its primary application in electrochemistry. **Physica E: Low-dimensional Systems and Nanostructures**, v. 44, n. 1, p. 97-104, 2011.

GHOSH, Shubhrima et al. Microbial nano-factories: synthesis and biomedical applications. **Frontiers in Chemistry**, v. 9, p. 626834, 2021.

GHOSH, Sujit Kumar et al. Silver and gold nanocluster catalyzed reduction of methylene blue by arsine in a micellar medium. **Langmuir**, v. 18, n. 23, p. 8756-8760, 2002.

GHOSHAL, Gargi; SINGH, Manpreet. Characterization of silver nano-particles synthesized using fenugreek leave extract and its antibacterial activity. **Materials Science for Energy Technologies**, v. 5, p. 22-29, 2022.

GITHALA, Chanda Kumari; TRIVEDI, Rohini. Review on synthesis method, biomolecules involved, size affecting factors and potential applications of silver nanoparticles. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, v. 54, p. 102912, 2023.

GLIGA, Anda R. et al. Size-dependent cytotoxicity of silver nanoparticles in human lung cells: the role of cellular uptake, agglomeration and Ag release. **Particle and Fibre Toxicology**, v. 11, p. 1-17, 2014.

GOBBO-NETO, Leonardo; LOPES, Norberto P. Plantas medicinais: fatores de influência no conteúdo de metabólitos secundários. **Química Nova**, v. 30, p. 374-381, 2007.

GOVINDARAJAN, M. Mosquito larvicidal and ovicidal activity of *Cardiospermum halicacabum* Linn. (family: Sapindaceae) leaf extract against *Culex quinquefasciatus* (Say.) and *Aedes aegypti* (Linn.) (Diptera: Culicidae). **European Review for Medical & Pharmacological Sciences**, v. 15, n. 7, 2011.

GOVINDARAJAN, M. et al. One-step synthesis of polydispersed silver nanocrystals using *Malva sylvestris*: an eco-friendly mosquito larvicide with negligible impact on non-target aquatic organisms. **Parasitology Research**, v. 115, p. 2685-2695, 2016.

- GRAÇA, Rosilane Ramos. *Licaria puchury-major* (MART.) kosterm: biossintese de nanopartículas de prata dos extratos vegetais com atividade antimicrobiana. 2015.
- GRÖNING, R. et al. Nanoparticles in plant extracts--factors which influence the formation of nanoparticles in black tea infusions. **Die Pharmazie**, v. 56, n. 10, p. 790-792, 2001.
- GRZESIK, Michalina et al. Antioxidant properties of catechins: Comparison with other antioxidants. **Food chemistry**, v. 241, p. 480-492, 2018.
- GUAN, Qingxin; XIA, Chanchan; LI, Wei. Bio-friendly controllable synthesis of silver nanoparticles and their enhanced antibacterial property. **Catalysis Today**, v. 327, p. 196-202, 2019.
- GUDIKANDULA, Krishna; CHARYA MARINGANTI, Singara. Synthesis of silver nanoparticles by chemical and biological methods and their antimicrobial properties. **Journal of Experimental Nanoscience**, v. 11, n. 9, p. 714-721, 2016.
- GUPTA, Nikesh; SINGH, Henam Premananda; SHARMA, Rakesh Kumar. Metal nanoparticles with high catalytic activity in degradation of methyl orange: an electron relay effect. **Journal of Molecular Catalysis A: Chemical**, v. 335, n. 1-2, p. 248-252, 2011.
- HAMEDI, Sepideh et al. Controlled biosynthesis of silver nanoparticles using culture supernatant of filamentous fungus. **Iranian Journal of Chemistry and Chemical Engineering**, v. 36, n. 5, 2017.
- HAMEDI, Sepideh; SHOJAOSADATI, Seyed Abbas. Rapid and green synthesis of silver nanoparticles using *Diospyros lotus* extract: Evaluation of their biological and catalytic activities. **Polyhedron**, v. 171, p. 172-180, 2019.
- HASHEMI, Zahra et al. Sustainable biosynthesis of metallic silver nanoparticles using barberry phenolic extract: Optimization and evaluation of photocatalytic, *in vitro* cytotoxicity, and antibacterial activities against multidrug-resistant bacteria. **Inorganic Chemistry Communications**, v. 139, p. 109320, 2022a.
- HASHEMI, Zahra et al. Sustainable green synthesis of silver nanoparticles using *Sambucus ebulus* phenolic extract (AgNPs@SEE): Optimization and assessment of photocatalytic degradation of methyl orange and their *in vitro* antibacterial and anticancer activity. **Arabian Journal of Chemistry**, v. 15, n. 1, p. 103525, 2022b.
- HASHEMITABAR, Gholamreza; AFLAKIAN, Fatemeh; SABZEVAR, Azadeh Hadad. Assessment of antibacterial, antioxidant, and anticancer effects of biosynthesized silver nanoparticles using *Teucrium polium* extract. **Journal of Molecular Structure**, p. 136076, 2023.
- HATIPOĞLU, Abdulkirim. Green biosynthesis of silver nanoparticles using *Prunus Cerasifera Pissardii nigra* leaf and their antimicrobial activities against some food pathogens. **Czech Journal of Food Sciences**, v. 40, n. 5, p. 383-391, 2022.
- HEMLATA et al. Biosynthesis of silver nanoparticles using *Cucumis prophetarum* aqueous leaf extract and their antibacterial and antiproliferative activity against cancer cell lines. **ACS omega**, v. 5, n. 10, p. 5520-5528, 2020.
- HERNÁNDEZ-PINERO, Jorge Luis et al. Effect of heating rate and plant species on the size and uniformity of silver nanoparticles synthesized using aromatic plant extracts. **Applied Nanoscience**, v. 6, p. 1183-1190, 2016.

- HOSSEINGHOLIAN, Arezoo et al. Recent advances in green synthesized nanoparticles: from production to application. **Materials Today Sustainability**, p. 100500, 2023.
- HRISTOV, Delyan R. et al. Using single nanoparticle tracking obtained by nanophotonic force microscopy to simultaneously characterize nanoparticle size distribution and nanoparticle–surface interactions. **Nanoscale**, v. 9, n. 13, p. 4524-4535, 2017.
- HU, Xiaoping et al. Eco-friendly synthesis of size-controlled silver nanoparticles by using *Areca catechu* nut aqueous extract and investigation of their potent antioxidant and anti-bacterial activities. **Arabian Journal of Chemistry**, v. 15, n. 5, p. 103763, 2022.
- HUQ, Md Amdadul et al. Green synthesis and potential antibacterial applications of bioactive silver nanoparticles: A review. **Polymers**, v. 14, n. 4, p. 742, 2022.
- HUSSAIN, Mubashir 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, p. 1381-1392, 2019.
- HUSSEINY, Sherif Moussa; SALAH, Taher A.; ANTER, Hend A. Biosynthesis of size controlled silver nanoparticles by *Fusarium oxysporum*, their antibacterial and antitumor activities. **Beni-Suef University Journal of Basic and Applied Sciences**, v. 4, n. 3, p. 225-231, 2015.
- IBGE. Produção Agrícola - Lavoura Permanente. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. 2022.
- İPEK, Polat et al. Green Synthesis of Silver Nanoparticles Derived from *Papaver rhoeas* L. Leaf Extract: Cytotoxic and Antimicrobial Properties. **Molecules**, v. 28, n. 17, p. 6424, 2023.
- IRAVANI, Siavach et al. Synthesis of silver nanoparticles: chemical, physical and biological methods. **Research in Pharmaceutical Sciences**, v. 9, n. 6, p. 385, 2014.
- IRAVANI, Siavash et al. Green synthesis of silver nanoparticles using *Pinus eldarica* bark extract. **BioMed Research International**, v. 2013, 2013.
- ISLAM, Nazar Ul et al. Gummy gold and silver nanoparticles of apricot (*Prunus armeniaca*) confer high stability and biological activity. **Arabian Journal of Chemistry**, v. 12, n. 8, p. 3977-3992, 2019.
- ISMAIL, Muhammad et al. Pollution, toxicity and carcinogenicity of organic dyes and their catalytic bio-remediation. **Current Pharmaceutical Design**, v. 25, n. 34, p. 3645-3663, 2019.
- JABIR, Majid S. et al. Green synthesis of silver nanoparticles using *Annona muricata* extract as an inducer of apoptosis in cancer cells and inhibitor for NLRP3 inflammasome via enhanced autophagy. **Nanomaterials**, v. 11, n. 2, p. 384, 2021.
- JAGTAP, Umesh B.; BAPAT, Vishwas A. Green synthesis of silver nanoparticles using *Artocarpus heterophyllus* Lam. seed extract and its antibacterial activity. **Industrial Crops and Products**, v. 46, p. 132-137, 2013.
- JAIN, Navin; BHARGAVA, Aprit; PANWAR, Jitendra. Enhanced photocatalytic degradation of methylene blue using biologically synthesized “protein-capped” ZnO nanoparticles. **Chemical Engineering Journal**, v. 243, p. 549-555, 2014.

JAIN, Siddhant; MEHATA, Mohan Singh. Medicinal plant leaf extract and pure flavonoid mediated green synthesis of silver nanoparticles and their enhanced antibacterial property. **Scientific Reports**, v. 7, n. 1, p. 1-13, 2017.

JAVED, Bilal et al. Optimization, characterization and antimicrobial activity of silver nanoparticles against plant bacterial pathogens phyto-synthesized by *Mentha longifolia*. **Materials Research Express**, v. 7, n. 8, p. 085406, 2020.

JAVED, Bilal; MASHWANI, Zia-ur-Rehman. Phytosynthesis of colloidal nanosilver from *Mentha longifolia* and *Mentha arvensis*: comparative morphological and optical characterization. **Microscopy Research and Technique**, v. 83, n. 11, p. 1299-1307, 2020.

JIANG, Shan et al. Oral administration and selective uptake of polymeric nanoparticles in Drosophila larvae as an *in vivo* model. **ACS Biomaterials Science & Engineering**, v. 1, n. 11, p. 1077-1084, 2015.

JIANG, X. C. et al. Role of temperature in the growth of silver nanoparticles through a synergetic reduction approach. **Nanoscale Research Letters**, v. 6, n. 1, p. 1-9, 2011.

JIANG, Zhong-Jie; LIU, Chun-Yan; SUN, Lu-Wei. Catalytic properties of silver nanoparticles supported on silica spheres. **The Journal of Physical Chemistry B**, v. 109, n. 5, p. 1730-1735, 2005.

JIMÉNEZ PÉREZ, Zuly Elizabeth et al. Ginseng-berry-mediated gold and silver nanoparticle synthesis and evaluation of their *in vitro* antioxidant, antimicrobial, and cytotoxicity effects on human dermal fibroblast and murine melanoma skin cell lines. **International Journal of Nanomedicine**, p. 709-723, 2017.

JOSEPH, Siby; MATHEW, Beena. Microwave-assisted green synthesis of silver nanoparticles and the study on catalytic activity in the degradation of dyes. **Journal of Molecular Liquids**, v. 204, p. 184-191, 2015.

JOVITO, Bárbara L. et al. Graphene oxide/zinc oxide nanocomposite displaying selective toxicity to glioblastoma cell lines. **ACS Applied Bio Materials**, v. 4, n. 1, p. 829-843, 2021.

JUNEJO, Yasmeen; SAFDAR, Muhammad. Highly effective heterogeneous doxycycline stabilized silver nanocatalyst for the degradation of ibuprofen and paracetamol drugs. **Arabian Journal of Chemistry**, v. 12, n. 8, p. 2823-2832, 2019.

JUNG, Woo Kyung et al. Antibacterial activity and mechanism of action of the silver ion in *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 74, n. 7, p. 2171-2178, 2008.

KACHLICKI, Piotr et al. Structural characterization of flavonoid glycoconjugates and their derivatives with mass spectrometric techniques. **Molecules**, v. 21, n. 11, p. 1494, 2016.

KANG, Hyungseok et al. Epitaxial-growth-induced junction welding of silver nanowire network electrodes. **ACS nano**, v. 12, n. 5, p. 4894-4902, 2018.

KARAN, Tunay et al. Green synthesis of silver nanoparticles using *Sambucus ebulus* leaves extract: Characterization, quantitative analysis of bioactive molecules, antioxidant and antibacterial activities. **Journal of Molecular Structure**, v. 1296, p. 136836, 2024.

KARATOPRAK, Gökçe Şeker et al. The Effect of *Pelargonium endlicherianum* Fenzl. root extracts on formation of nanoparticles and their antimicrobial activities. **Enzyme and Microbial Technology**, v. 97, p. 21-26, 2017.

KAREKALAMMANAVAR, G.; DAVID, M. Optimization of green synthesis of silver nanoparticles from leaf extracts of *Tabernaemontana heyneana* and evaluation of their catalytic activity on reduction of methylene blue. **Haya: The Saudi Journal of Life Sciences**, v. 3, p. 248-254, 2018.

KASTHURI, J.; VEERAPANDIAN, S.; RAJENDIRAN, N. Biological synthesis of silver and gold nanoparticles using apiin as reducing agent. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 68, n. 1, p. 55-60, 2009.

KATTA, V. K. M.; DUBEY, R. S. Green synthesis of silver nanoparticles using *Tagetes erecta* plant and investigation of their structural, optical, chemical and morphological properties. **Materials Today: Proceedings**, v. 45, p. 794-798, 2021.

KESHARWANI, Jayendra et al. Phytofabrication of silver nanoparticles by leaf extract of *Datura metel*: hypothetical mechanism involved in synthesis. **Journal of Bionanoscience**, v. 3, n. 1, p. 39-44, 2009.

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

KHAN, Mujeeb et al. Green synthesis of silver nanoparticles mediated by *Pulicaria glutinosa* extract. **International Journal of Nanomedicine**, p. 1507-1516, 2013.

KHARAT, Sopan N.; MENDHULKAR, Vijay D. Synthesis, characterization and studies on antioxidant activity of silver nanoparticles using *Elephantopus scaber* leaf extract. **Materials Science and Engineering: C**, v. 62, p. 719-724, 2016.

KHARISSOVA, Oxana V. et al. Greener synthesis of chemical compounds and materials. **Royal Society Open Science**, v. 6, n. 11, p. 191378, 2019.

KHODASHENAS, Bahareh; GHORBANI, Hamid Reza. Synthesis of silver nanoparticles with different shapes. **Arabian Journal of Chemistry**, v. 12, n. 8, p. 1823-1838, 2019.

KIM, Tae Yoon et al. Tannic acid-mediated green synthesis of antibacterial silver nanoparticles. **Archives of Pharmacal Research**, v. 39, p. 465-473, 2016.

KISCHKEL, Brenda et al. Nanopartículas de prata biossintetizadas por *Mikania glomerata* Sprengel inibem o crescimento de *Candida albicans* e *Staphylococcus aureus*. **Archives of Health Sciences**, p. 46-52, 2018.

KLEIN, Traudi; LONGHINI, Renata; DE MELLO, João Carlos Palazzo. Development of an analytical method using reversed-phase HPLC-PDA for a semipurified extract of *Paullinia cupana* var. *sorbilis* (guaraná). **Talanta**, v. 88, p. 502-506, 2012.

KONWARH, Rocktotpal et al. Biomimetic preparation of polymer-supported free radical scavenging, cytocompatible and antimicrobial “green” silver nanoparticles using aqueous extract of *Citrus sinensis* peel. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 84, n. 2, p. 338-345, 2011.

KORA, Aruna Jyothi; MOUNIKA, J.; JAGADEESHWAR, R. Rice leaf extract synthesized silver nanoparticles: An *in vitro* fungicidal evaluation against *Rhizoctonia*

solani, the causative agent of sheath blight disease in rice. **Fungal Biology**, v. 124, n. 7, p. 671-681, 2020.

KUISMA, Mikael et al. Localized surface plasmon resonance in silver nanoparticles: Atomistic first-principles time-dependent density-functional theory calculations. **Physical Review B**, v. 91, n. 11, p. 115431, 2015.

KUMAR, Pradeep et al. Efficient Catalytic Degradation of Selected Toxic Dyes by Green Biosynthesized Silver Nanoparticles Using Aqueous Leaf Extract of *Cestrum nocturnum* L. **Nanomaterials**, v. 12, n. 21, p. 3851, 2022.

KUMAR, Vundru Anil et al. Photo-induced and phytomediated synthesis of silver nanoparticles using *Derris trifoliata* leaf extract and its larvicidal activity against *Aedes aegypti*. **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology**, v. 171, p. 1-8, 2017.

KURI, C. M. B. The guaran industry in Brazil. **International Business & Economics Research Journal (IBER)**, v. 7, n. 5, p. 87-98, 2008.

KUSKOSKI, Eugenia M. et al. Chemical and pharmacological properties of the fruit Guaraná (*Paullinia cupana*). **Vitae**, v. 12, n. 2, p. 45-52, 2005.

KUSKOSKI, Eugenia Marta et al. Capillary Gas Chromatography-Mass Spectrometry (CGC-MS) Analysis and Antioxidant Activities of Phenolic and Components of Guarana and Derivatives. **Open Analytical Chemistry Journal**, 6, 2012.

LEE, Shan-Wei et al. Effect of temperature on the growth of silver nanoparticles using plasmon-mediated method under the irradiation of green LEDs. **Materials**, v. 7, n. 12, p. 7781-7798, 2014.

LELLIS, Bruno et al. Effects of textile dyes on health and the environment and bioremediation potential of living organisms. **Biotechnology Research and Innovation**, v. 3, n. 2, p. 275-290, 2019.

LI, Ruilin et al. Antibacterial and cytotoxic activities of a green synthesized silver nanoparticles using corn silk aqueous extract. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v. 598, p. 124827, 2020.

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

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

LOGANATHAN, Settu et al. Biological synthesis and characterization of *Passiflora subpeltata* Ortega aqueous leaf extract in silver nanoparticles and their evaluation of antibacterial, antioxidant, anti-cancer and larvicidal activities. **Journal of King Saud University-Science**, v. 34, n. 3, p. 101846, 2022.

LOPEZ-CARBALLO, Gracia et al. Silver ions release from antibacterial chitosan films containing *in situ* generated silver nanoparticles. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 61, n. 1, p. 260-267, 2013.

LOTIFY, Walid A. et al. Biosynthesis of silver nanoparticles by *Aspergillus terreus*: characterization, optimization, and biological activities. **Frontiers in Bioengineering and Biotechnology**, v. 9, p. 633468, 2021.

- LÜDE, Saskia et al. Adverse effects of plant food supplements and plants consumed as food: results from the poisons centres-based PlantLIBRA study. **Phytotherapy Research**, v. 30, n. 6, p. 988-996, 2016.
- MA, Jieyao et al. The Application of UHPLC-HRMS for Quality Control of Traditional Chinese Medicine. **Frontiers in Pharmacology**, v. 13, 2022.
- MACHADO, Kamilla Nunes 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, Lucija; ŠKERGET, Mojca; KNEZ, Željko. 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 (англоязычная версия)**, v. 6, n. 1 (20), p. 35-44, 2014.
- MALLICK, Kaushik; WITCOMB, Mike; SCURRELL, Mike. Silver nanoparticle catalysed redox reaction: an electron relay effect. **Materials Chemistry and Physics**, v. 97, n. 2-3, p. 283-287, 2006.
- MANI, M. et al. A novel biogenic *Allium cepa* leaf mediated silver nanoparticles for antimicrobial, antioxidant, and anticancer effects on MCF-7 cell line. **Environmental Research**, v. 198, p. 111199, 2021.
- MANKAD, Mounil et al. Comparative studies of sunlight mediated green synthesis of silver nanoparticles from *Azadirachta indica* leaf extract and its antibacterial effect on *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*. **Arabian Journal of Chemistry**, v. 13, n. 1, p. 2865-2872, 2020.
- MANOSALVA, Nixson et al. Green synthesis of silver nanoparticles: effect of synthesis reaction parameters on antimicrobial activity. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 35, p. 1-9, 2019.
- MARQUES, Leila Larisa Medeiros et al. *Paullinia cupana*: a multipurpose plant—a review. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 29, n. 1, p. 77-110, 2019.
- MARQUES, Leila Larisa Medeiros. Investigação fitoquímica e biológica de extratos obtidos por tecnologia crítica de sementes de *Paulinia cupana* (guaraná), 2016.
- MARSLIN, Gregory et al. Secondary metabolites in the green synthesis of metallic nanoparticles. **Materials**, v. 11, n. 6, p. 940, 2018.
- MARTINS, Carolina de Aguiar. **Avaliação da atividade antioxidante *in vitro* e *in vivo* do guaraná (*Paullinia cupana*) em pó**. 2010. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo.
- MARTINS, Nábila Evelyn. Caracterização e avaliação de atividades biológicas de extratos de *Hibiscus sabdariffa* L. e de nanopartículas de prata obtidas por síntese verde. 2018.
- MARUTHAI, Jayapriya; MUTHUKUMARASAMY, Arulmozhi; BASKARAN, Balraj. Fabrication and characterisation of silver nanoparticles using bract extract of *Musa paradisiaca* for its synergistic combating effect on phytopathogens, free radical scavenging activity, and catalytic efficiency. **IET Nanobiotechnology**, v. 13, n. 2, p. 134-143, 2019.
- MATHUR, Prateek et al. Pharmaceutical aspects of silver nanoparticles. **Artificial Cells, Nanomedicine, and Biotechnology**, v. 46, n. sup1, p. 115-126, 2018.

- MCGILLICUDDY, Eoin et al. Silver nanoparticles in the environment: Sources, detection and ecotoxicology. **Science of the Total Environment**, v. 575, p. 231-246, 2017.
- MEHWISH, Hafiza Mahreen et al. Green synthesis of a silver nanoparticle using *Moringa oleifera* seed and its applications for antimicrobial and sun-light mediated photocatalytic water detoxification. **Journal of Environmental Chemical Engineering**, v. 9, n. 4, p. 105290, 2021.
- MELKAMU, Walelign Wubet; BITEW, Legesse Terefe. Green synthesis of silver nanoparticles using *Hagenia abyssinica* (Bruce) JF Gmel plant leaf extract and their antibacterial and anti-oxidant activities. **Heliyon**, v. 7, n. 11, p. e08459, 2021.
- MENDES, Marta Sofia da Silva. **Métodos" verdes" de produção de nanomateriais que promovem nanotecnologias sustentáveis**. 2015. Tese de Doutorado. Instituto Superior de Engenharia de Lisboa.
- MIRANDA, Márcia Vilhora. *Paullinia cupana*: Atualização de patogénese. 2008.
- MIRANDA, Márcia Vilhora; METZNER, Barbara Susanne. *Paullinia cupana*: revisão da matéria médica. **Revista de Homeopatia**, v. 73, n. 1/2, p. 1-17, 2010.
- MITTAL, Amit Kumar; CHISTI, Yusuf; BANERJEE, Uttam Chand. Synthesis of metallic nanoparticles using plant extracts. **Biotechnology advances**, v. 31, n. 2, p. 346-356, 2013.
- MITTAL, Jitendra et al. Phytofabrication of nanoparticles through plant as nanofactories. **Advances in Natural Sciences: Nanoscience and Nanotechnology**, v. 5, n. 4, p. 043002, 2014.
- MOCK, J. J. et al. Localized surface plasmon resonance effects by naturally occurring Chinese yam particles. **The Journal of Chemical Physics**, v. 116, p. 6755, 2002.
- MOHAMAD, Nurul Amal Nadhirah et al. Plant extract as reducing agent in synthesis of metallic nanoparticles: a review. **Advanced Materials Research**, v. 832, p. 350-355, 2014.
- MOLDOVEANU, Serban C. et al. Parameters that characterize HPLC analysis. **Essentials in Modern HPLC Separations**, p. 53-83, 2013.
- MOTERIYA, P. et al. Screening of silver nanoparticle synthetic efficacy of some medicinal plants of Saurashtra region. **A review, Natural Products: Research Reviews, Gupta VK Ed**, v. 3, 2016.
- MOULTON, Michael C. et al. Synthesis, characterization and biocompatibility of "green" synthesized silver nanoparticles using tea polyphenols. **Nanoscale**, v. 2, n. 5, p. 763-770, 2010.
- MOURDIKOU DIS, Stefanos et al. Heat-Up Colloidal Synthesis of Shape-Controlled Cu-Se-S Nanostructures—Role of Precursor and Surfactant Reactivity and Performance in N₂ Electroreduction. **Nanomaterials**, v. 11, n. 12, p. 3369, 2021.
- MURUGAN, Kadarkarai et al. Predation by Asian bullfrog tadpoles, *Hoplobatrachus tigerinus*, against the dengue vector, *Aedes aegypti*, in an aquatic environment treated with mosquitocidal nanoparticles. **Parasitology Research**, v. 114, p. 3601-3610, 2015.
- MUSTAPHA, Tijjani et al. A review on plants and microorganisms mediated synthesis of silver nanoparticles, role of plants metabolites and applications. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, v. 19, n. 2, p. 674, 2022.

- NAKHJAVANI, Maryam et al. Green synthesis of silver nanoparticles using green tea leaves: Experimental study on the morphological, rheological and antibacterial behaviour. **Heat and Mass Transfer**, v. 53, p. 3201-3209, 2017.
- NALINI, Madanagopal et al. Effect of phyto-synthesized silver nanoparticles on developmental stages of malaria vector, *Anopheles stephensi* and dengue vector, *Aedes aegypti*. **Egyptian Journal of Basic and Applied Sciences**, v. 4, n. 3, p. 212-218, 2017.
- NASEEM, Khalida et al. Plant extract induced biogenic preparation of silver nanoparticles and their potential as catalyst for degradation of toxic dyes. **Coatings**, v. 10, n. 12, p. 1235, 2020.
- NASROLLAHZADEH, Mahmoud et al. Plant-mediated green synthesis of nanostructures: mechanisms, characterization, and applications. In: **Interface Science and Technology**. Elsevier, 2019b. p. 199-322.
- NGUYEN, Duc Dung; LAI, Jui-Yang. Synthesis, bioactive properties, and biomedical applications of intrinsically therapeutic nanoparticles for disease treatment. **Chemical Engineering Journal**, v. 435, p. 134970, 2022.
- NGUYEN, Kathy C. et al. Comparison of toxicity of uncoated and coated silver nanoparticles. In: **Journal of Physics: Conference Series**. IOP Publishing, 2013. p. 012025.
- NGUYEN, T. My-Thao et al. Biosynthesis of metallic nanoparticles from waste *Passiflora edulis* peels for their antibacterial effect and catalytic activity. **Arabian Journal of Chemistry**, v. 14, n. 4, p. 103096, 2021.
- NINA, Natasha Veruska dos Santos et al. Phytochemistry divergence among guarana genotypes as a function of agro-industrial characters. **Crop Science**, v. 61, n. 1, p. 443-455, 2021.
- NOGUEIRA, Rodrigo Botinelly. Green synthesis of silver nanoparticles using extract of seed skins of guaraná (*Paullinia cupana*). 2022.
- OLIVEIRA, Giselle Zayra da Silva de. Síntese verde de nanopartículas de prata utilizando extrato aquoso e metabólito secundário (quercetina) das folhas de *Pterodon emarginatus* (sucupira branca) direcionadas para aplicações biomédicas e agrícolas. 2018.
- OLIVEIRA, Giselle Zayra Silva et al. Synthesis of silver nanoparticles using aqueous extracts of *Pterodon emarginatus* leaves collected in the summer and winter seasons. **International Nano Letters**, v. 9, p. 109-117, 2019.
- OLIVEIRA, Paula Maria Correa de et al. Bioprospection for new larvicides against *Aedes aegypti* based on ethnoknowledge from the Amazonian Sao Sebastiao de Marimau riverside community. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 293, p. 115284, 2022.
- OLUWANIYI, Omolara O. et al. Biosynthesis of silver nanoparticles using aqueous leaf extract of *Thevetia peruviana* Juss and its antimicrobial activities. **Applied Nanoscience**, v. 6, n. 6, p. 903-912, 2016.
- OMBREDANE, Alicia Simalie. Síntese verde de nanopartículas de prata a partir de extrato aquoso do tubérculo de *Curcuma longa* associadas à quitosana e avaliação da atividade antitumoral *in vitro* em câncer de pele não melanoma (linhagem A431). 2016.

OSONGA, Francis J. et al. Synthesis and antibacterial characterization of sustainable nanosilver using naturally-derived macromolecules. **Science Of The Total Environment**, v. 563, p. 977-986, 2016.

OVAIS, Muhammad et al. Mechanisms underlying the anticancer applications of biosynthesized nanoparticles. In: **Biogenic Nanoparticles for Cancer Theranostics**. Elsevier, 2021. p. 229-248.

OVAIS, Muhammad et al. Role of plant phytochemicals and microbial enzymes in biosynthesis of metallic nanoparticles. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 102, p. 6799-6814, 2018.

PAL, Gaurav; RAI, Priya; PANDEY, Anjana. Green synthesis of nanoparticles: A greener approach for a cleaner future. In: **Green Synthesis, Characterization and Applications of Nanoparticles**. Elsevier, 2019. p. 1-26.

PAL, Sukdeb; TAK, Yu Kyung; SONG, Joon Myong. 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.

PANDEY, Pradeep Kumar et al. Anticancerous and antioxidant properties of fabricated silver nanoparticles involving bio-organic framework using medicinal plant *Blumea lacera*. **Chemical Papers**, p. 1-15, 2023.

PARAMESH, Chitrabanu Chikkanayakanahalli et al. Silver nanoparticles synthesized using saponin extract of *Simarouba glauca* oil seed meal as effective, recoverable and reusable catalyst for reduction of organic dyes. **Results in Surfaces and Interfaces**, v. 3, p. 100005, 2021.

PARK, Y. et al. Polysaccharides and phytochemicals: a natural reservoir for the green synthesis of gold and silver nanoparticles. **IET nanobiotechnology**, v. 5, n. 3, p. 69-78, 2011.

PARMAR, Ankush et al. Novel biogenic silver nanoparticles as invigorated catalytic and antibacterial tool: A cleaner approach towards environmental remediation and combating bacterial invasion. **Materials Chemistry and Physics**, v. 238, p. 121861, 2019.

PARMAR, Mrinalini; SANYAL, Mallika. Extensive study on plant mediated green synthesis of metal nanoparticles and their application for degradation of cationic and anionic dyes. **Environmental Nanotechnology, Monitoring & Management**, v. 17, p. 100624, 2022.

PARTHIBAN, Ezhumalai et al. Green synthesis of silver-nanoparticles from *Annona reticulata* leaves aqueous extract and its mosquito larvicidal and anti-microbial activity on human pathogens. **Biotechnology Reports**, v. 21, p. e00297, 2019.

PATHAK, Manish et al. Green synthesis of silver nanoformulation of *Scindapsus officinalis* as potent anticancer and predicted anticovid alternative: Exploration via experimental and computational methods. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, v. 35, p. 102072, 2021.

PATIL, Maheshkumar Prakash et al. *Sasa borealis* leaf extract-mediated green synthesis of silver-silver chloride nanoparticles and their antibacterial and anticancer activities. **New Journal of Chemistry**, v. 41, n. 3, p. 1363-1371, 2017.

PATIL, Maheshkumar Prakash et al. Synthesis of silver nanoparticles using aqueous extract of *Cuscuta japonica* seeds and their antibacterial and antioxidant activities. **Inorganic Chemistry Communications**, v. 134, p. 109035, 2021.

PATIL, Rahul B.; CHOUGALE, Ashok D. Analytical methods for the identification and characterization of silver nanoparticles: A brief review. **Materials Today: Proceedings**, v. 47, p. 5520-5532, 2021.

PATRA, Jayanta Kumar; DAS, Gitishree; SHIN, Han-Seung. Facile green biosynthesis of silver nanoparticles using *Pisum sativum* L. outer peel aqueous extract and its antidiabetic, cytotoxicity, antioxidant, and antibacterial activity. **International Journal of Nanomedicine**, p. 6679-6690, 2019.

PATRICK, Madison et al. Safety of guarana seed as a dietary ingredient: A review. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 67, n. 41, p. 11281-11287, 2019.

PEIXOTO, Herbenya et al. Anti-aging and antioxidant potential of *Paullinia cupana* var. *sorbilis*: Findings in *Caenorhabditis elegans* indicate a new utilization for roasted seeds of guarana. **Medicines**, v. 4, n. 3, p. 61, 2017.

PEREIRA, José CR. Cultura do guaranazeiro no Amazonas. 2005.

PEREIRA, Luciana et al. Metallic nanoparticles: microbial synthesis and unique properties for biotechnological applications, bioavailability and biotransformation. **Critical Reviews in Biotechnology**, v. 35, n. 1, p. 114-128, 2015.

PEREIRA, Luiz de Aquino et al. Flora da Usina São José, Igarassu, Pernambuco: Sapindaceae. **Rodriguésia**, v. 67, p. 1047-1059, 2016.

PEREIRA, Tatiane de Melo. Produção e modulação de características físico-químicas de nanopartículas de prata via síntese verde utilizando extratos aquosos de tecidos naturais e obtidos por propagação vegetativa a partir de diferentes espécies de Ipês. 2019.

PETRYAYEVA, Eleonora; KRULL, Ulrich J. Localized surface plasmon resonance: Nanostructures, bioassays and biosensing—A review. **Analytica Chimica Acta**, v. 706, n. 1, p. 8-24, 2011.

PIMPAN, Vimolvan; RITTHICHAJ, Thanawan. pH Effect on Characteristics and Ammonia Sensing of Silver Nanoparticles Synthesized in the Presence of Tannic Acid. **Key Engineering Materials**, v. 759, p. 98-101, 2018.

PINAFFI, Ana Clara da Costa et al. Insoluble-bound polyphenols released from guarana powder: Inhibition of alpha-glucosidase and proanthocyanidin profile. **Molecules**, v. 25, n. 3, p. 679, 2020.

PING, Yao et al. Green synthesis of silver nanoparticles using grape seed extract and their application for reductive catalysis of Direct Orange 26. **Journal of Industrial and Engineering Chemistry**, v. 58, p. 74-79, 2018.

PIRES, Janaína et al. Ensaio em microplaca de substâncias redutoras pelo método do Folin-Ciocalteu para extratos de algas. **Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo, São Paulo**, p. 1-5, 2017a.

PIRES, Janaína et al. Ensaio em microplaca do potencial antioxidante através do método de sequestro do radical livre DPPH para extratos de algas. **Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo**, v. 12, p. 1-6, 2017b.

POLJŠAK, Borut; RASPOR, Peter. The antioxidant and pro-oxidant activity of vitamin C and trolox *in vitro*: a comparative study. **Journal of Applied Toxicology: An International Journal**, v. 28, n. 2, p. 183-188, 2008.

POURMORTAZAVI, Seied Mahdi et al. Procedure optimization for green synthesis of silver nanoparticles by aqueous extract of *Eucalyptus oleosa*. **Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, v. 136, p. 1249-1254, 2015.

PRABULA, S. Surendradev et al. Synthesis of Silver Nanoparticles by Using *Cassia auriculata* Flower Extract and Their Photocatalytic Behavior. **Chemical Engineering & Technology**, v. 45, n. 11, p. 1919-1925, 2022.

PRAKASH, P. et al. Green synthesis of silver nanoparticles from leaf extract of *Mimusops elengi*, Linn. for enhanced antibacterial activity against multi drug resistant clinical isolates. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 108, p. 255-259, 2013.

PRZYGODZKA, Małgorzata et al. Comparison of methods for evaluation of the antioxidant capacity and phenolic compounds in common spices. **LWT-Food Science and Technology**, v. 58, n. 2, p. 321-326, 2014.

PUPE, Julia Moreira; SILVA, Luciano Paulino. Modulation of physico-chemical and biological properties of silver nanoparticles synthesized using aqueous extract of flamboyant (*Delonix regia* var. *flavida*, Fabaceae) seeds. **Journal of Cluster Science**, v. 32, n. 4, p. 1053-1060, 2021.

QUINTERO-QUIROZ, Catalina et al. Optimization of silver nanoparticle synthesis by chemical reduction and evaluation of its antimicrobial and toxic activity. **Biomaterials research**, v. 23, p. 1-15, 2019.

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

RAJ, Shani et al. Biogenic synthesis of AgNPs employing *Terminalia arjuna* leaf extract and its efficacy towards catalytic degradation of organic dyes. **Scientific reports**, v. 10, n. 1, p. 9616, 2020.

RAJASEKAR, Rajamanickam et al. Ecofriendly synthesis of silver nanoparticles using *Heterotheca subaxillaris* flower and its catalytic performance on reduction of methyl orange. **Biochemical Engineering Journal**, v. 187, p. 108447, 2022.

RAMOS, Jéssyca Christina Fortes. Síntese verde de nanopartículas de prata mediada por extrato da casca do *Anacardium microcarpum* Ducke: caracterização e atividade biológica. 2018.

RASTOGI, Lori; ARUNACHALAM, J. Green synthesis route for the size controlled synthesis of biocompatible gold nanoparticles using aqueous extract of garlic (*Allium sativum*). **Advanced Materials Letters**, v. 4, n. 7, p. 548-555, 2013.

RATHER, Muzamil Ahmad et al. Ecofriendly phytofabrication of silver nanoparticles using aqueous extract of *Cuphea carthagenensis* and their antioxidant potential and antibacterial activity against clinically important human pathogens. **Chemosphere**, v. 300, p. 134497, 2022.

RAVICHANDRAN, V. et al. Green synthesis, characterization, antibacterial, antioxidant and photocatalytic activity of *Parkia speciosa* leaves extract mediated silver nanoparticles. **Results in Physics**, v. 15, p. 102565, 2019.

- REHMAN, Iqra et al. Green Synthesis: The Antibacterial and Photocatalytic Potential of Silver Nanoparticles Using Extract of *Teucrium stocksianum*. **Nanomaterials**, v. 13, n. 8, p. 1343, 2023.
- REIDY, Bogumiła et al. Mechanisms of silver nanoparticle release, transformation and toxicity: a critical review of current knowledge and recommendations for future studies and applications. **Materials**, v. 6, n. 6, p. 2295-2350, 2013.
- RENGARAJAN, Sumathy et al. Green synthesis and characterization of silver nanoparticles with different solvent extracts of *Sesbania grandiflora* (L.) Poiret and assessment of their antibacterial and antioxidant potentials. **Biomass Conversion and Biorefinery**, p. 1-17, 2023.
- RIBEIRO, Tais de Cassia et al. Curcumin-Loaded Mesoporous Silica Nanoparticles Dispersed in Thermo-Responsive Hydrogel as Potential Alzheimer Disease Therapy. **Pharmaceutics**, v. 14, n. 9, p. 1976, 2022.
- RIZWANA, Humaira et al. Antimicrobial and antioxidant potential of the silver nanoparticles synthesized using aqueous extracts of coconut meat (*Cocos nucifera* L). **Scientific Reports**, v. 13, n. 1, p. 16270, 2023.
- RODDU, A. K. et al. Microstructural analysis of silver nanoparticles resulted through bioreduction using *Abelmoschus esculentus* leaf extract. In: **Journal of Physics: Conference Series**. IOP Publishing, 2019. p. 032002.
- RODRÍGUEZ-LEÓN, Ericka et al. Synthesis of silver nanoparticles using reducing agents obtained from natural sources (*Rumex hymenosepalus* extracts). **Nanoscale Research Letters**, v. 8, p. 1-9, 2013.
- ROGGIA, Isabel et al. Guarana: Stability-Indicating RP-HPLC method and safety profile using microglial cells. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 94, p. 103629, 2020.
- ROY, Anupam et al. Green synthesis of silver nanoparticles: biomolecule-nanoparticle organizations targeting antimicrobial activity. **RSC Advances**, v. 9, n. 5, p. 2673-2702, 2019.
- SADALAGE, Priyadarshani S. et al. Optimally biosynthesized, PEGylated gold nanoparticles functionalized with quercetin and camptothecin enhance potential anti-inflammatory, anti-cancer and anti-angiogenic activities. **Journal of Nanobiotechnology**, v. 19, n. 1, p. 1-17, 2021.
- SADEGHI, Babak; GHOLAMHOSEINPOOR, F. A study on the stability and green synthesis of silver nanoparticles using *Ziziphora tenuior* (Zt) extract at room temperature. **Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, v. 134, p. 310-315, 2015.
- SAHU, Nidhi et al. Synthesis of silver nanoparticles using flavonoids: hesperidin, naringin and diosmin, and their antibacterial effects and cytotoxicity. **International Nano Letters**, v. 6, p. 173-181, 2016.
- SAJID, Muhammad; PŁOTKA-WASYLKA, Justyna. Nanoparticles: Synthesis, characteristics, and applications in analytical and other sciences. **Microchemical Journal**, v. 154, p. 104623, 2020.
- SALAM, Hasna Abdul et al. Plants: green route for nanoparticle synthesis. **Int Res J Biol Sci**, v. 1, n. 5, p. 85-90, 2012.

- SALEH, Tawfik A. Nanomaterials: Classification, properties, and environmental toxicities. **Environmental Technology & Innovation**, v. 20, p. 101067, 2020.
- SALLES, Rita Cynara de Oliveira et al. Geographical origin of guarana seeds from untargeted UHPLC-MS and chemometrics analysis. **Food Chemistry**, v. 371, p. 131068, 2022.
- SALOMÃO-OLIVEIRA, Adele 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.
- SALVIONI, Lucia et al. Negatively charged silver nanoparticles with potent antibacterial activity and reduced toxicity for pharmaceutical preparations. **International Journal of Nanomedicine**, p. 2517-2530, 2017.
- SANA, Siva Sankar; DOGIPARTHI, Lakshman Kumar. Green synthesis of silver nanoparticles using *Givotia moluccana* leaf extract and evaluation of their antimicrobial activity. **Materials Letters**, v. 226, p. 47-51, 2018.
- SANTANA, Adina L.; MACEDO, Gabriela A. Health and technological aspects of methylxanthines and polyphenols from guarana: A review. **Journal of Functional Foods**, v. 47, p. 457-468, 2018.
- SANTOS, Franciney Souza; SARAIVA, Jaci Maria Bilhalva; ATROCH, André Luiz. Influência da precipitação pluvial na produtividade do guaraná no município de Maués, AM. **Agrometeoros**, v. 29, 2021.
- SAP-IAM, N. et al. UV irradiation-induced silver nanoparticles as mosquito larvicides. **Journal of Applied Sciences**, v. 10, n. 23, p. 3132-3136, 2010.
- SAREEN, S. J. et al. Larvicidal potential of biologically synthesised silver nanoparticles against *Aedes Albopictus*. **Research Journal of Recent Sciences**, v. 1, p. 52-56, 2012.
- SARKAR, Monaj Kumar et al. Potential anti-proliferative activity of AgNPs synthesized using *M. longifolia* in 4T1 cell line through ROS generation and cell membrane damage. **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology**, v. 186, p. 160-168, 2018.
- SATHISHKUMAR, Muthuswamy et al. *Cinnamon zeylanicum* bark extract and powder mediated green synthesis of nano-crystalline silver particles and its bactericidal activity. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 73, n. 2, p. 332-338, 2009.
- SATO, Tatiane Satie. **Síntese de nanopartículas de prata mediada por extrato aquoso e etanólico de folhas de Eugenia involucrata: caracterização**. 2022. Dissertação de Mestrado. Universidade Tecnológica Federal do Paraná.
- SCHALLER, Ulrich C.; KLAUSS, Volker. Is Credé's prophylaxis for ophthalmia neonatorum still valid?. *Bulletin of the World Health Organization*, v. 79, n. 3, p. 262-266, 2001.
- SCHIMPL, Flávia Camila et al. Guarana: revisiting a highly caffeinated plant from the Amazon. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 150, n. 1, p. 14-31, 2013.
- SCHIMPL, Flávia Camila et al. Molecular and biochemical characterization of caffeine synthase and purine alkaloid concentration in guarana fruit. **Phytochemistry**, v. 105, p. 25-36, 2014.
- SEIFIPOUR, Roya; NOZARI, Maryam; PISHKAR, Leila. 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.

SEKAR, Vanaraj et al. Ultra-sonication-enhanced green synthesis of silver nanoparticles using *Barleria buxifolia* leaf extract and their possible application. **Artificial Cells, Nanomedicine, and Biotechnology**, v. 50, n. 1, p. 177-187, 2022.

SEKU, Kondaiah et al. Synthesis of Frankincense gum stabilized AgNPs by microwave irradiation and their catalytic, antioxidant, and antibacterial properties. **Physica E: Low-dimensional Systems and Nanostructures**, v. 140, p. 115169, 2022.

SELVAM, Kandasamy et al. Eco-friendly biosynthesis and characterization of silver nanoparticles using *Tinospora cordifolia* (Thunb.) Miers and evaluate its antibacterial, antioxidant potential. **Journal of Radiation Research and Applied Sciences**, v. 10, n. 1, p. 6-12, 2017.

SHAIKH, W. A.; CHAKRABORTY, S.; ISLAM, R. U. Photocatalytic degradation of rhodamine B under UV irradiation using *Shorea robusta* leaf extract-mediated biosynthesized silver nanoparticles. **International Journal of Environmental Science and Technology**, v. 17, n. 4, p. 2059-2072, 2020.

SHANKAR, S. Shiv et al. Bioreduction of chloroaurate ions by geranium leaves and its endophytic fungus yields gold nanoparticles of different shapes. **Journal of Materials Chemistry**, v. 13, n. 7, p. 1822-1826, 2003.

SHARMA, Aarti; KUMAR, Sarita; TRIPATHI, Pushplata. A facile and rapid method for green synthesis of *Achyranthes aspera* stem extract-mediated silver nanocomposites with cidal potential against *Aedes aegypti* L. **Saudi journal of biological sciences**, v. 26, n. 4, p. 698-708, 2019.

SHERIN, Lubna et al. Facile green synthesis of silver nanoparticles using *Terminalia bellerica* kernel extract for catalytic reduction of anthropogenic water pollutants. **Colloid and Interface Science Communications**, v. 37, p. 100276, 2020.

SHIRZADI-AHODASHTI, Mina et al. Discovery of high antibacterial and catalytic activities against multi-drug resistant clinical bacteria and hazardous pollutants by biosynthesized of silver nanoparticles using *Stachys inflata* extract (AgNPs@SI). **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v. 617, p. 126383, 2021a.

SHIRZADI-AHODASHTI, Mina et al. Discovery of high antibacterial and catalytic activities of biosynthesized silver nanoparticles using *C. fruticosus* (CF-AgNPs) against multi-drug resistant clinical strains and hazardous pollutants. **Environmental Technology & Innovation**, v. 23, p. 101607, 2021b.

SHUKLA, Samiksha et al. Catalytic activity of silver nanoparticles synthesized using *Crinum asiaticum* (Sudarshan) leaf extract. **Materials Today: Proceedings**, v. 56, p. 3714-3720, 2022.

SI, Satyabrata; MANDAL, Tarun K. Tryptophan-based peptides to synthesize gold and silver nanoparticles: a mechanistic and kinetic study. **Chemistry—A European Journal**, v. 13, n. 11, p. 3160-3168, 2007.

SILA, Munyao Joshua et al. Biosynthesis of silver nanoparticles from *Eucalyptus corymbia* leaf extract at optimized conditions. **Nano Hybrids and Composites**, v. 25, p. 32-45, 2019.

- SILVA, Ana Carolina Batista et al. **A cadeia de valor do guaraná de Maués**. Manaus: IDESAM, 2018. 82p.
- SILVA, Ana Luísa G. et al. Methylene blue associated with maghemite nanoparticles has antitumor activity in breast and ovarian carcinoma cell lines. **Cancer Nanotechnology**, v. 12, n. 1, p. 11, 2021.
- SILVA, Heloísa Helena Garcia da et al. Larvicidal activity of tannins isolated of *Magonia pubescens* St. Hil. (Sapindaceae) against *Aedes aegypti* (Diptera, Culicidae). **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 37, n. 5, 2004.
- SILVA, Luciane Dias da. Síntese verde, caracterização e atividade biológica de nanopartículas de prata obtidas utilizando extratos de *Hancornia speciosa* Gomes-Apocynaceae (mangabeira). 2014.
- SILVA, Luciano Paulino; PEREIRA, Tatiane Melo; BONATTO, Cínthia Caetano. Frontiers and perspectives in the green synthesis of silver nanoparticles. In: **Green synthesis, characterization and applications of nanoparticles**. Elsevier, 2019. p. 137-164.
- SILVA, Marlucci P. et al. Production and characterization of solid lipid microparticles loaded with guaraná (*Paullinia cupana*) seed extract. **Food Research International**, v. 123, p. 144-152, 2019.
- SILVA, Marlucci Palazzolli et al. Co-encapsulation of guaraná extracts and probiotics increases probiotic survivability and simultaneously delivers bioactive compounds in simulated gastrointestinal fluids. **LWT**, v. 161, p. 113351, 2022.
- SILVA, Wilson Gomes da et al. Guaraná-*Paullinia cupana* (HBK): Estudo da oxidação das formas em pó e em bastões defumados. **Revista de Ciências Agroveterinárias**, v. 14, n. 2, p. 117-123, 2015.
- SILVEIRA, Ariane Pandolfo. Fitossíntese de nanopartículas de prata por *Ilex paraguariensis*: propriedades físico-químicas e bioatividades. 2019.
- SINGH, Ashwani Kumar et al. Biosynthesis of gold and silver nanoparticles by natural precursor clove and their functionalization with amine group. **Journal of Nanoparticle Research**, v. 12, p. 1667-1675, 2010.
- SINGH, Manjeet; SINHA, I.; MANDAL, R. K. Role of pH in the green synthesis of silver nanoparticles. **Materials Letters**, v. 63, n. 3-4, p. 425-427, 2009.
- SINGH, Priyanka et al. Green synthesis of gold and silver nanoparticles from *Cannabis sativa* (industrial hemp) and their capacity for biofilm inhibition. **International Journal of Nanomedicine**, v. 13, p. 3571-3591, 2018.
- SINGH, Richa et al. Synthesis, optimization, and characterization of silver nanoparticles from *Acinetobacter calcoaceticus* and their enhanced antibacterial activity when combined with antibiotics. **International Journal of Nanomedicine**, p. 4277-4290, 2013.
- SINGH, Surya P. et al. Silver nanoparticles synthesized using *Carica papaya* leaf extract (AgNPs-PLE) causes cell cycle arrest and apoptosis in human prostate (DU145) cancer cells. **Biological Trace Element Research**, v. 199, p. 1316-1331, 2021.
- SMITH, Nigel et al. Guarana's journey from regional tonic to aphrodisiac and global energy drink. **Evidence-based complementary and alternative medicine**, v. 7, p. 279-282, 2010.

- SOARES, Tânia et al. Size-dependent cytotoxicity of silver nanoparticles in human neutrophils assessed by multiple analytical approaches. **Life Sciences**, v. 145, p. 247-254, 2016.
- SOTO-ROBLES, C. A. et al. Study on the effect of the concentration of *Hibiscus sabdariffa* extract on the green synthesis of ZnO nanoparticles. **Results in Physics**, v. 15, p. 102807, 2019.
- SOUSA, Joyce Ellen de Almeida. Estudo da variação Metabolômica das folhas do guaraná (*Paullinia Cupana*) em resposta ao estresse biótico. 2016.
- SOUSA, Sandra A. et al. Determination of tannins and methylxanthines in powdered guarana (*Paullinia cupana* Kunth, Sapindaceae) by high performance liquid chromatography. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 20, p. 866-870, 2010.
- SOUZA, Rubens FV; GIOVANI, Wagner F. Antioxidant properties of complexes of flavonoids with metal ions. **Redox Report**, v. 9, n. 2, p. 97-104, 2004.
- SOWINSKA, Marta et al. Molecular antioxidant properties and *in vitro* cell toxicity of the p-aminobenzoic acid (PABA) functionalized peptide dendrimers. **Biomolecules**, v. 9, n. 3, p. 89, 2019.
- SREĆKOVIĆ, Nikola Z. et al. Biosynthesis of Silver Nanoparticles Using *Salvia pratensis* L. Aerial Part and Root Extracts: Bioactivity, Biocompatibility, and Catalytic Potential. **Molecules**, v. 28, n. 3, p. 1387, 2023.
- SRIKAR, Sista Kameswara et al. Green synthesis of silver nanoparticles: a review. **Green and Sustainable Chemistry**, v. 6, n. 1, p. 34-56, 2016.
- STARK, Gisele et al. Estudo de marcadores químicos de guaraná (*Paullinia cupana*) por CLAE. 2007.
- STOEHR, Linda C. et al. Shape matters: effects of silver nanospheres and wires on human alveolar epithelial cells. **Particle and Fibre Toxicology**, v. 8, p. 1-15, 2011.
- SUGIMOTO, Naotoshi et al. Theobromine, the primary methylxanthine found in *Theobroma cacao*, prevents malignant glioblastoma proliferation by negatively regulating phosphodiesterase-4, extracellular signal-regulated kinase, Akt/mammalian target of rapamycin kinase, and nuclear factor-kappa B. **Nutrition and Cancer**, v. 66, n. 3, p. 419-423, 2014.
- SUNITA, Patil; PALANISWAMY, Muthusamy. Effect of Extract Concentration and Ageing on Optical Properties of Biological Silver Nanoparticles. **International Journal of Pharma and Bio Sciences**, v. 8, p. 686-690, 2017.
- SURESH, Udaiyan et al. Tackling the growing threat of dengue: *Phyllanthus niruri*-mediated synthesis of silver nanoparticles and their mosquitocidal properties against the dengue vector *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). **Parasitology Research**, v. 114, p. 1551-1562, 2015.
- SURIYAKALA, Gunasekaran et al. Phytosynthesis of silver nanoparticles from *Jatropha integerrima* Jacq. flower extract and their possible applications as antibacterial and antioxidant agent. **Saudi Journal of Biological Sciences**, v. 29, n. 2, p. 680-688, 2022.
- SWAMY, Chikkanna; NARGUND, V. B. Sunlight induced mediated silver nanoparticles from seeds of *Thevetia peruviana* L., characterization and their antifungal

efficacy against *Curvularia lunata* (Wakker) Boedijn. **International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences**, v. 6, n. 11, p. 1008-1013, 2017.

TAMILSELVI, N. et al. Analysis of total phenols, total tannins and screening of phytocomponents in *Indigofera aspalathoides* (Shivanar Vembu) Vahl EX DC. **Journal of Chemical and Pharmaceutical Research**, v. 4, n. 6, p. 3259-3262, 2012.

TAMULY, Chandan et al. Biosynthesis of Ag nanoparticles using pedicellamide and its photocatalytic activity: an eco-friendly approach. **Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, v. 132, p. 687-691, 2014.

TERENTEVA, E. A. et al. Formation of plasmonic silver nanoparticles by flavonoid reduction: A comparative study and application for determination of these substances. **Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, v. 151, p. 89-95, 2015.

TFOUNI, Sílvia Amélia Verdiani et al. Contribution of guaraná powder (*Paullinia cupana*) as a source of caffeine in the diet. **Revista de Nutrição**, v. 20, p. 63-68, 2007.

THANH, Nguyen Chi et al. Silver nanoparticles (AgNPs) fabricating potential of aqueous shoot extract of *Aristolochia bracteolata* and assessed their antioxidant efficiency. **Environmental Research**, v. 208, p. 112683, 2022.

TORMENA, Renata Pascoal Illanes 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, Elizabeth AFS 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.

TORRES, Priscila Bezerra et al. Ensaio do potencial antioxidante de extratos de algas através do sequestro do ABTS+ em microplaca. **Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo**, p. 1-4, 2017.

TORTELLA, G. R. et al. Silver nanoparticles: Toxicity in model organisms as an overview of its hazard for human health and the environment. **Journal of hazardous materials**, v. 390, p. 121974, 2020.

TRIEU, Quoc-An et al. Photocatalytic degradation of methylene blue and antibacterial activity of silver nanoparticles synthesized from *Camellia sinensis* leaf extract. **Journal of Experimental Nanoscience**, v. 18, n. 1, p. 2225759, 2023.

ULLAH, Ikram et al. Green-synthesized silver nanoparticles induced apoptotic cell death in MCF-7 breast cancer cells by generating reactive oxygen species and activating caspase 3 and 9 enzyme activities. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, v. 2020, 2020.

ULLAH, Irfan et al. Facile fabrication of Ag nanoparticles: An advanced material for antioxidant, infectious therapy and photocatalytic applications. **Inorganic Chemistry Communications**, v. 141, p. 109539, 2022.

URNUKHSAIKHAN, Enerelt et al. Antibacterial activity and characteristics of silver nanoparticles biosynthesized from *Carduus crispus*. **Scientific Reports**, v. 11, n. 1, p. 21047, 2021.

- VADAKKAN, Kayeen et al. Novel advancements in the sustainable green synthesis approach of silver nanoparticles (AgNPs) for antibacterial therapeutic applications. **Coordination Chemistry Reviews**, v. 499, p. 215528, 2024.
- VALKO, Marian et al. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. **The International Journal of Biochemistry & Cell Biology**, v. 39, n. 1, p. 44-84, 2007.
- VALOTTO, Cleyde Ferreira Barreto et al. Alterações morfo-histológicas em larvas de *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762) (Diptera, Culicidae) causadas pelo tanino catéquico isolado da planta do cerrado *Magonia pubescens* (Sapindaceae). 2010.
- VANDARKUZHALI, S. Anbu Anjugam et al. *Arachis hypogaea* derived activated carbon/Pt catalyst: reduction of organic dyes. **Surfaces and Interfaces**, v. 13, p. 101-111, 2018.
- VANLALVENI, C. et al. Green synthesis of silver nanoparticles using *Nostoc linckia* and its antimicrobial activity: a novel biological approach. **BioNanoScience**, v. 8, n. 2, p. 624-631, 2018.
- VARGAS, Luiz Henrique Galli et al. Metabolomics analysis of oil palm (*Elaeis guineensis*) leaf: evaluation of sample preparation steps using UHPLC-MS/MS. **Metabolomics**, v. 12, n. 10, p. 1-12, 2016.
- VASCONCELOS, Ilomara Machado. Obtenção de nanopartículas de prata utilizando açúcar mascavo: um estudo da influência das condições de síntese. 2021.
- VEERAMANI, S. et al. Silver nanoparticles—Green synthesis with Aq. Extract of stems *Ipomoea Pes-Caprae*, characterization, antimicrobial and anti-cancer potential. **International Journal of Medical Nano Research**, v. 5, p. 024, 2018.
- VELMURUGAN, Palanivel et al. Green synthesis of silver and gold nanoparticles using *Zingiber officinale* root extract and antibacterial activity of silver nanoparticles against food pathogens. **Bioprocess and Biosystems Engineering**, v. 37, n. 10, p. 1935-1943, 2014.
- VERMA, Aparajita; MEHATA, Mohan Singh. Controllable synthesis of silver nanoparticles using Neem leaves and their antimicrobial activity. **Journal of Radiation Research and Applied Sciences**, v. 9, n. 1, p. 109-115, 2016.
- VIDHU, V. K.; PHILIP, Daizy. Catalytic degradation of organic dyes using biosynthesized silver nanoparticles. **Micron**, v. 56, p. 54-62, 2014.
- VIJAYAN, Remya; JOSEPH, Siby; MATHEW, Beena. Anticancer, antimicrobial, antioxidant, and catalytic activities of green-synthesized silver and gold nanoparticles using *Bauhinia purpurea* leaf extract. **Bioprocess and Biosystems Engineering**, v. 42, p. 305-319, 2019.
- VIJAYARAGHAVAN, Kuppusamy; ASHOKKUMAR, Thirunavukkarasu. Plant-mediated biosynthesis of metallic nanoparticles: A review of literature, factors affecting synthesis, characterization techniques and applications. **Journal of Environmental Chemical Engineering**, v. 5, n. 5, p. 4866-4883, 2017.
- WANG, Wenxing et al. One-step synthesis of biocompatible gold nanoparticles using gallic acid in the presence of poly-(N-vinyl-2-pyrrolidone). **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v. 301, n. 1-3, p. 73-79, 2007.

WILLIAN, Nancy et al. Bio-friendly synthesis of silver nanoparticles using mangrove *Rhizophora stylosa* leaf aqueous extract and its antibacterial and antioxidant activity. **Rasayan Journal of Chemistry**, v. 13, n. 3, p. 1478-1485, 2020.

WORLD HEALTH ORGANIZATION et al. **Guidelines for laboratory and field testing of mosquito larvicides**. World Health Organization, 2005.

WUNDER, Stefanie et al. Kinetic analysis of catalytic reduction of 4-nitrophenol by metallic nanoparticles immobilized in spherical polyelectrolyte brushes. **The Journal of Physical Chemistry C**, v. 114, n. 19, p. 8814-8820, 2010.

YAMAGUTI-SASAKI, Elza et al. Antioxidant Capacity and *In Vitro* Prevention of Dental Plaque Formation by Extracts and Condensed Tannins of *Paullinia cupana*. **Molecules**, v. 12, n. 8, p. 1950-1963, 2007.

YAMANAKA, Mikihiro; HARA, Keita; KUDO, Jun. Bactericidal actions of a silver ion solution on *Escherichia coli*, studied by energy-filtering transmission electron microscopy and proteomic analysis. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 71, n. 11, p. 7589-7593, 2005.

YANG, Ning; LI, Wei-Hong. Mango peel extract mediated novel route for synthesis of silver nanoparticles and antibacterial application of silver nanoparticles loaded onto non-woven fabrics. **Industrial Crops and Products**, v. 48, p. 81-88, 2013.

YARRAPPAGAARI, Suresh et al. Eco-friendly synthesis of silver nanoparticles from the whole plant of *Cleome viscosa* and evaluation of their characterization, antibacterial, antioxidant and antidiabetic properties. **Saudi Journal of Biological Sciences**, v. 27, n. 12, p. 3601-3614, 2020.

YASSIN, Mohamed Taha et al. Facile Green Synthesis of Zinc Oxide Nanoparticles with Potential Synergistic Activity with Common Antifungal Agents against Multidrug-Resistant Candidal Strains. **Crystals**, v. 12, n. 6, p. 774, 2022.

YILMAZ, Yusuf; TOLEDO, Romeo T. Oxygen radical absorbance capacities of grape/wine industry byproducts and effect of solvent type on extraction of grape seed polyphenols. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 19, n. 1, p. 41-48, 2006.

YIN, Iris Xiaoxue et al. The antibacterial mechanism of silver nanoparticles and its application in dentistry. **International Journal of Nanomedicine**, v. 15, p. 2555, 2020.

YONEKURA, Lina et al. Bioavailability of catechins from guaraná (*Paullinia cupana*) and its effect on antioxidant enzymes and other oxidative stress markers in healthy human subjects. **Food & Function**, v. 7, n. 7, p. 2970-2978, 2016.

YUAN, Chun-Gang et al. Green synthesis of silver nanoparticles using *Chenopodium aristatum* L. stem extract and their catalytic/antibacterial activities. **Journal of Cluster Science**, v. 28, p. 1319-1333, 2017.

YUGAY, Yulia A. et al. Biosynthesis of Functional Silver Nanoparticles Using Callus and Hairy Root Cultures of *Aristolochia manshuriensis*. **Journal of Functional Biomaterials**, v. 14, n. 9, p. 451, 2023.

XIU, Zong-Ming; MA, Jie; ALVAREZ, Pedro JJ. Differential effect of common ligands and molecular oxygen on antimicrobial activity of silver nanoparticles *versus* silver ions. **Environmental Science & Technology**, v. 45, n. 20, p. 9003-9008, 2011.

ZAYED, M. F. et al. Controlled Synthesis, Spectral Studies, and Catalytic Activity of Silver and Gold Nanoparticles Biosynthesized Using *Ficus sycomorus* Leaf Extract. **Journal of Applied Spectroscopy**, v. 89, n. 2, p. 381-390, 2022.

ZAYED, Mervat F. et al. *Ficus retusa*-stabilized gold and silver nanoparticles: controlled synthesis, spectroscopic characterization, and sensing properties. **Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, v. 214, p. 496-512, 2019.

ZAYED, Mervat F. et al. *Ziziphus spina-christi* based bio-synthesis of Ag nanoparticles. **Journal of Industrial and Engineering Chemistry**, v. 23, p. 50-56, 2015.

ZHANG, Hua; TSAO, Rong. Dietary polyphenols, oxidative stress and antioxidant and anti-inflammatory effects. **Current Opinion in Food Science**, v. 8, p. 33-42, 2016.

ZHANG, Huanjun; LI, Xinyong; CHEN, Guohua. Ionic liquid-facilitated synthesis and catalytic activity of highly dispersed Ag nanoclusters supported on TiO₂. **Journal of Materials Chemistry**, v. 19, n. 43, p. 8223-8231, 2009.

ZHANG, Huiling et al. Comparison of the phytotoxicity between chemically and green synthesized silver nanoparticles. **Science of The Total Environment**, v. 752, p. 142264, 2021.

ZHANG, Na et al. Silver nanoparticles: From *in vitro* green synthesis to *in vivo* biological effects in plants. **Advanced Agrochem**, 2023.

ZUHROTUN, Ade; OKTAVIANI, Dede Jihan; HASANAH, Aliya Nur. Biosynthesis of Gold and Silver Nanoparticles Using Phytochemical Compounds. **Molecules**, v. 28, n. 7, p. 3240, 2023.

APÊNDICES

Apêndice 1. Certidão de cadastro de acesso ao patrimônio genético ou conhecimento tradicional associado no Conselho de Gestão do Patrimônio Genético (CGEN).



Ministério do Meio Ambiente
CONSELHO DE GESTÃO DO PATRIMÔNIO GENÉTICO
SISTEMA NACIONAL DE GESTÃO DO PATRIMÔNIO GENÉTICO E DO CONHECIMENTO TRADICIONAL ASSOCIADO

Certidão
Cadastro nº A5C4D66

Declaramos, nos termos do art. 41 do Decreto nº 8.772/2016, que o cadastro de acesso ao patrimônio genético ou conhecimento tradicional associado, abaixo identificado e resumido, no Sistema Nacional de Gestão do Patrimônio Genético e do Conhecimento Tradicional Associado foi submetido ao procedimento administrativo de verificação e não foi objeto de requerimentos admitidos de verificação de indícios de irregularidades ou, caso tenha sido, o requerimento de verificação não foi acatado pelo CGen.

Número do cadastro: **A5C4D66**
 Usuário: **Alan Kelbis Oliveira Lima**
 CPF/CNPJ:
 Objeto do Acesso: **Patrimônio Genético/CTA**
 Finalidade do Acesso: **Pesquisa e Desenvolvimento Tecnológico**

Espécie

Paullinia cupana
Guaraná

Fonte do CTA

CTA de origem identificável diretamente com provedor

Provedor

Lais Bentes de Almeida

Título da Atividade: **Fitossíntese de nanopartículas de prata utilizando extrato aquoso de partes vegetais de guaraná (Paullinia cupana): estudo dos parâmetros reacionais, caracterização físico-química e atividades biológicas in vitro e in vivo**

Equipe

Alan Kelbis Oliveira Lima	INDEPENDENTE
Mônica Pereira Garcia	Universidade de Brasília
Clenilson Martins Rodrigues	Embrapa Agroenergia
José Antônio de Aquino Ribeiro	Embrapa Agroenergia

Data do Cadastro: **26/06/2020 21:36:54**
 Situação do Cadastro: **Concluído**

Conselho de Gestão do Patrimônio Genético
Situação cadastral conforme consulta ao SisGen em **16:21** de **05/05/2021**.



SISTEMA NACIONAL DE GESTÃO
DO PATRIMÔNIO GENÉTICO
E DO CONHECIMENTO TRADICIONAL
ASSOCIADO - **SISGEN**

Apêndice 2. Exsicata da planta de guaraná com as folhas, flores e frutos.
Em destaque, as informações botânicas da planta, número de tombo, localização geográfica e características do local de coleta.



HSTM Herbário HSTM - Univ. Federal do Oeste do Pará

HSTM 14711

SAPINDACEAE

Paulinia cupana Kunth

Brasil, Amazonas, Maués, Sítio Puitanga. Árvore localizada próximo ao barracão de beneficiamento do guaraná no Sítio Puitanga, Estrada Maués Mini km 4, Maués-AM. 3°22'7" S, 57°41'27" W.

O cultivo do guaraná acontece em área de solo preparado em consórcio com outras culturas, no caso, abacaxi.

Área de cultivo a pleno sol. Coleta de frutos imaturos (verdes) e em processo de maturação (vermelho) e flores abertas e em formação

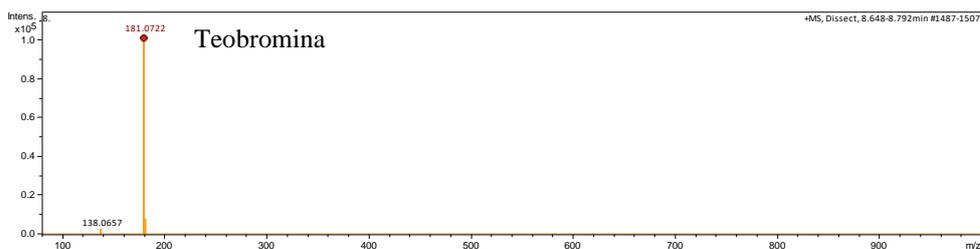
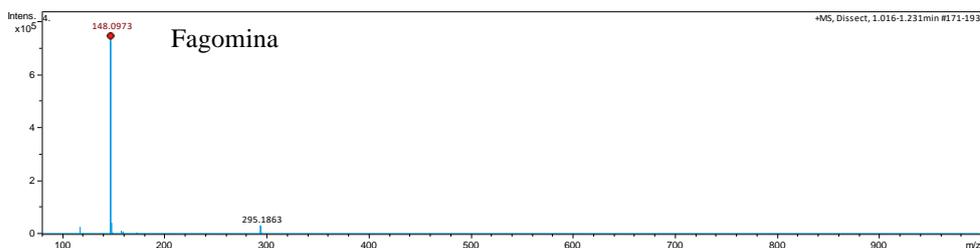
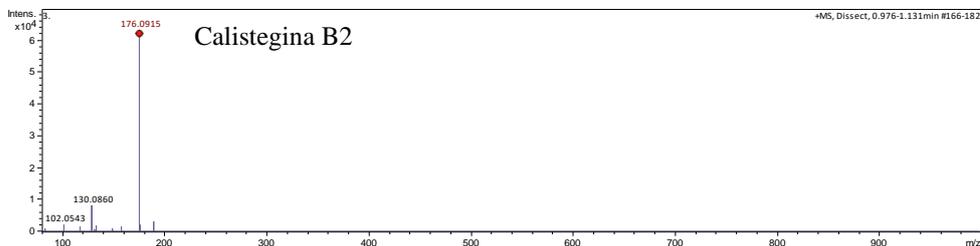
01-IX-2021

Almeida, Luis Bertes de, 1

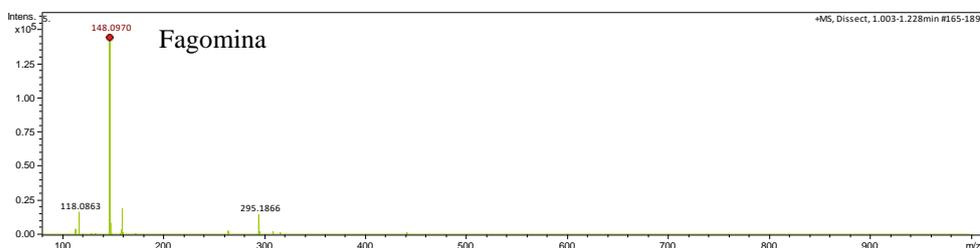
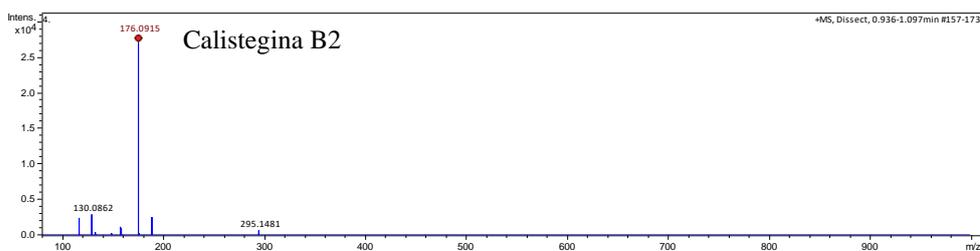
HSTM014711

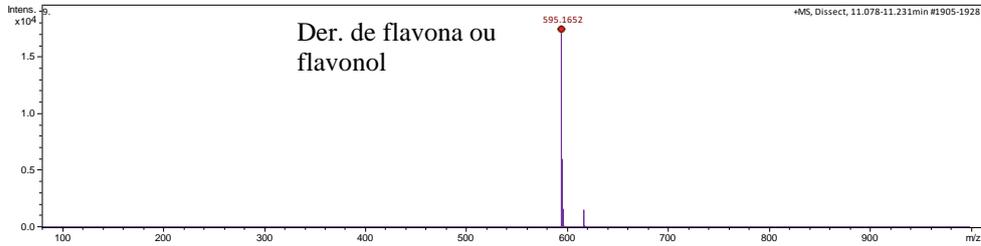
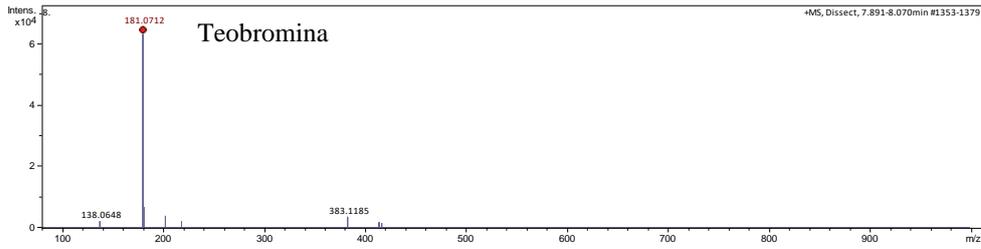
Apêndice 3. Espectros de massas e vias de fragmentação propostas para os compostos obtidos pelo modo positivo de ionização e identificados nos extratos aquosos de folíolos e flores de *Paullinia cupana*.

EA-A-PS

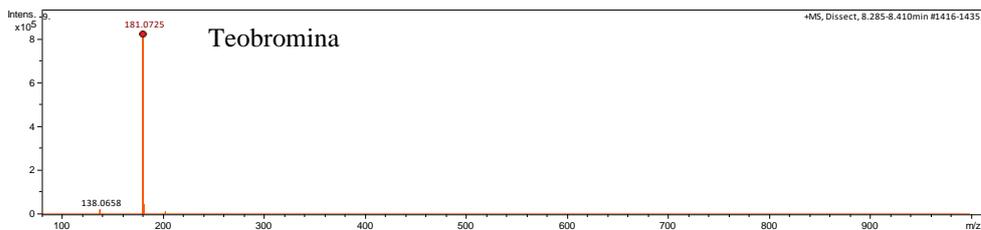
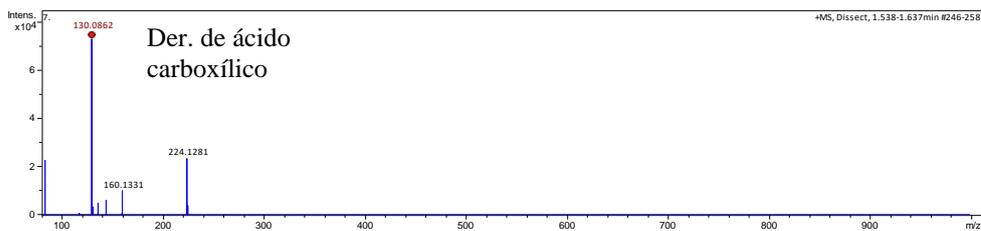
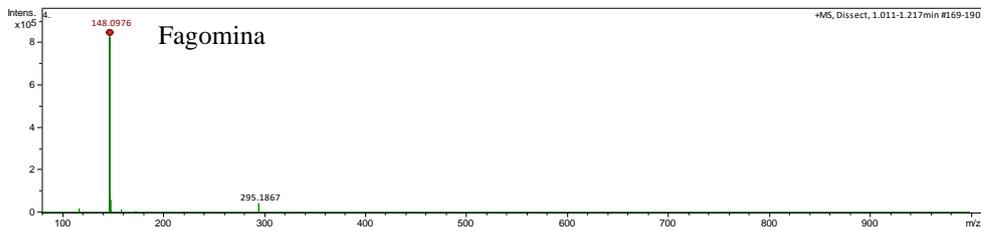
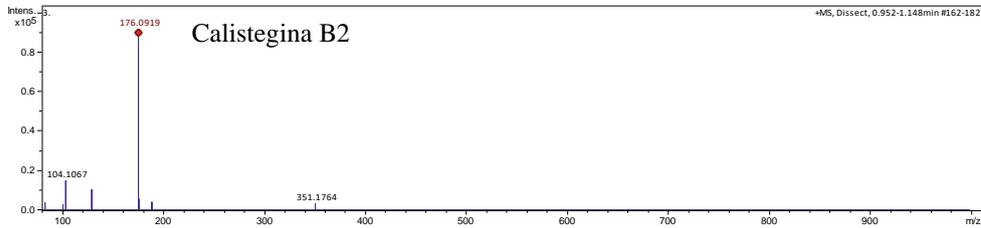


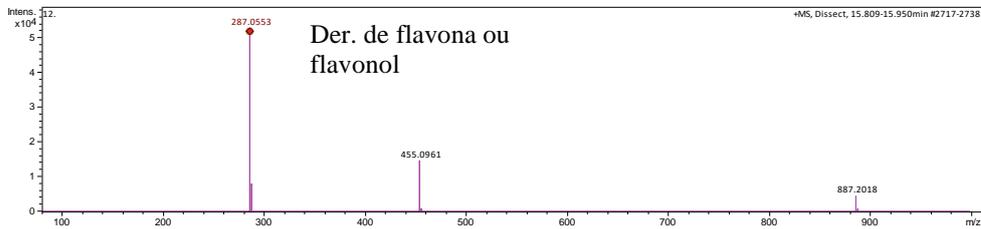
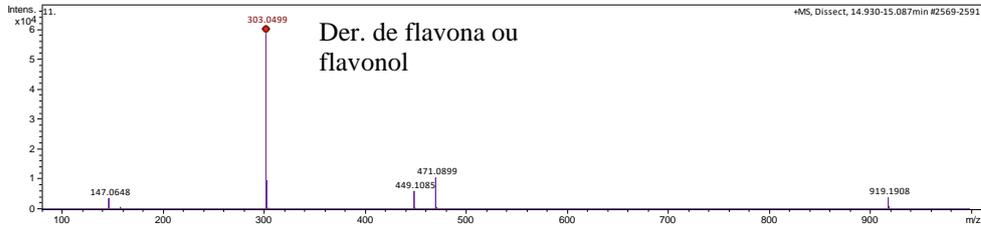
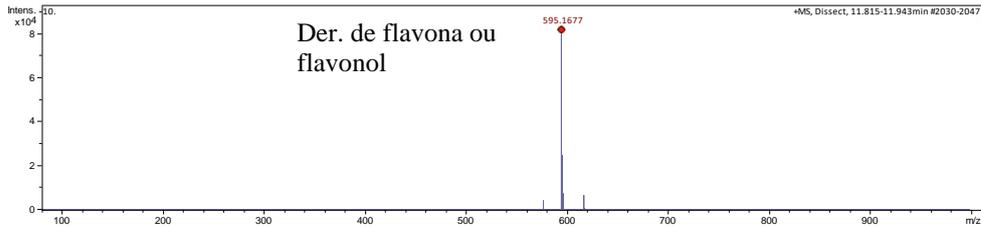
EA-A-PC



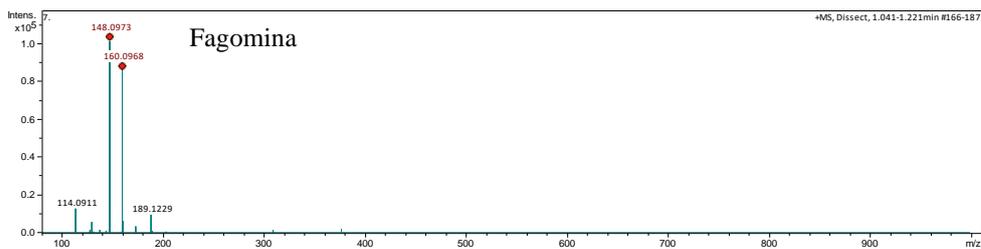
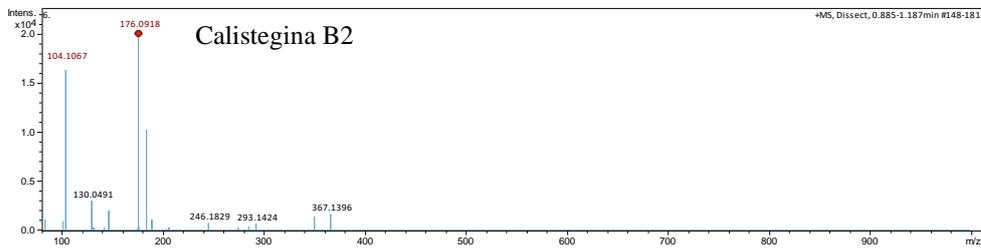


EA-D-PS

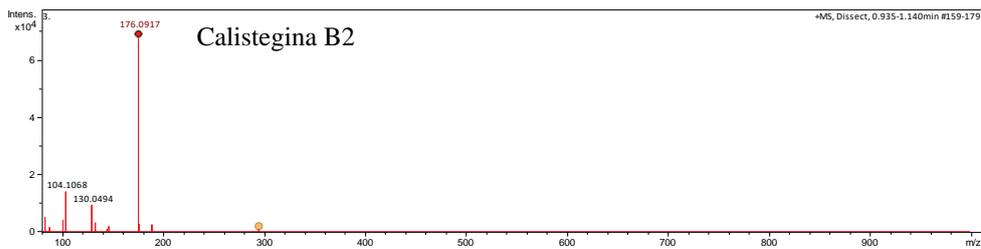


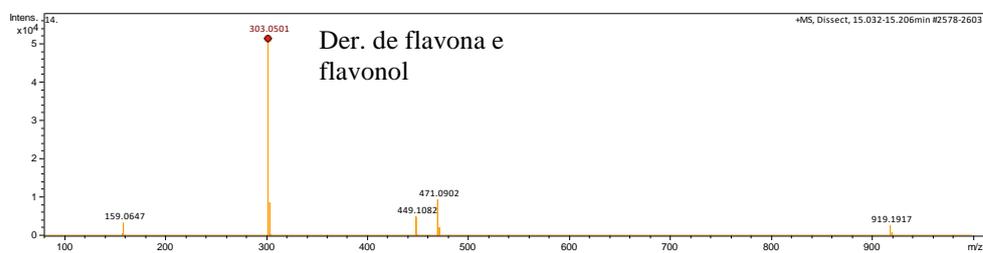
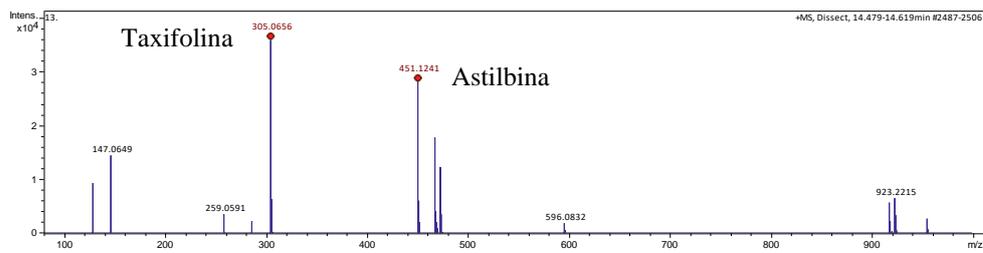
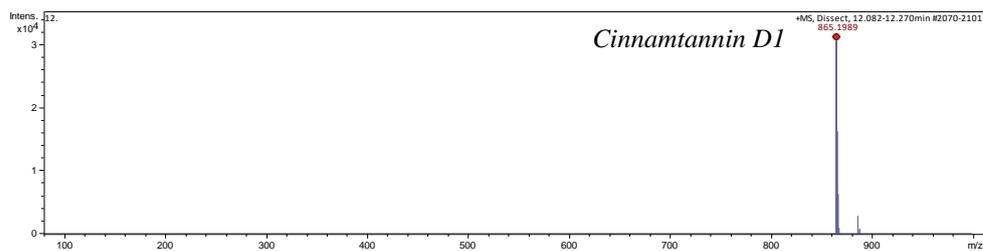
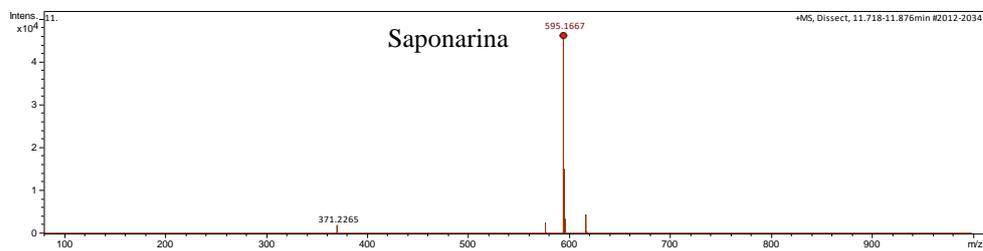
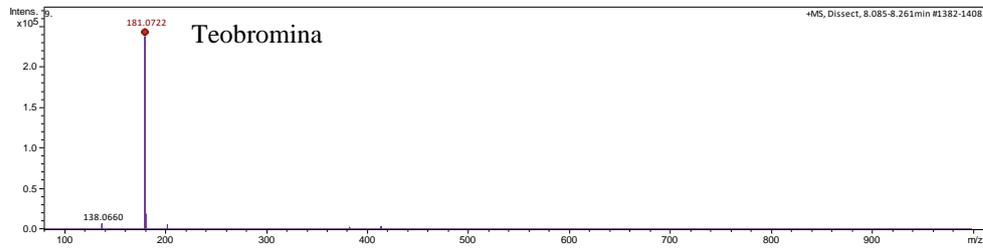
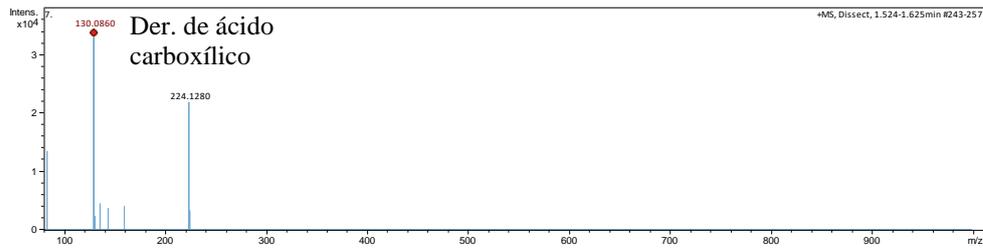


EA-D-PC

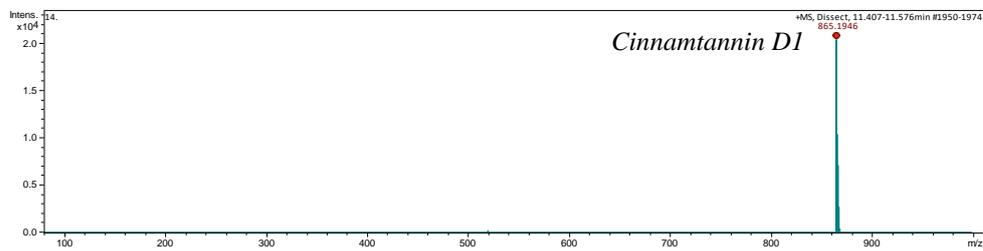
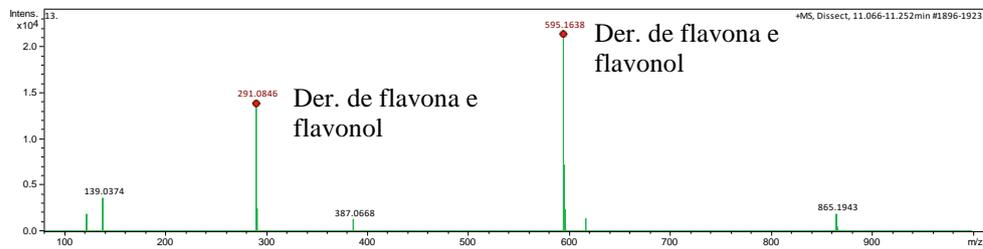
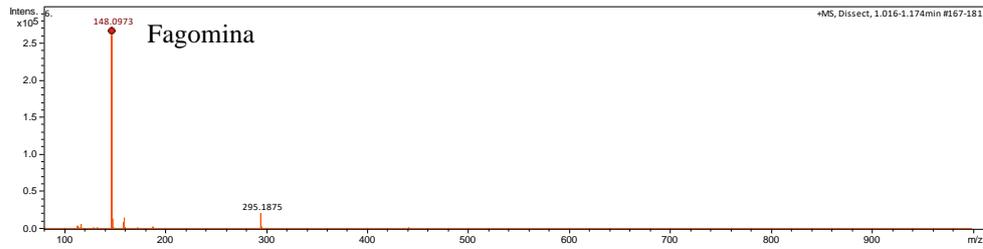
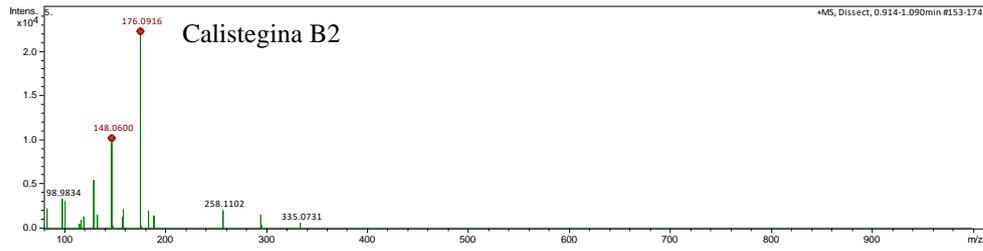


EA-I-PS

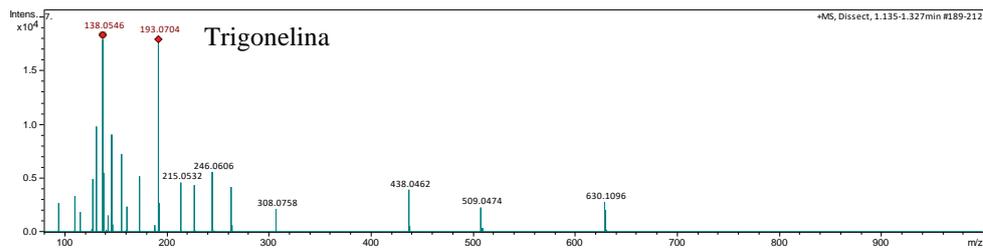
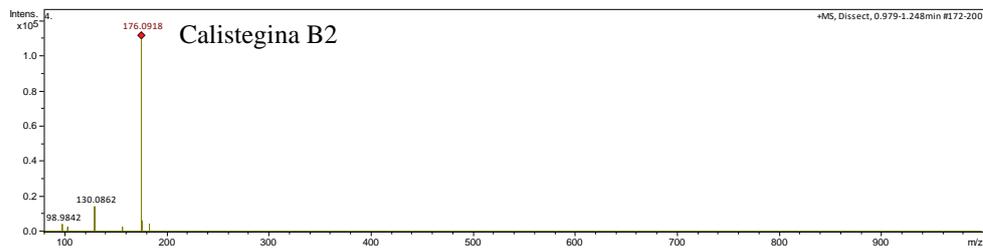


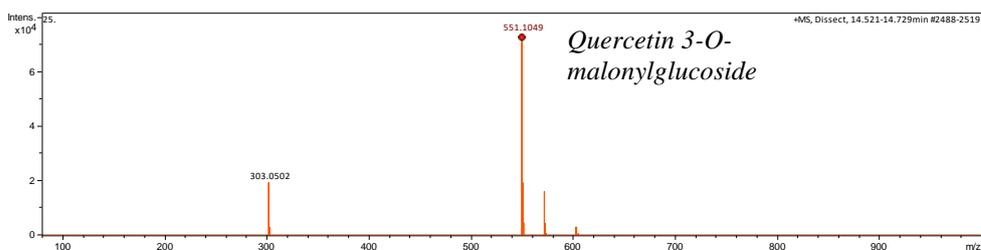
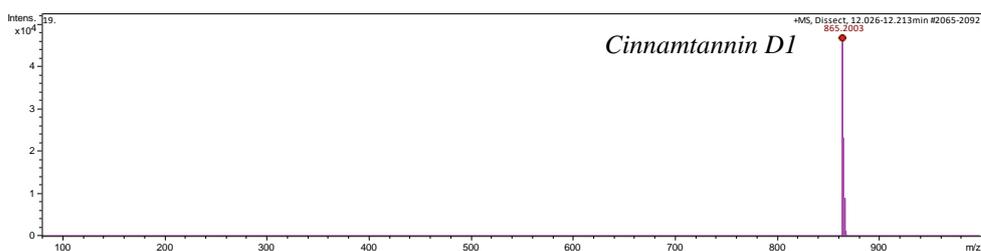
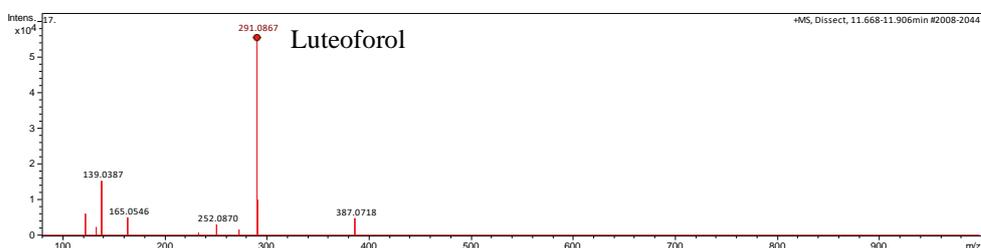
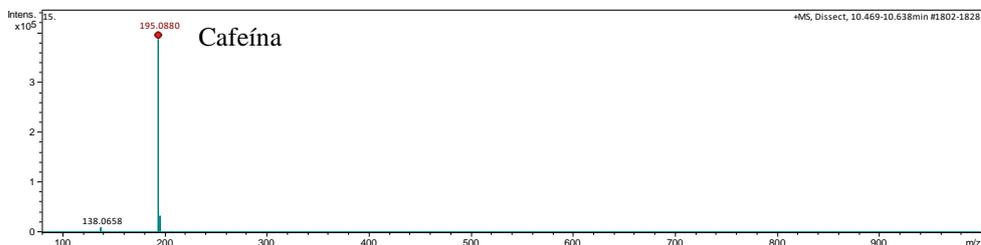
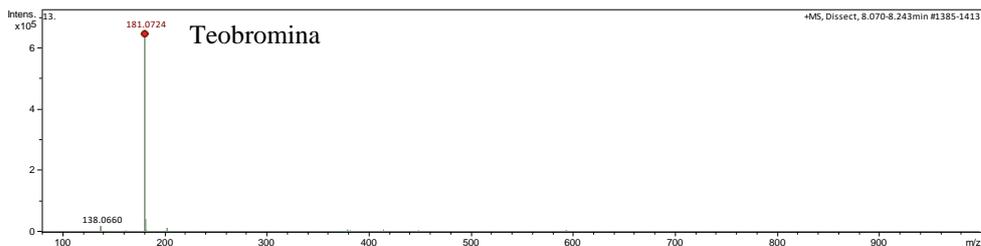


EA-I-PC



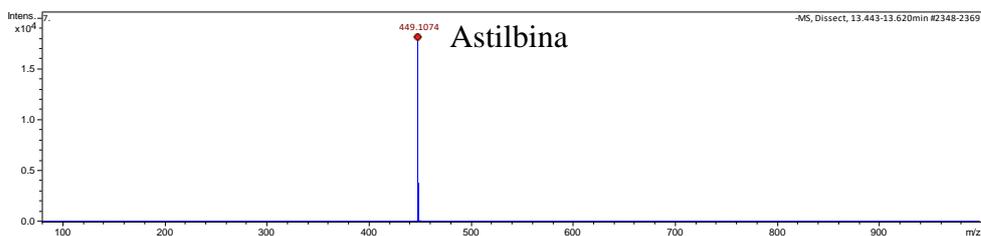
EA-D-FL

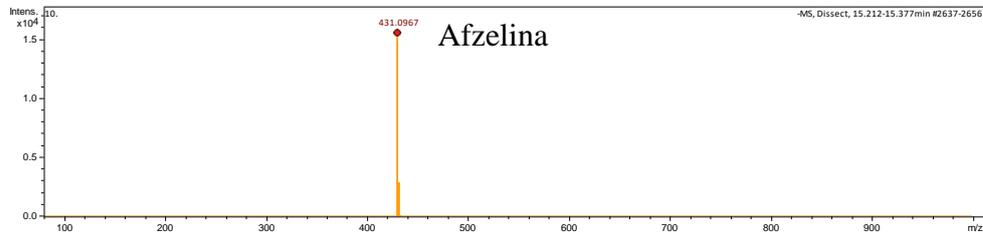
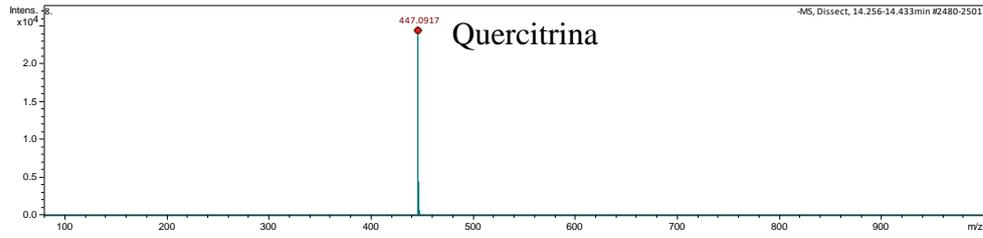




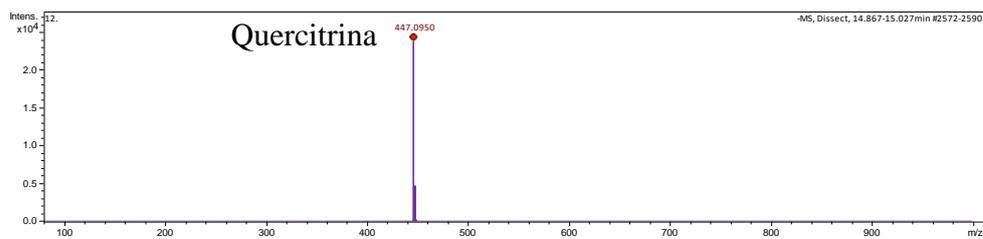
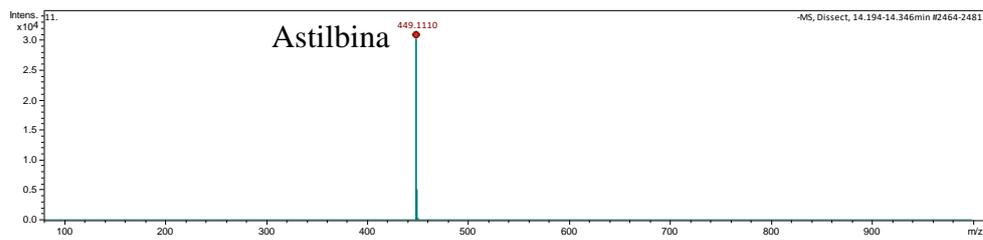
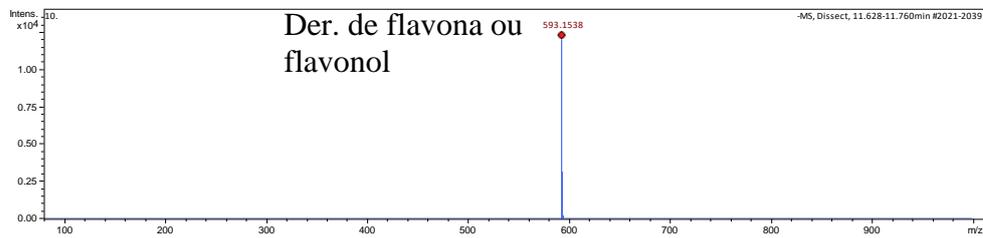
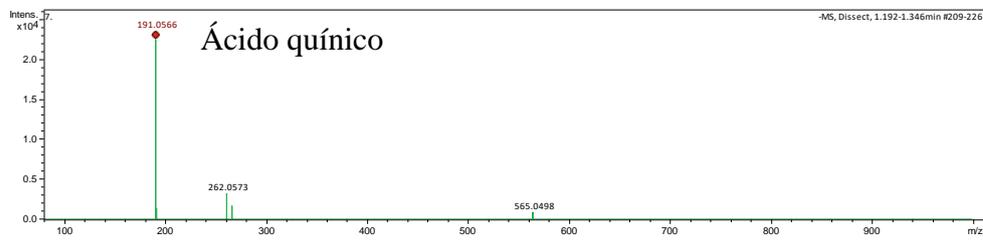
Apêndice 4. Espectros de massas e vias de fragmentação propostas para os compostos obtidos pelo modo negativo de ionização e identificados nos extratos aquosos de fôfolos e flores de *Paullinia cupana*.

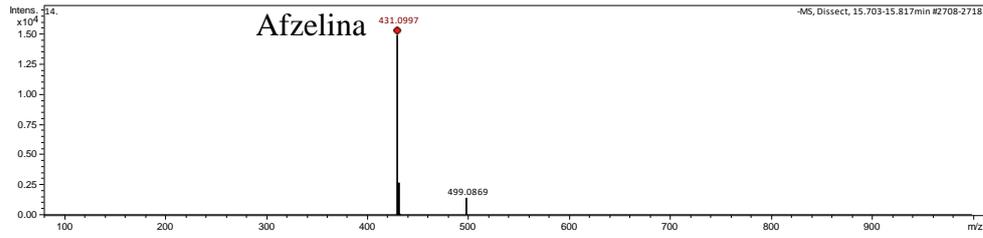
EA-A-PC



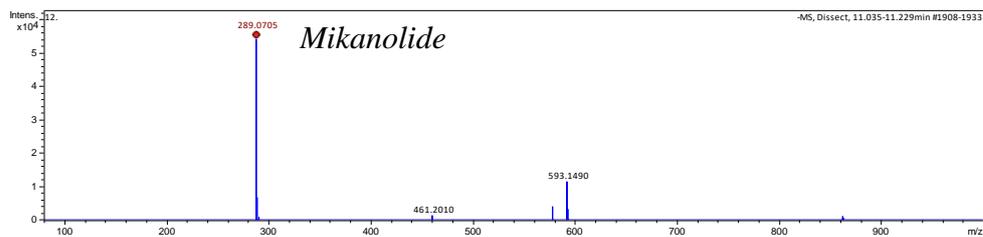
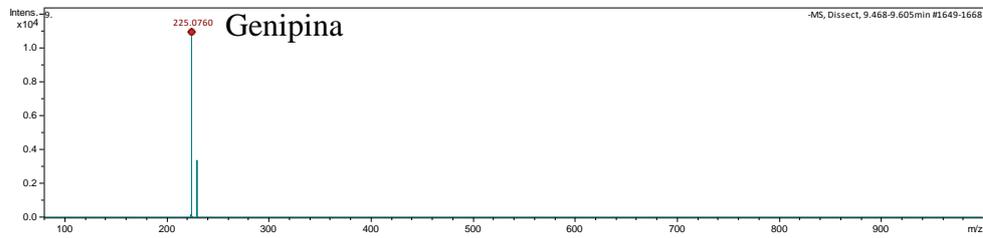
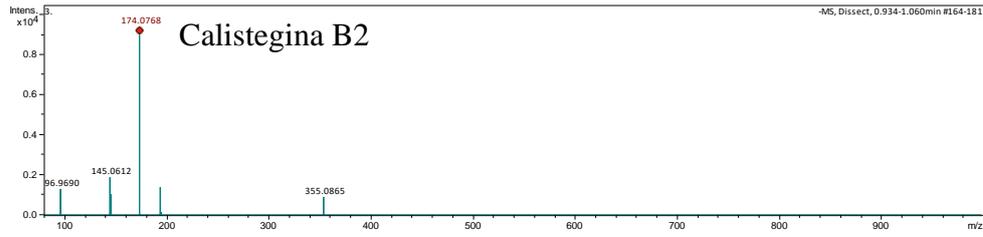


EA-D-PS

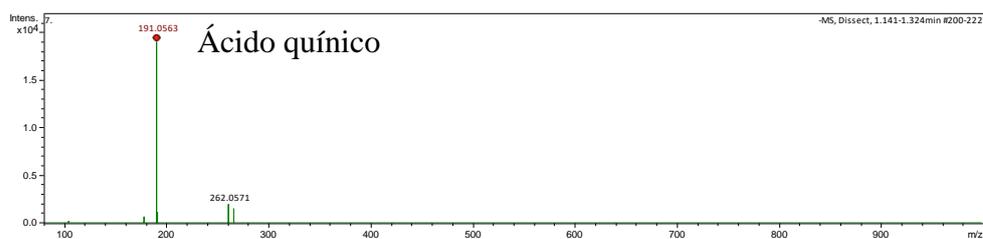


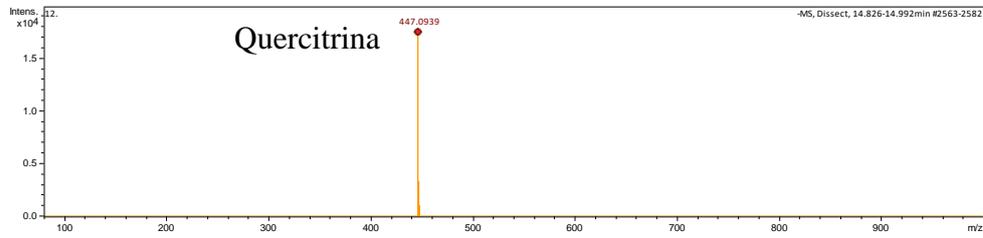
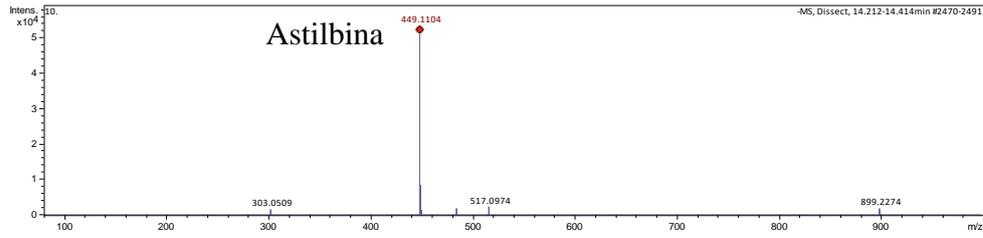


EA-D-PC

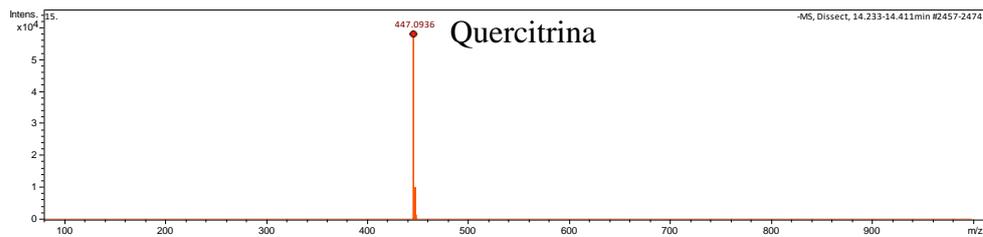
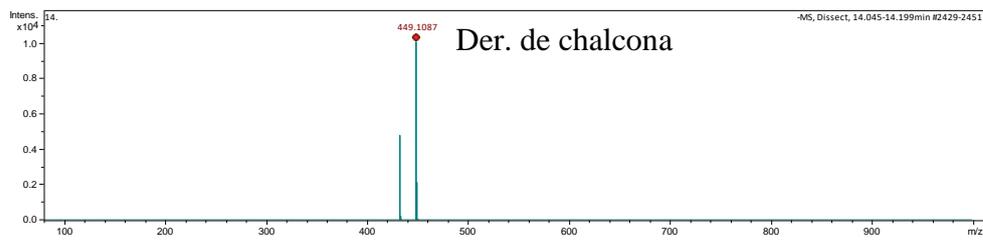
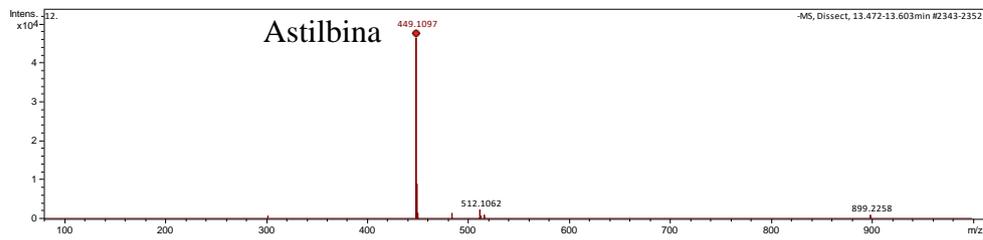
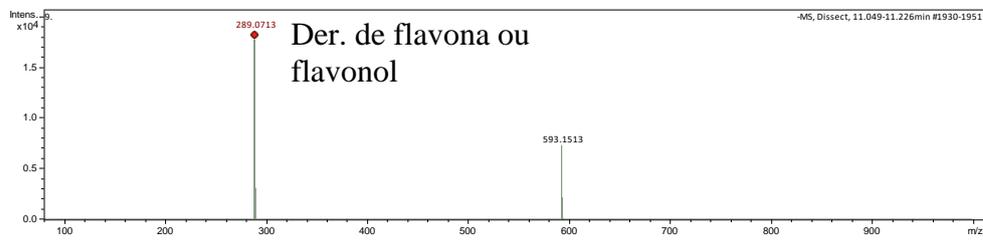


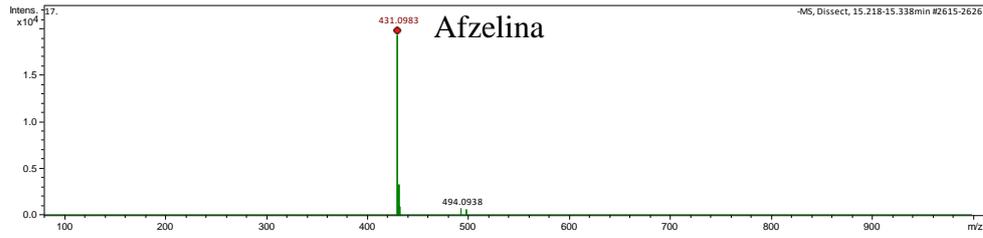
EA-I-PS



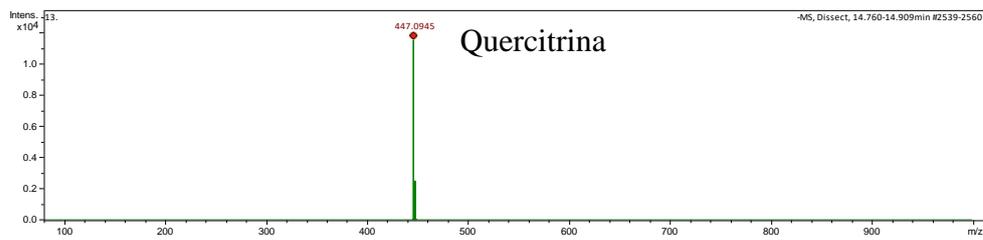
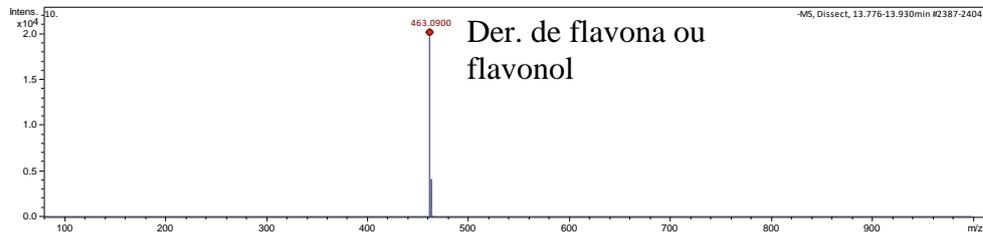
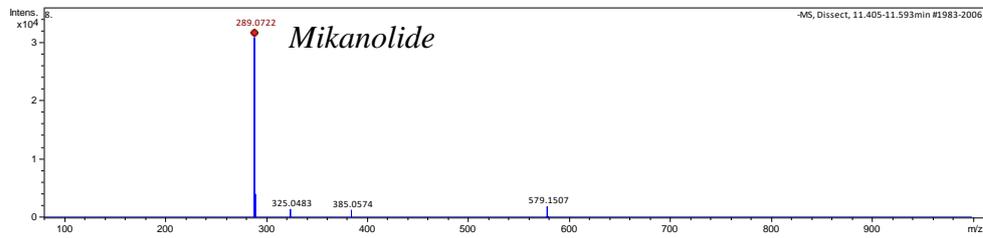
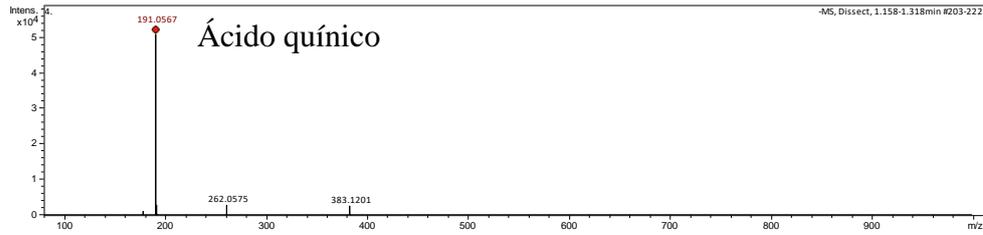


EA-I-PC

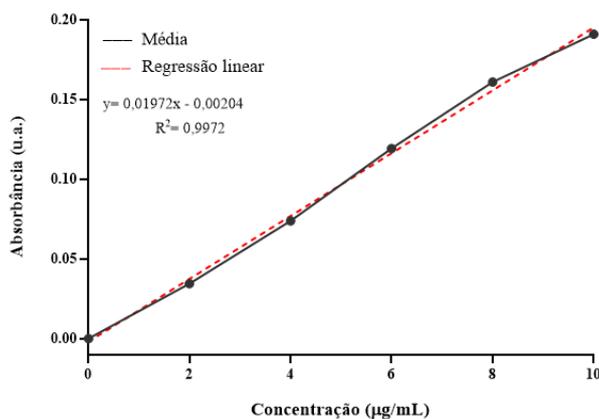




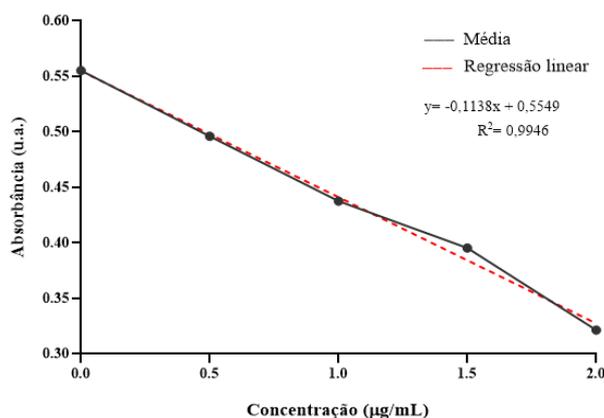
EA-D-FL



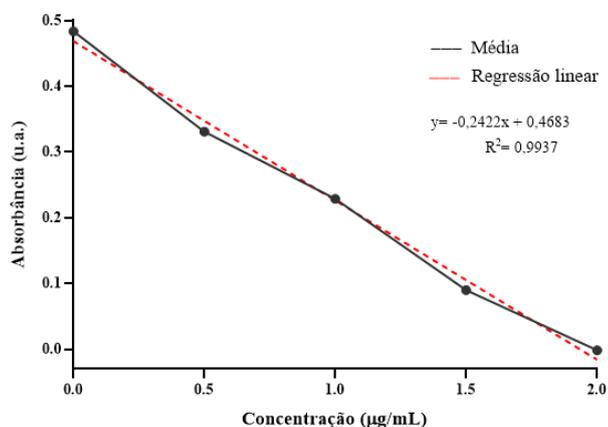
Apêndice 5. Curva padrão de ácido gálico (AG) nas concentrações de 0 a 10 µg/mL *versus* as absorvâncias lidas a 760 nm para quantificação de fenóis totais.



Apêndice 6. Curva padrão de ácido gálico (AG) nas concentrações de 0 a 2 µg/mL *versus* as absorvâncias lidas a 517 nm para determinação da capacidade antioxidante frente ao radical DPPH.

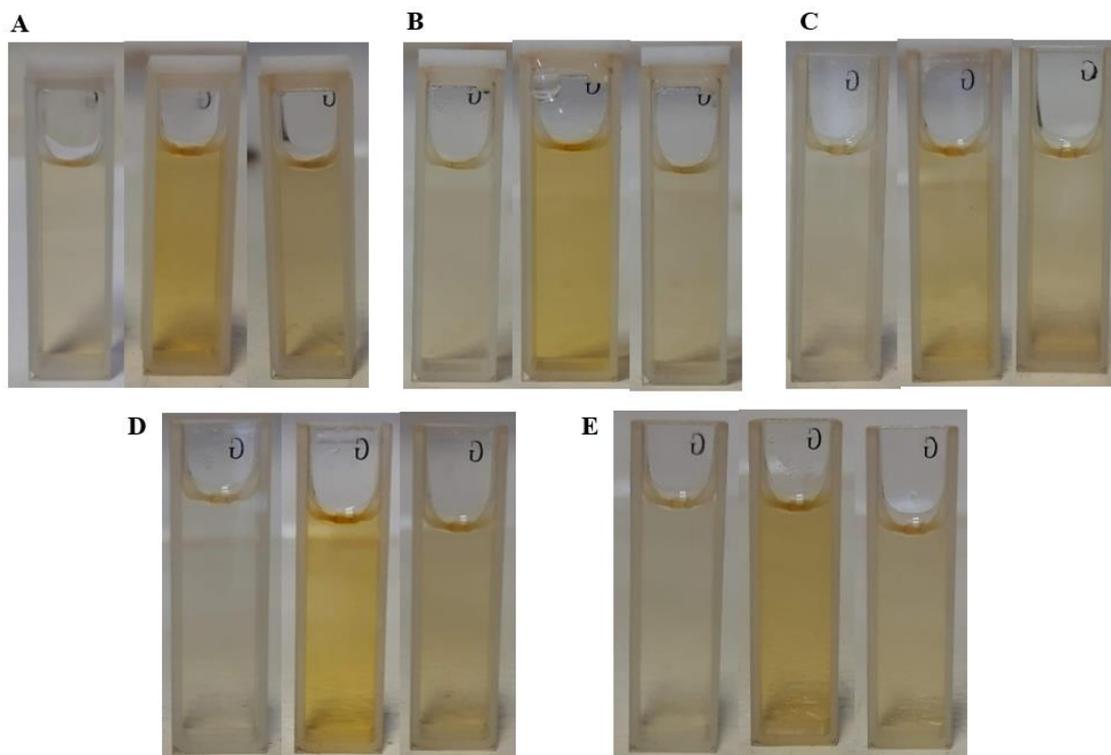


Apêndice 7. Curva padrão de ácido gálico (AG) nas concentrações de 0 a 2 µg/mL *versus* as absorvâncias lidas a 734 nm para determinação da capacidade antioxidante frente ao radical ABTS.

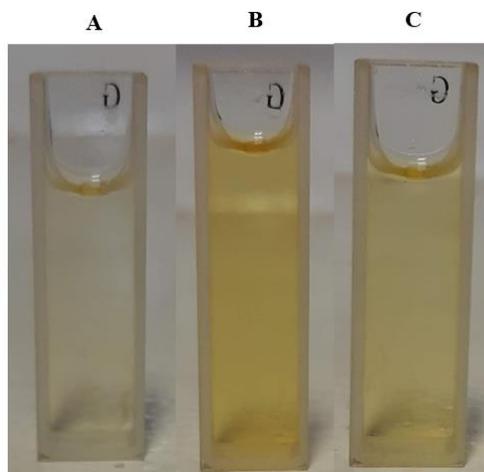


Apêndice 8. Registro visual das suspensões de AgNPs sintetizadas com extratos aquosos dos folíolos de *Paullinia cupana* coletados no período seco (PS) após 180 minutos de reação pelas três formas de preparação do extrato.

Da esquerda para a direita em cada conjunto de imagens os métodos de preparação são agitação (A), decocção (D) e infusão (I), respectivamente. (A) AgNPs do folíolo 1 (F1); (B) AgNPs do folíolo 2 (F2); (C) AgNPs do folíolo 3 (F3); (D) AgNPs do folíolo 4 (F4); (E) AgNPs do folíolo 5 (F5).

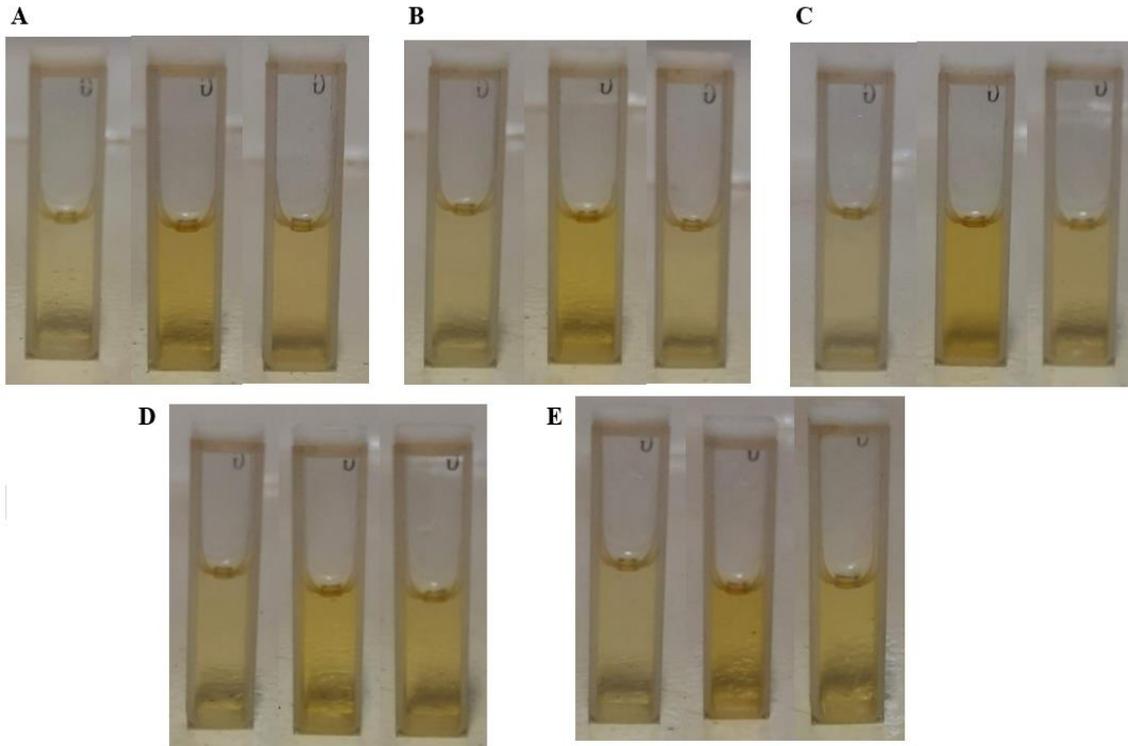


Apêndice 9. Registro visual das suspensões de AgNPs sintetizadas com extratos aquosos das flores de *Paullinia cupana* coletadas no período seco (PS) após 180 minutos de reação pelas três formas de preparação do extrato. (A) AgNPs sintetizadas pelo extrato aquoso da flor preparado por agitação; (B) AgNPs sintetizadas pelo extrato da flor preparado por decocção; (C) AgNPs sintetizadas pelo extrato da flor preparado por infusão.

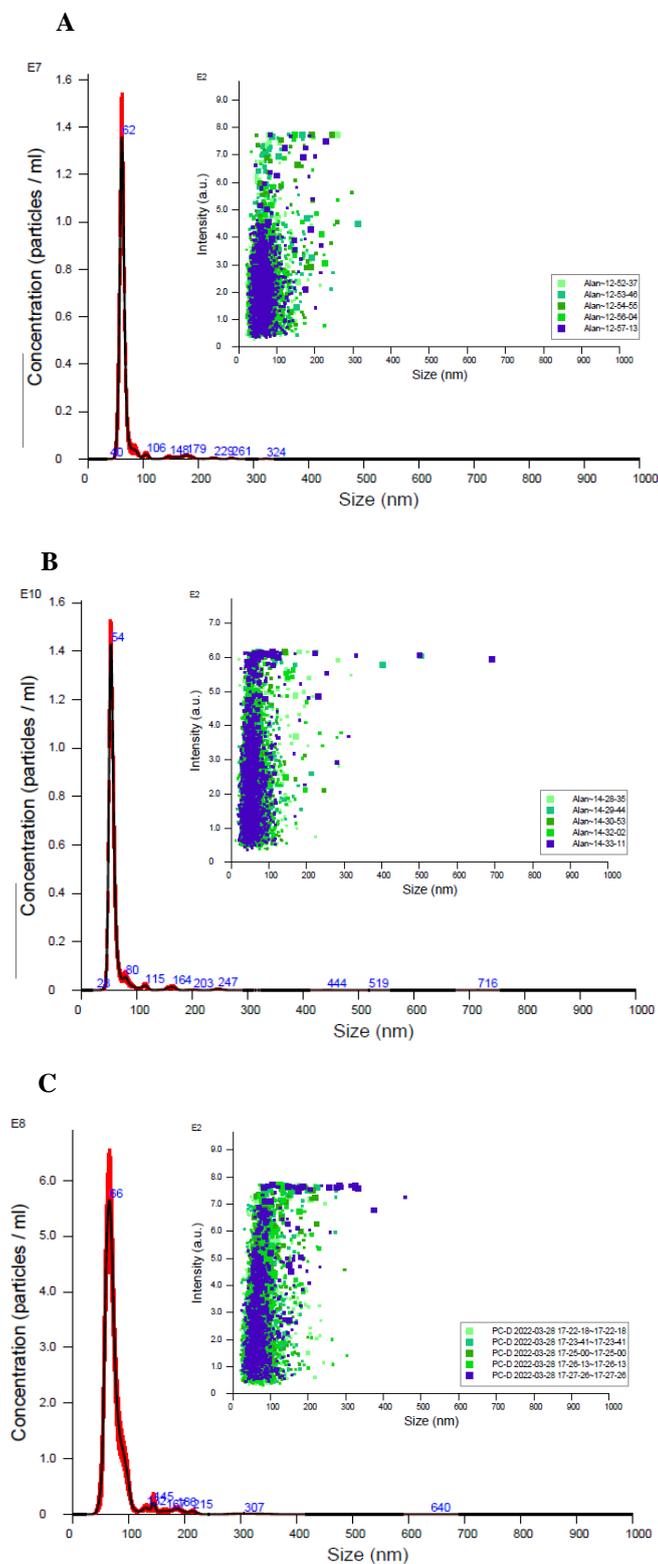


Apêndice 10. Registro visual das suspensões de AgNPs sintetizadas com extratos aquosos dos folíolos de *Paullinia cupana* coletados no período chuvoso (PC) após 180 minutos de reação pelas três formas de preparação do extrato.

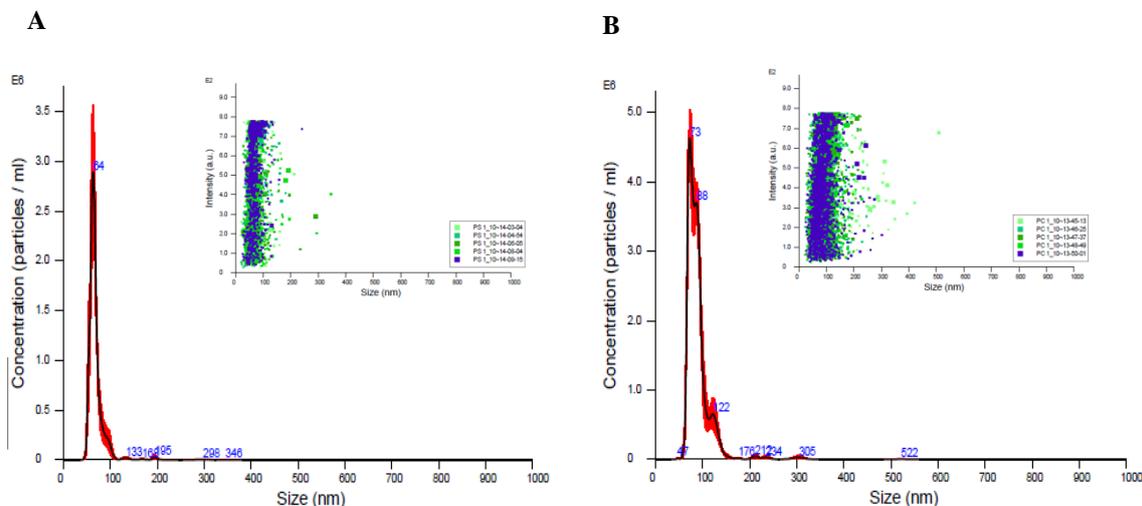
Da esquerda para a direita em cada conjunto de imagens os métodos de preparação são agitação (A), decocção (D) e infusão (I), respectivamente. (A) AgNPs do folíolo 1 (F1); (B) AgNPs do folíolo 2 (F2); (C) AgNPs do folíolo 3 (F3); (D) AgNPs do folíolo 4 (F4); (E) AgNPs do folíolo 5 (F5).



Apêndice 11. Histogramas de distribuição e gráficos 3D da concentração/intensidade *versus* diâmetro hidrodinâmico das AgNPs sintetizadas por folíolos e flores de *Paullinia cupana* coletados no período seco (PS) e chuvoso (PC) preparados por decocção obtidos por Análise de Rastreamento de Nanopartículas (ARN). (A) AgNPs-D-PS; (B) AgNPs-FL; (C) AgNPs-D-PC.



Apêndice 12. Histogramas de distribuição e gráficos 3D da concentração/intensidade *versus* diâmetro hidrodinâmico das AgNPs-PS (A) e AgNPs-PC (B) obtidos por Análise de Rastreamento de Nanopartículas (ARN) após a etapa de otimização.



Apêndice 13. Diferentes modelos de equações lineares e seus respectivos valores de coeficiente de regressão linear (R^2) e constantes de velocidade (k) para os poluentes azul de metileno (AM) (A) e laranja de metila (LM) (B) após tratamento com as AgNPs.

A)

Modelo cinético	Equação	Amostra	R^2	k (min^{-1})
Ordem zero	$A_0 - A_t = kt$	AgNPs-PS	0,6540	0,0372
		AgNPs-PC	0,6573	0,0371
1ª ordem	$\ln(A_t/A_0) = -kt$	AgNPs-PS	0,9226	0,0558
		AgNPs-PC	0,9450	0,0579
2ª ordem	$(1/A_t) - (1/A_0) = kt$	AgNPs-PS	0,9762	0,1218
		AgNPs-PC	0,8811	0,1411

B)

Modelo cinético	Equação	Amostra	R^2	k (min^{-1})
Ordem zero	$A_0 - A_t = kt$	AgNPs-PS	0,9176	0,0945
		AgNPs-PC	0,9498	0,0946
1ª ordem	$\ln(A_t/A_0) = -kt$	AgNPs-PS	0,8559	0,2089
		AgNPs-PC	0,8270	0,2248
2ª ordem	$(1/A_t) - (1/A_0) = kt$	AgNPs-PS	0,7922	0,7274
		AgNPs-PC	0,5742	1,1096