

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS INSTITUTO DE CIÊNCIAS
EXATAS E TECNOLOGIA CURSO DE QUÍMICA INDUSTRIAL**

GABRIELE SIMAS RIBEIRO

**SÍNTESE DE NANOPARTÍCULAS DE PRATA MEDIADA POR EXTRATOS
AQUOSOS DE *Euterpe oleracea* (AÇAÍ)**

Itacoatiara – Amazonas
Julho – 2019

GABRIELE SIMAS RIBEIRO

**SÍNTESE DE NANOPARTÍCULAS DE PRATA MEDIADA POR EXTRATOS
AQUOSOS DE *Euterpe oleracea* (AÇAÍ)**

Trabalho de conclusão de curso apresentado ao Instituto de Ciências Exatas e Tecnologia da Universidade Federal do Amazonas como parte dos requisitos necessários para a obtenção do título de Bacharel em Química Industrial.

ORIENTADOR: PROF. DR. GUSTAVO FRIGI PEROTTI

Ficha Catalográfica

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

R484s Ribeiro, Gabriele Simas
Síntese de nanopartículas de prata mediada por extratos aquosos de *Euterpe oleracea* (Açaí) / Gabriele Simas Ribeiro. 2019
32 f.: il. color; 31 cm.

Orientador: Gustavo Frigi Perotti
TCC de Graduação (Química Industrial) - Universidade Federal do Amazonas.

1. Nanopartícula de prata. 2. Açaí. 3. Síntese verde. 4. ensaios antimicrobianos. I. Perotti, Gustavo Frigi II. Universidade Federal do Amazonas III. Título

AGRADECIMENTOS

Há três anos iniciei minha vida no instituto ICET, nele tive a oportunidade de conhecer diferentes tipos de pessoas, conviver diariamente, amadurecer e me tornar alguém melhor. Hoje tenho apenas a agradecer por todos que fizeram parte da minha jornada, agradecer a Deus que oferece o ar que eu respiro e a minha saúde perfeita para suportar as adversidades da vida. Aos meus familiares, pelo apoio dado durante este trabalho e por acreditarem em meu potencial, principalmente minha mãe Iris Simas Ribeiro, que esteve comigo me incentivando, apoiando e dando forças nos momentos turbulentos, eu a amo e sou eternamente grata por tudo que faz por mim. A todos os meus amigos que torcem por mim, especialmente a minha amiga/irmã e colega de curso Carolyne Rodrigues Ribeiro, sem você os anos acadêmicos não seriam os mesmos, por todo apoio fornecido, pelas horas de estudos compartilhadas, por ser uma colega de apartamento tão alegre que transmite amor onde estiver. A todos os professores e coordenações acadêmicas por contribuírem direta e indiretamente para minha formação acadêmica. Ao meu orientador professor Dr. Gustavo Frigi Perotti, pelo apoio e suporte dado durante o trabalho e por contribuir para minha formação acadêmica. Obrigada a todos!

RESUMO

A pesquisa envolvendo a síntese verde para a formação de nanopartículas metálicas vem se destacando na área nanotecnológica por seguir uma rota diferente da convencional cujas substâncias utilizadas se tornam responsáveis por apresentar potenciais riscos ao meio ambiente e a sistemas biológicos. Desta forma, procedimentos que utilizam compostos fitoquímicos se mostram como alternativas eficientes de formação de nanopartículas metálicas através da utilização de extratos vegetais. O açaí, típico da região amazônica, possui substâncias que apresentam potencialidade na mediação de formação de sistemas nanoparticulados. As sínteses das nanopartículas de prata (AgNPs) foram realizadas em três condições distintas de concentração de extrato, com procedimentos em temperatura ambiente e elevadas, avaliando parâmetros de velocidade de reação, estabilidade das AgNPs formadas e concentração do extrato. As nanopartículas produzidas em temperatura ambiente foram submetidas a testes antimicrobianos, apresentando resultados eficientes contra a espécie *Staphylococcus aureus*, comprovando seu efeito microbicida especialmente frente à bactérias gram-positivas.

Palavras chaves: Nanopartícula de prata; Açaí; Síntese verde; ensaios antimicrobianos.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - (a) açaí imerso em solução de hipoclorito de sódio, (b) maceração do açaí em água morna, (c) extrato de açaí concentrado sem centrifugação, (d) extrato de açaí centrifugado, pronto para armazenagem.....	17
Figura 2 - Espectro de absorção na região do UV-vis.....	20
Figura 3 - Absorbância em função do tempo de nanopartículas em temperatura ambiente.....	21
Figura 4 - Colóide de nanopartícula de prata 1:1 (a) 5 minutos de reação, (b) 4h de reação e (c) 24h de reação, (d) 48h de reação.	22
Figura 5 – Síntese de nanopartículas de prata – Absorbância em função do tempo.	25
Figura 6 - Teste antimicrobiano para <i>S.aureus</i> - A) Extrato de açaí; F) Nanopartícula em condição 1:1; G) Nanopartícula em condição 1:2; H) Nanopartícula em condição 1:4; I) Controle negativo.....	26

Sumário

1. INTRODUÇÃO.....	8
2. JUSTIFICATIVA.....	10
3. OBJETIVOS.....	14
4. MATERIAIS E MÉTODOS	15
4.1 Materiais.....	15
4.2 Métodos	16
5. RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	19
6. CONCLUSÃO	28
7. REFERÊNCIAS	29

1. INTRODUÇÃO

Diante da integração entre ciência e tecnologia, a nanotecnologia vem proporcionando a geração de novos produtos que melhoram a qualidade de vida dos seres humanos. As pesquisas que envolvem essa área buscam manipular estruturas em nanoescala, por exemplo, para minimização de impactos que diversos materiais causam ao meio ambiente (DISNER; CESTARI, 2016). Os investimentos acerca da nanociência, âmbito que lida com a manipulação de materiais a nível nanométrico (MARCONE, 2015) abrangem todas as áreas de conhecimento, resultam na produção materiais que apresentam propriedades novas e/ou intensificadas em comparação aos sistemas micro e macroparticulados e, por consequência, são empregados em diferentes áreas, como a microbiologia, catálise, eletrônica e ciências biomédicas (FERREIRA; VARELA, 2009). Há um interesse crescente pelas propriedades antibacterianas que as nanopartículas metálicas possuem (IBRAHIM, 2015). Neste contexto, a eficácia bactericida de agentes inorgânicos como a prata, tem sido amplamente investigada (PAL; TAK; SONG, 2007).

As aplicações da nanotecnologia em datas antigas da história da humanidade remetem a funcionalidade dessa ciência. Nanopartículas metálicas eram empregadas e utilizadas em diferentes culturas para produzir distorções coloridas em vidros e cerâmicas, um exemplo desse feito é o vidro do famoso Cálice de Licurgo (*Lycurgus Cup*), gerado pela combinação de nanopartículas de ouro e prata, causando efeitos coloridos quando a luz é refletida em diferentes ângulos na Roma do século IV A.C (MELO JR *et al.*, 2012). Por volta de 4000 A.C.. os alquimistas egípcios faziam uso do “elixir de ouro” para estimular a mente e revigorar a juventude, o que na realidade, era composto de

partículas de ouro em suspensão com tamanho de ordem de 1-100 nm (FERRERA; VARELA, 2009).

Atualmente investiga-se a possibilidade de utilizar rotas sintéticas alternativas para a produção de nanopartículas metálicas em detrimento às rotas químicas usuais (THAKKAR; MHATRE; PARIKH, 2010). Em busca de processos favoráveis ao meio ambiente e de aplicações em sistemas biológicos, conceitos da Química Verde são empregados em nanotecnologia, propiciando vantagens em relação aos métodos físicos e químicos que empregam compostos potencialmente nocivos para a síntese de nanopartículas metálicas (RAFIQUE *et al.*, 2017). O uso de extratos vegetais na produção de nanopartículas de prata (AgNPs) tem um impacto muito significativo sobre a viabilidade ambiental e econômica, além de propiciar aplicações que não são possíveis ao se utilizar precursores potencialmente tóxicos (BEYENE *et al.*, 2017).

Na região amazônica há uma grande biodiversidade de plantas e frutas que possuem características favoráveis a sintetização de nanopartículas metálicas, como o açaí (*Euterpe oleracea*), um fruto amplamente utilizado no ramo alimentício. O açaí tem propriedades antioxidantes e anti-inflamatórias, devido à sua composição química, principalmente por conter substâncias bioativas, tais como polifenóis e entre eles destacam-se os flavonoides, tendo como principal representante dessa classe as antocianinas (YAMAGUCHI *et al.*, 2015). Tais substâncias podem atuar como agentes estabilizantes e redutores de íons prata em solução, produzindo dispersões coloidais de nanopartículas (IRAVANI, 2011).

2. JUSTIFICATIVA

É crescente o interesse da comunidade científica em relação à nanociência (MELO JR *et al.*, 2012). A nanotecnologia desempenha um papel crítico em muitas tecnologias-chave, pois se fundamenta em aplicar a ciência para controlar a matéria em nível molecular (IRAVANI, 2011). A escala nanométrica apresenta propriedades novas e/ou melhores ao se comparar às partículas com dimensões maiores oriundas da mesma fonte na qual as nanopartículas foram formadas, quando se baseia nas características específicas, como, por exemplo, tamanho, morfologia e composição (RESENDE, 2017).

As nanopartículas são corpos com dimensões iguais ou inferiores a 100 nm, tornando-se de grande interesse por apresentar tamanho extremamente pequeno e pela grande superfície para razão de volume, o que leva à diferenças tanto químicas quanto físicas nas suas propriedades em relação a grandes quantidades com a mesma composição química (IRAVANI, 2011). Nessa escala de tamanho, são observadas propriedades, como por exemplo, tolerância à temperatura, variedade de cores, alteração da reatividade química e da condutividade elétrica (FERREIRA; VARELA, 2009). A empregabilidade de nanopartículas dispõe de aplicações em áreas distintas como biosensoriamento para a óptica, atividades antimicrobiana, transistores de computador, eletrômetros, sensores químicos e esquemas de memória (IRAVANI, 2011).

A maioria dos métodos químicos utilizados para a síntese de nanopartículas pode apresentar alto custo e envolver a utilização de produtos químicos que são responsáveis por alguns riscos biológicos (GEOPRINCY *et*

al., 2013). Convencionalmente a síntese de nanopartículas envolve processos físicos e químicos, como as abordagens diferentes que compreendem a produção de nanopartículas metálicas (BEYENE *et al.*, 2017). Os métodos *top-down* fundamentam-se na remoção de matéria de estruturas maiores a fim de se obter a nanoestrutura desejada, em contrapartida a abordagem *bottom-up* se baseia na auto-organização nos materiais nanoestruturados em relação aos componentes inicialmente em escala atômica ou molecular. Entretanto, algumas características e propriedades das nanopartículas, como por exemplo, a estabilidade e tamanho não dependem somente do método empregado, mas também das condições experimentais tais como tempo de reação, temperatura, uso e concentração de agentes estabilizantes (COURA *et al.*, 2018).

As nanopartículas metálicas dispersas em solvente aquoso são consideradas como coloides metálicos que possuem propriedades importantes com aplicações em várias áreas na ciência. Os compostos de prata são utilizados como agentes antimicrobianos, permitindo interações com microrganismos e inviabilizando a sua sobrevivência. As nanopartículas de prata caracterizam-se por apresentar ação antifúngica, anti-inflamatória, antiviral, sendo desenvolvidas diferentes formulações para aplicações em sistemas, biológicos e farmacêuticos. Além das rotas sintéticas tradicionais, as nanopartículas podem ser sintetizadas por rotas sintéticas alternativas que podem empregar diferentes espécies além dos reagentes tradicionais, como utilização de microrganismos, fungos e diferentes partes de plantas (como folhas, raízes, flores, sementes, etc.) (BEYENE *et al.*, 2017).

A atividade antimicrobiana proporcionada pela utilização da prata e seus compostos viabiliza formulações que são úteis no tratamento de feridas, sendo

estas as responsáveis por promover e acelerar o processo de cura. Essa característica antibacteriana das nanopartículas de prata foi regulamentada pela Food and Drug Administration dos EUA em 1920 (DURÁN *et al.*, 2016). A prata e seus compostos eram amplamente utilizados no controle microbiológico antes da inclusão da terapia antibiótica, uma vez que estes compostos possuem baixa toxicidade em células humanas quando utilizadas em baixas concentrações (ALMEIDA, 2017). Um dos mecanismos de toxicidade desses nanomateriais inclui o mecanismo de interação destes às superfícies das bactérias e por consequência, alteram as propriedades da membrana celular e posteriormente acarretam em danos no DNA microbial. A dissociação parcial das nanopartículas de prata libera íons de prata que podem interagir com proteínas, afetando as suas funções. Este mecanismo retrata a eficácia da nanopartícula como modo de “entregar” íons de prata ao citoplasma e membrana da bactéria (DURÁN *et al.*, 2016). As nanopartículas de prata também podem interromper a fonte de energia para todas as reações que dependem de energia, levando à morte celular (REIDY *et al.*, 2013). Em resumo, o desenvolvimento da resistência dos micróbios contra a prata é virtualmente impossível, de modo que a prata ataca uma vasta escala de alvos nos organismos, implicando em uma grande dificuldade por parte do microrganismo de desenvolverem mutações para se protegerem (PAL; TAK; SONG, 2007).

A produção de nanopartículas mediadas por microrganismos é uma rota alternativa que tem atraído à atenção de grupos de pesquisa ao redor do mundo, uma vez que fungos e bactérias são capazes de recuperar metais nocivos do meio aquoso por redução de íons metálicos (BEYENE *et al.*, 2017).

É vantajoso se trabalhar com fungos na síntese de nanopartículas por conta do controle do seu tamanho (THAKKAR; MHATRE; PARIKH, 2010). Entretanto, a síntese de nanopartículas mediada por extratos de plantas é o principal método adotado para uma produção mais verde, dispondo de vantagens por apresentar fácil manuseio, disponibilidade, segurança, e proporcionar o maior rendimento de nanopartículas com ampla variedade de metabólitos que podem auxiliar na redução dos íons de prata, e com maior velocidade de reação quando comparados às nanopartículas obtidas por microrganismos (GEOPRINCY *et al.*, 2013; BEYENE *et al.*, 2017).

A biossíntese de nanopartículas de prata e ouro empregando extratos de polpa de frutas vem sendo explorada, havendo diversos exemplos reportados na literatura, como a utilização de espécies de abacaxi, limão e pera (IRAVANI, 2011; BASAVEGOWDA *et al.*, 2013; COURA *et al.*, 2018). O açaí (*Euterpe oleracea*) é encontrado na América do Sul, principalmente na região amazônica, e possui elevado potencial econômico, principalmente devido ao uso do fruto na preparação de bebidas, difundindo-se para todo o mundo como uma bebida energética (SILVA, 2017). A composição química do açaí traz benefícios à saúde por conter substâncias bioativas como flavonoides e antocianinas, ambos com acentuado caráter antioxidantes. Há quantidade significativa de estudos relacionados aos valores nutricionais do açaí em aplicações cosméticas, farmacêuticas e alimentícias (YAMAGUCHI *et al.*, 2015). No entanto, quase não se encontra trabalhos relacionados a aplicações tecnológicas e desse modo, esse trabalho busca difundir conhecimento tecnológico e agregar valor a essa matéria-prima através da produção de nanopartículas de prata.

3. OBJETIVOS

O objetivo geral do presente trabalho é obter nanopartículas de prata através da síntese mediada por extratos de açaí em diferentes condições de síntese e verificar a atividade microbiciada dos coloides metálicos preparados.

Os objetivos específicos são os seguintes:

- a) Obter os extratos de açaí;
- b) Caracterizar os extratos vegetais por espectroscopia eletrônica UV-vis;
- c) Monitorar o progresso de síntese das nanopartículas por espectroscopia eletrônica UV-vis;
- d) Estudar os parâmetros de reação (tempo de reação, relação entre quantidade de Ag^+ e extratos vegetais e temperatura) através da espectroscopia eletrônica UV-vis;
- e) Verificar o potencial microbiciada dos materiais preparados mediante testes antimicrobianos.

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Materiais

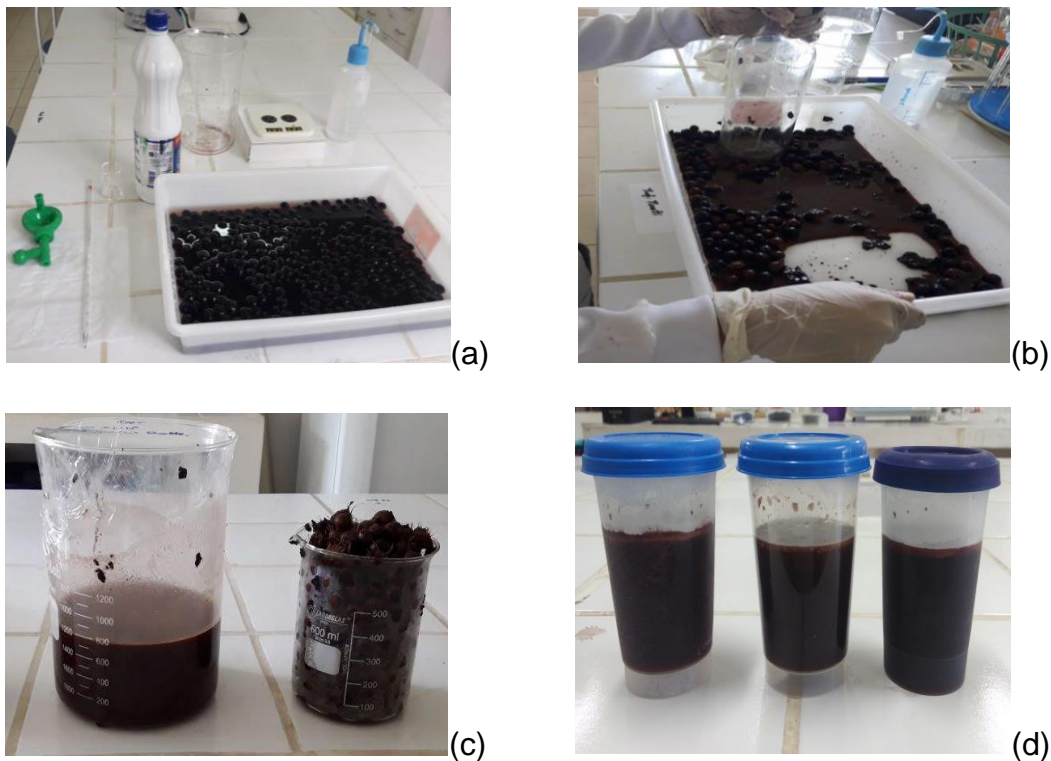
- Espectrofotômetro Visível Digital Microprocessador QUIMIS ISO 8001;
- Espectrofotômetro Visível SP-22 Biospectro;
- Balança Analítica Shimadzu AUY220;
- Centrifuga CENTROBIO;
- Agitador Magnético SPLabor;
- Agitador Vortex BIOMIXER;
- Barra magnética;
- Autoclave;
- Estufa - Nova Ética;
- Placas de Petri estéreis de poliestireno;
- Béqueres de 25, 50 e 100 mL;
- Pipeta graduada de 2 mL, 5 mL;
- Pipeta volumétrica de 50 mL;
- Tubos de ensaio;
- Peneira;
- Nitrato de prata LADERQUÍMICA;
- Açaí do comercio Casa do Açaí, Itacoatiara-AM.;
- Agar Mueller Hinton KASVI;
- Microrganismos: *Salmonella Sp.*; *Escherichia coli*; *Staphylococcus aureus*;

4.2 Métodos

Os extratos de açaí foram obtidos através do despulpamento manual das frutas adquiridas no município de Itacoatiara-AM. Os extratos foram centrifugados durante 20 min para a remoção de sólidos presentes e acondicionados no freezer para a produção das nanopartículas.

O procedimento de higienização dos frutos de açaí que antecede a etapa de despulpamento foi realizado de acordo com as recomendações da Embrapa (2019), consistiu na lavagem em água corrente e imersão do fruto em uma solução de hipoclorito de sódio durante 15 min, apresentado na Figura 1(a). Os frutos de açaí foram lavados novamente para remoção do cloro, em seguida iniciou-se o processo de maceração do açaí em água morna por 30 min (Figura 1(b)), obtendo o extrato concentrado do fruto (Figura 1(c)). Posteriormente realizou-se a centrifugação do extrato para remoção de sólidos presentes, e então o extrato foi armazenado em um recipiente (Figura 1(d)) e disposto no freezer.

Figura 1 - (a) açaí imerso em solução de hipoclorito de sódio, (b) maceração do açaí em água morna, (c) extrato de açaí concentrado sem centrifugação, (d) extrato de açaí centrifugado, pronto para armazenagem.



Fonte: o Autor, 2019.

Os extratos de açaí usados na mediação da formação das nanopartículas foram preparados com auxílio das leituras obtidas por espectrofotômetro. Através de processos de diluição foi monitorada a banda de máximo de absorção entre 200 e 285 nm (HUBER; RODRIGUEZ-AMAYA, 2008) de forma que a solução produzida tenha sempre inicialmente absorvância igual ou próxima de 1,0 u.a. Na sequência, a solução de nitrato de prata 0.1×10^{-3} mol/L foi preparada, acondicionada em béqueres revertidos com papel alumínio para minimizar a foto-ativação do nitrato de prata com a luz (AZIZI *et al.*, 2017) e então quantidades de extrato de açaí nas proporções 1:1 (2,5 mL de extrato + 2,5 mL de água destilada, 1:2 (1,4 mL de extrato + 3,6 mL de água destilada) e 1:4 (1 mL de extrato + 4 mL de água destilada) foram

adicionadas na solução, sob agitação constante por 24h e temperatura ambiente. Os testes usaram 5 mL de extrato de açaí e 50 mL de solução de nitrato de prata, de modo a totalizar sempre um volume de mistura de 55 mL. Posteriormente, realizou-se um procedimento de monitoramento de síntese de nanopartículas de prata para a condição 1:1, em temperaturas de 40 °C e 50 °C pelo período de 7 dias.

A evolução na produção das nanopartículas de prata foi acompanhada pela técnica da espectroscopia eletrônica no UV-vis, através do monitoramento da banda associada à ressonância de plasmon de superfície, localizada em 440 nm (PRATHNA *et al.*, 2011). Após o início do contato entre as soluções, foram retiradas alíquotas de 5 em 5 minutos nos primeiros 30 min, após cada meia hora para acompanhamento na evolução da reação por um período de 4 h, posteriormente em 12 h, 24 h, 36 h, 48 h e 7 dias.

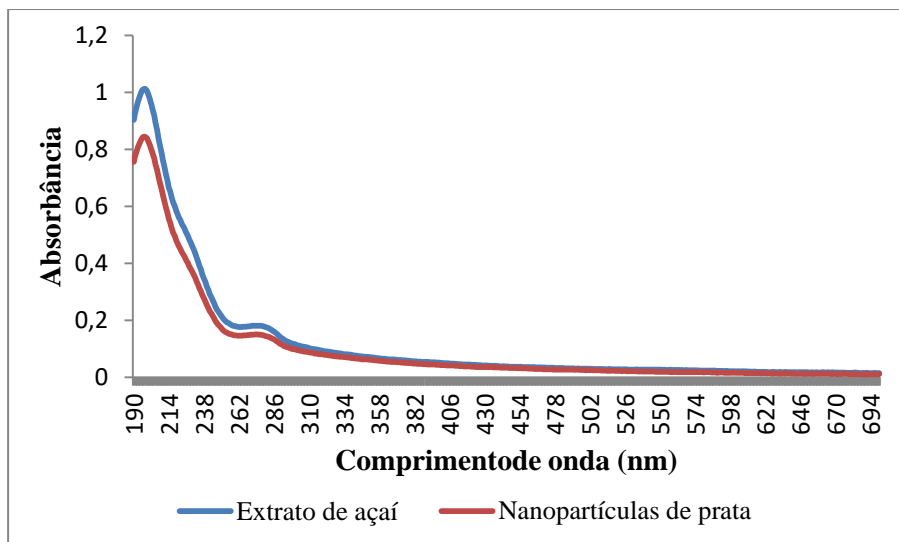
Para os testes antimicrobianos foram utilizados três microrganismos distintos, *Salmonella Sp.*; *Escherichia coli*; *Staphylococcus aureus*. O procedimento ocorreu em quatro etapas. Na primeira etapa, houve o preparado do meio de cultura nas proporções de 36 g de ágar para 1 L de água destilada, em seguida o meio foi disseminado em placas de Petri estéreis e acondicionado na estufa à 37 °C. Na segunda etapa houve o procedimento denominado de repique das bactérias, no qual estas foram adicionadas em placas de Petri de forma estriada para o crescimento isolado, cultivadas e incubadas por um período de 24 h em temperatura de 37 °C na estufa. A terceira etapa consistiu em verter as bactérias no meio de cultura, no qual a solução contendo-as apresentou absorvância de 0,03. Na quarta etapa foram introduzidas em sequência alíquotas das nanopartículas de prata (1:1, 1:2 e 1:4

á temperatura ambiente) produzidas no tempo de 24 h, do extrato de açaí e da solução de nitrato de prata nas placas de Petri, para serem incubadas a 37 °C por 24 h; os experimentos foram realizados em triplicata.

5. RESULTADOS E DISCUSSÕES

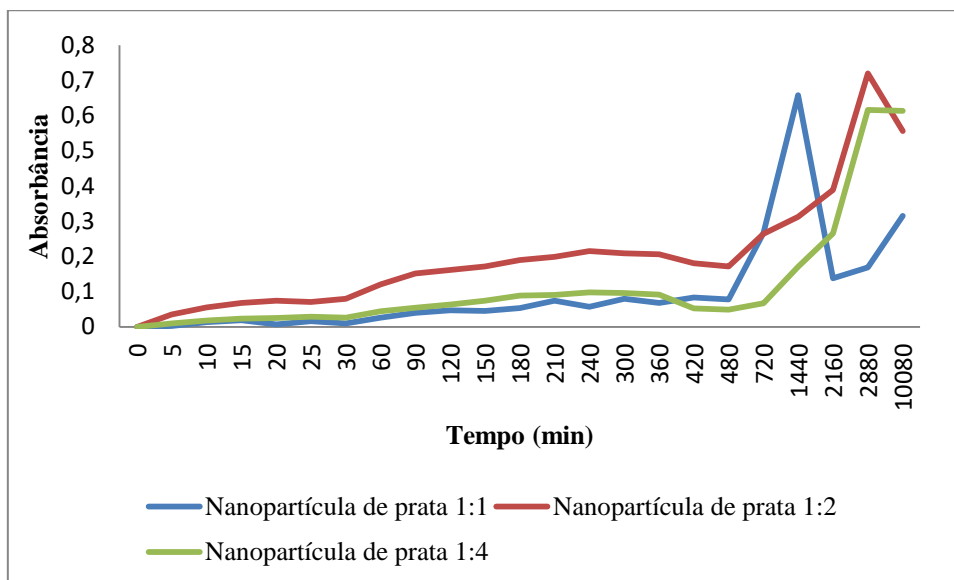
Com o auxílio do espectrofotômetro foram realizadas leituras no espectro UV-vis de amostras do extrato de açaí e do teste inicial de síntese das nanopartículas de prata (5mL de extrato + 50 mL de AgNO₃). Os dados obtidos no procedimento foram dispostos na Figura 2 para serem analisados, permitindo a determinação de um comprimento de onda na faixa de 440 nm no qual novos testes foram realizados. Os polifenóis presentes no açaí são identificados em uma faixa condizente aos picos dispostos na Figura 2, particularmente os flavonoides das classes flavonas, flavonóis e flavanonas que possuem uma intensa absorção na faixa de 240 e 285 nm (HUBER; RODRIGUEZ-AMAYA, 2008; CEDRIM; BARROS; NASCIMENTO, 2018). É explícita a dificuldade em visualizar a banda associada à formação de nanopartículas de prata pela técnica de espectroscopia eletrônica no UV-vis. que é identificada ao redor de 440 nm (JAIN *et al.*, 2009). Este comportamento pode ser justificado devido a baixos níveis de formação de nanopartículas no meio reacional em tempos de reação baixos.

Figura 2 - Espectro de absorção na região do UV-vis.



Foram determinadas novas condições em relação à concentração do extrato com a finalidade de se observar fatores como velocidade de reação e estabilização na síntese das nanopartículas. Os extratos de açaí foram diluídos em três proporções distintas de extrato + água destilada (1:1, 1:2 e 1:4), adicionados na solução de nitrato de prata em um volume de 50 mL, o procedimento foi monitorado pela técnica de espectroscopia UV-vis no comprimento de onda correspondente a 440 nm em função do tempo, com análises a cada 1 h por 8 h e em 12 h, 24 h, 36 h, 48 h e 7 dias.

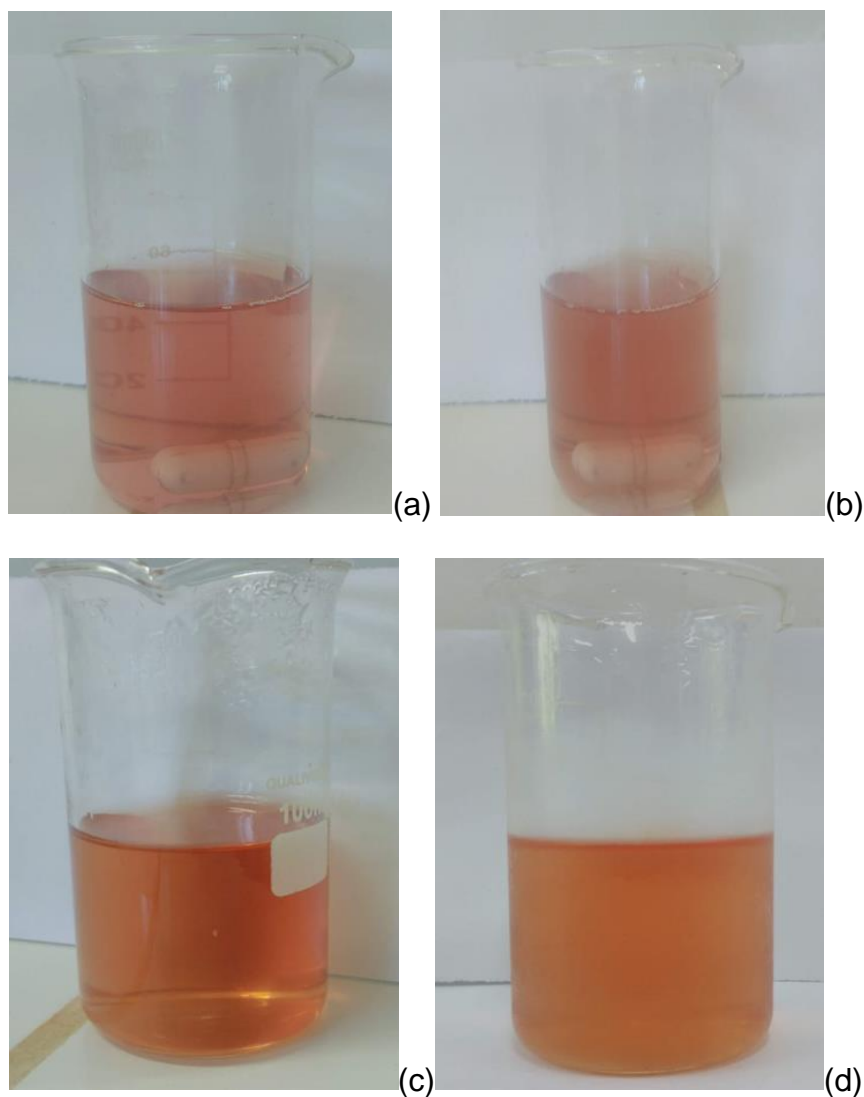
Figura 3 - Absorbância em função do tempo de nanopartículas em temperatura ambiente.



Os dados obtidos nas novas condições foram apresentados na Figura 3, no qual se utilizou o valor de referência inicial de absorbância (tempo = 0) a mistura de 5 mL de extrato vegetal e 50 mL de água destilada. Os valores coletados de absorbância durante o procedimento de formação das nanopartículas de prata foram subtraídos do valor inicial. Com o progresso da reação é notável um crescimento nos valores de absorbância nas diferentes condições em relação ao tempo, este aumento pode ser relacionado com a quantidade de espécies absorventes (nanopartículas) no sistema (ŠILEIKAITĖ, *et al.*, 2009), e, portanto havendo uma mudança de coloração (KOUVARIS, *et al.*, 2012). As nanopartículas de prata apresentam uma coloração marrom amarelada característica, devido às excitações de vibrações dos plasmons de superfície (SONG; KIM, 2009), podendo ser observado na Figura 4. Nas dimensões nanométricas, a nuvem de elétrons oscila em sua superfície e absorvem radiação eletromagnética a uma determinada energia, essa

ressonância é denominada como ressonância de plasmons, uma consequência do seu pequeno tamanho (SMITHA *et al.*, 2008).

Figura 4 - Coloide de nanopartícula de prata 1:1 (a) 5 minutos de reação, (b) 4h de reação e (c) 24h de reação, (d) 48h de reação.



Fonte: o Autor, 2019.

Após diferentes períodos de tempo foi observado que o comportamento do meio reacional apresentou alterações, como a alteração de coloração na solução de nanopartícula de prata, podendo ser verificado na condição 1:1 (Figura 4).

Na Figura 3 é observado um declínio/estabilização na absorvância registrada no tempo de 2 dias (2880 min), sendo que esse fenômeno pode estar relacionado à diminuição da concentração dos componentes do extrato que reduzem os íons prata e auxiliam na formação e concentração das nanopartículas, acarretando na coalescência destas.

As reações que ocorrem em temperatura ambiente expõem o mesmo comportamento até 4h de análise, observando que somente após esse período aumenta-se a absorvância dos coloides que estão em produção. A quantidade de extrato que cada condição apresenta influência no máximo de absorvância detectado, de modo que a condição de maior concentração atinge o máximo de absorvância em menor tempo, este comportamento pode ser visualizado na Figura 3. A redução dos íons Ag^+ no meio reacional não acontece instantaneamente, do mesmo modo, a estabilização das nanopartículas formadas requer um tempo mínimo. Portanto, se for acelerada a redução dos íons Ag^+ , as AgNPs formadas estarão revestidas parcialmente pelas biomoléculas do extrato que auxiliarão na estabilização dos coloides e conseqüentemente haverá a sua precipitação, acarretando na redução na absorvância no extrato 1:1 em intervalos reduzidos de tempo.

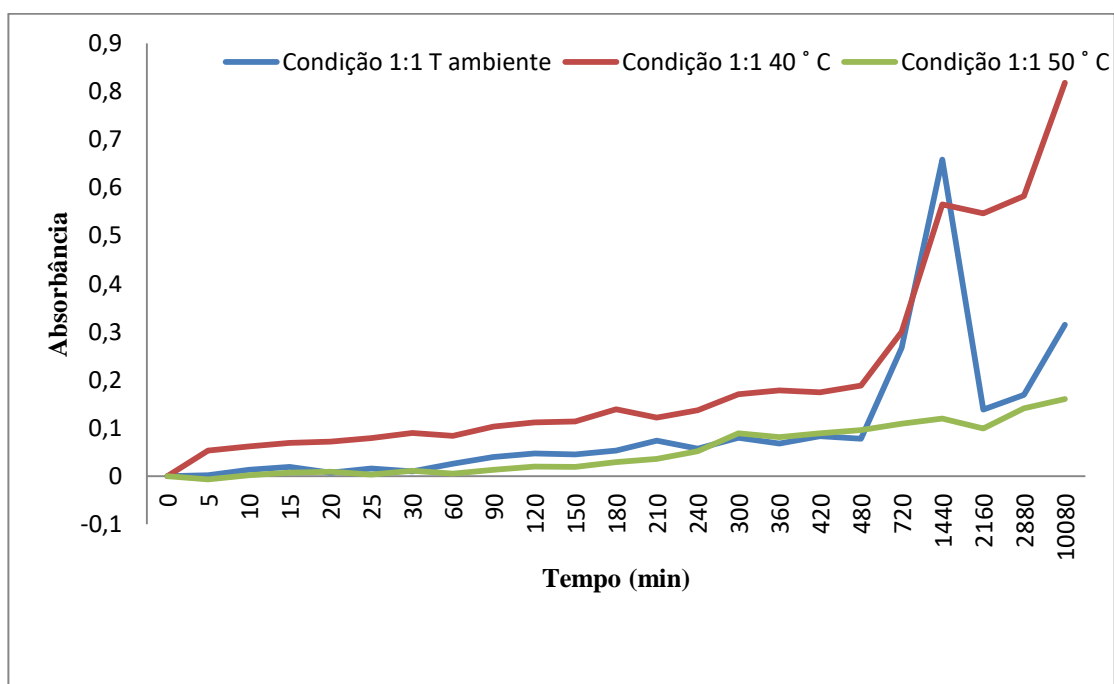
Para as AgNPs produzidas com extrato vegetal na proporção 1:1, após 7 dias (10080 min) os valores de absorvância apresentaram um aumento expressivo frente à medição de 2880 min, sendo que esse fenômeno pode estar ligado a presença de micropartículas precipitadas que foram ressuspensas no momento da medição, acarretando em um bloqueio/espalhamento do feixe luminoso e que acaba sendo interpretado pelo equipamento como um aumento na absorvância.

Outro parâmetro que pode influenciar a velocidade de formação das AgNPs é a variação de temperatura. Essa variável pode atuar de duas maneiras antagônicas: a primeira é aumentando a energia cinética dos reagentes, e logo, pode-se aumentar a velocidade da reação (NATSUKI; HASHIMOTO, 2015) e a segunda afeta de modo desfavorável, acarretando na degradação das biomoléculas, como as antocianinas presentes no extrato vegetal (CIPRIANO, 2011). Adicionalmente, o processo de degradação do extrato pode ocorrer por outros fatores, como luz, à exposição a ambientes oxidantes (contato com ar atmosférico) e contato com microorganismos (BIESAGA, 2011). O efeito da degradação pode ser visualizado na condição de síntese de nanopartículas 1:1 à temperatura de 50 °C como pode ser observado na Figura 5, sendo a condição 1:1 escolhida por apresentar primeiro o máximo de absorbância em comparação as outras condições em temperatura ambiente, havendo uma maior quantidade de nanopartículas formadas. Nas condições de síntese estudadas, utilizando o extrato de açaí, observa-se um aumento pouco expressivo na absorbância do coloide metálico produzido, indicando uma diminuição na velocidade de reação para produção das AgNPs. O processo de síntese das nanopartículas quando conduzidas em temperaturas elevadas promovem alterações que podem estar ligadas a mudanças no perfil fenólico (PAEPE *et al.*, 2014) e/ou de outras biomoléculas capazes de atuar como agentes redutores na reação de transformação da prata catiônica.

A produção de nanopartículas metálicas à temperatura de 40 °C ocorreu de forma mais acelerada, notando-se alterações da coloração para um tom amarronzado intenso em menor tempo, além de não apresentar precipitação de

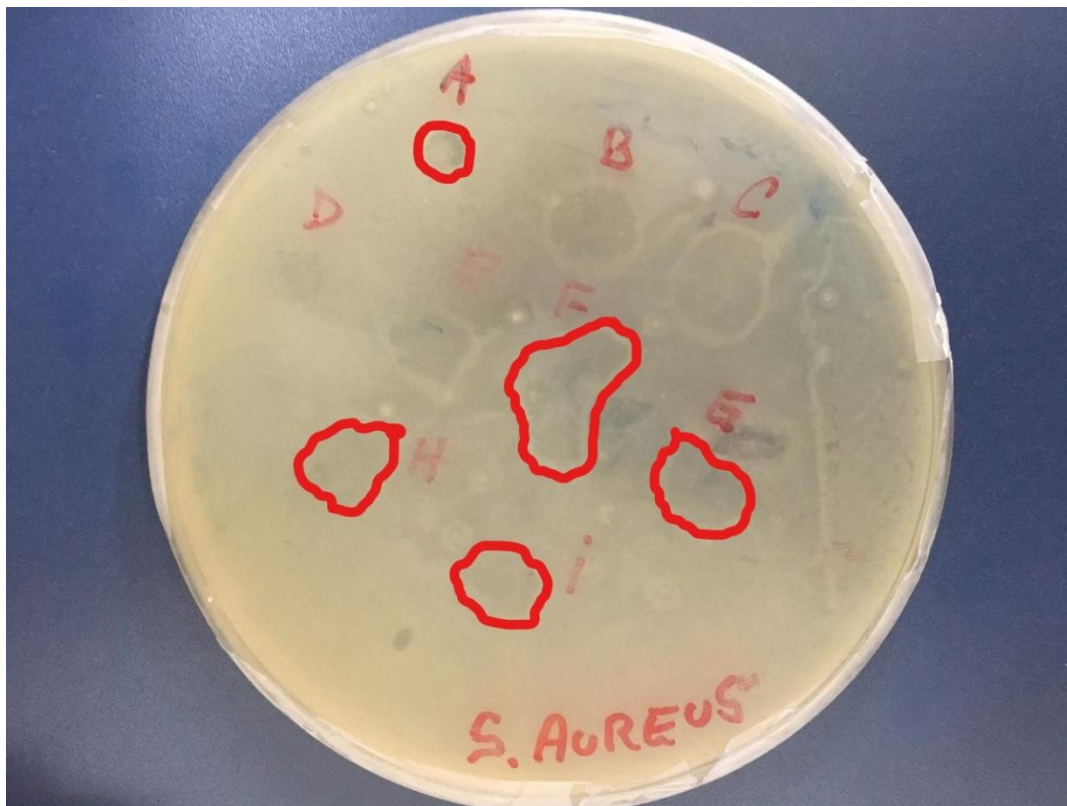
sólidos após 24 h de monitoramento quando comparada a síntese em temperatura ambiente. Na Figura 5 é observado um expressivo aumento nos valores de absorbância na condição 1:1 em 40 °C, sem variações significativas destes valores no período de 8 h (480 min) de análise. A velocidade de redução dos íons Ag^+ em Ag^0 parece não ser influenciada pelo aumento de temperatura, no entanto auxília na etapa de estabilização das AgNPs com as biomoléculas do extrato, formando coloides mais estáveis e que não coalescem no intervalo de tempo investigado.

Figura 5 – Síntese de nanopartículas de prata – Absorbância em função do tempo.



A etapa seguinte aos testes de temperatura consistiu em avaliar a capacidade antimicrobiana das nanopartículas sintetizadas em temperatura ambiente, com as bactérias *Salmonella Sp.*; *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus*. Na Figura 6 é apresentado o resultado antimicrobiano para a bactéria *S.aureus*, sendo esta uma bactéria gram-positiva.

Figura 6 - Teste antimicrobiano para *S.aureus* - A) Extrato de açaí; F) Nanopartícula em condição 1:1; G) Nanopartícula em condição 1:2; H) Nanopartícula em condição 1:4; I) Controle negativo.



Fonte: o Autor, 2019.

Existem fatores que afetam a atividade antibacteriana das nanopartículas, como por exemplo, o tipo de bactéria empregada no estudo (HAJIPOUR *et al.*, 2012). A diferença de susceptibilidade de bactérias gram-positivas e gram-negativas a compostos é devido às estruturas de parede celular serem distintas (KORA *et al.*, 2013). As bactérias gram-positivas são menos susceptíveis em relação aos agentes antibacterianos de prata do que as gram-negativas (DAKAL *et al.*, 2016), por conter uma camada de peptidoglicano mais espessa, essa parede bacteriana é projetada para fornecer força, rigidez e proteger a célula de mecanismos que possam danificá-la (KORA *et al.*, 2013). O peptidoglicano é um polímero composto por açúcares e aminoácidos, podendo incluir outros componentes como ácidos

teicoico e lipoteicoico, complexos polissacarídeos, essa camada de peptidoglicano atua contra agentes bacterianos tais como antibióticos, (HAJIPOUR *et al.*,2012). As nanopartículas de prata podem atacar a membrana bacteriana, de forma que os íons Ag^+ produzidos pelas nanopartículas interagem com a camada de peptidoglicano induzindo a fragmentação das células bacterianas (YUN *et al.*, 2013).

Os testes realizados com o extrato de açai demonstraram maior eficácia em relação ao halo de inibição para *S.aureus*, no qual compostos bioativos como polifenóis e antocianinas podem atuar tanto como agentes antioxidantes ou espécies antimicrobianas (CEDRIM; BARROS; NASCIMENTO, 2018; SPRENGER *et al.*, 2016). É notável na Figura 6 que o maior halo de inibição se caracteriza pela nanopartícula produzida na condição 1:1 representado pela letra F, devido não somente a maior concentração de extrato, mas também pelo fato de apresentar uma maior quantidade de prata nanoparticulada, como revelaram os ensaios de absorvância para o tempo de 1440 min. Com a redução na quantidade do extrato disponível para reduzir o cátion prata (condições 1:2 e 1:4), formou-se uma menor quantidade de AgNPs e esses halos de inibição foram significativamente menores que na condição de extrato 1:1. Para os testes foi utilizado o nitrato de prata $0,1 \times 10^{-3}$ mol/L como controle negativo, no qual essa solução demonstrou um leve efeito inibitório no crescimento das bactérias, sendo que a conversão do cátion Ag^+ em AgNPs potencializou seu efeito microbicida, possivelmente associado à maior capacidade que as nanopartículas de prata têm de induzir a formação de espécies reativas de oxigênio nesses microrganismos (KEDZIORA *et al.*, 2018). Os testes antibacterianos para *Salmonella Sp.* e *E. coli.* apresentaram

um tímido resultado em comparação com a bactéria *S. aureus*, podendo ser associado ao método utilizado (BUSZEWSKI *et al.*, 2018) ou às características da parede celular mencionadas anteriormente (PANDEY *et al.*, 2014).

6. CONCLUSÃO

A partir do conhecimento das substâncias antioxidantes que estão presentes no açaí (*Euterpe Oleracea*) pode-se compreender a viabilidade da produção das nanopartículas metálicas. Diante dos testes realizados, os colóides de nanopartículas obtidos mediados pelo extrato de açaí exibiram potencial antimicrobiano interessante, de modo que é notável uma maior eficiência quando se utilizam extratos em concentrações menores. Observou-se também que a temperatura também afeta as características das nanopartículas produzidas, de modo que sistemas mais estáveis foram produzidos com um leve aumento nesse parâmetro.

Dessa forma, sugere-se que novos estudos possam ser realizados, principalmente relacionados com a verificação da atividade microbicida das nanopartículas de prata produzidas em condições de temperatura distintas. Recomenda-se ainda realizar novos ensaios de produção de nanopartículas empregando quantidades menores de extrato vegetal em contato com a solução de AgNO_3 para verificar a sua influência no processo de formação de nanopartículas e seu impacto na capacidade microbicida desses materiais produzidos.

7. REFERÊNCIAS

ALMEIDA, E.S. **Biossíntese e caracterização de nanopartículas de prata por *Fusarium oxysporum***. 2017. Dissertação de Pós-Graduação (Engenharia Química) – Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2017.

AZIZI, M. *et al.* Synthesis of silver nanoparticles using Peganum harmala extract as a green route. **Green Chemistry Letters and Reviews**, v.10, n.4, p.420-427, 2017.

BASAVEGOWDA, N. *et al.* Plant mediated synthesis of gold nanoparticles using fruit extracts of Ananas comosus (L.)(Pineapple) and evaluation of biological activities. **Advanced Materials Letters**, v.4, n.5, p.332-337, 2013.

BEYENE, H.D. *et al.* Synthesis Paradigm And Applications Of Silver Nanoparticles (AgNPs), A Review. **Sustainable Materials and Technologies**, v.13, p.18-23, 2017.

BIESAGA, M. Influence of extraction methods on stability of flavonoids. **Journal of Chromatography A**, v.1218, n.18, p.2505-2512, 2011.

BUSZEWSKI, B. *et al.* Antimicrobial Activity of biosilver nanoparticles produced by a novel *Streptacidiphilus durhamensis* strain. **Journal of microbiology, immunology and infection**, v.51, n.1, p.45-54, 2018.

CEDRIM, P.C.A.S.; BARROS, E.M.A.; NASCIMENTO, T.G. Antioxidant properties of acai (*Euterpe oleracea*) in the metabolic syndrome. **Brazilian Journal Of Food Technology**, v.21, , e2017092, 2018.

CIPRIANO, P.A. **Antocianinas de açaí (*Euterpe oleracea* Mart.) e casca de jaboticaba (*Myrciaria jaboticaba*) na formulação de bebidas isotônicas**. 2011. Dissertação de Mestrado (Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, Minas Gerais, 131 f.

COURA, M.F. *et al.* How To Obtain Gold Nanoparticles From Lemon Juice?. **Química Nova**, v.41, n.5, p.533-539, 2018.

DAKAL, T.C. *et al.* Mechanistic basis of antimicrobial actions of silver nanoparticles. **Frontiers in microbiology**, v.7, p.1831, 2016.

DISNER, G.R.; CESTARI, M.M. Nanociência & Nanotecnologia. **Evidência, Joaçaba**, v.16, n.1, p.71-76, 2016.

DURÁN, N. *et al.* Silver nanoparticles: A new view on mechanistic aspects on antimicrobial activity. **Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine**, v.12, n.3, p.789-799, 2016.

EMBRAPA - Agroindústria de Alimentos Amazônia Oriental. Práticas adequadas no manuseio de açaí. Disponível em https://www.agencia.cnptia.embrapa.br/Repositorio/BoasPraticas_Batedores_000gchwkf5i02wx5ok0rofsmqf30qlpk.pdf. Acesso em 26 de Janeiro de 2019.

FERREIRA, H.S.; VARELA, M.C.R.S Nanotecnologia: Aspectos Gerais e Potencial de Aplicação em Catalise. **Química Nova**, v.32, n.7, p.1860-1870, 2009.

GEOPRINCY, G. *et al.* A Review On Green Synthesis Of Silver Nanoparticles. **Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research**, v.6, n.1, p.8-12, 2013.

HAJIPOUR, M.J. *et al.* Antibacterial properties if nanoparticles. **Trends in biotechnology**, v.30, n.10, n.1, p.499-511, 2012.

HUBER, L.S; RODRIGUEZ-AMAYA, D.B. Flavonóis e Flavonas: Fontes brasileiras e fatores que influenciam a composição em alimentos. **Câncer**, v.19, n.1, p.97-108, 2008.

IBRAHIM, H.M.M. Síntese e caracterização verde de nanopartículas de prata utilizando extrato de casca de banana e sua atividade antimicrobiana contra microrganismos representativos. **Revista de Pesquisa de Radiação e Ciências Aplicadas**, v.8, n.3, p.265-275, 2015.

IRAVANI, S. Green synthesis of metal nanoparticles using plants. **Green Chemistry**, v.13, p.2638-2650, 2011.

JAIN, D. *et al.* Synthesis of plant-mediated silver nanoparticles using papaya fruit extract and evaluation of their anti microbial activities. **Digest Journal of Nanomaterials and Biostructures**, v.4, p. 557 - 563, 2009.

KĘDZIORA, A. *et al* Similarities and differences between silver ions and silver in nanoforms as antibacterial agents. **International Journal Of Molecular Sciences**, v.19, n.2, p.444, 2018.

KOUVARIS, P. *et al.* Green synthesis and characterization of silver nanoparticles produced using *Arbutus Unedo* leaf extract. **Materials Letters**, v.76, p.18-20, 2012.

KORA, A.J.; RASTOGI, L. Enhancement of antibacterial activity of capped silver nanoparticles in combination with antibiotics, on model gram-negative and gram-positive bacteria. **Bioinorganic Chemistry And Applications**, v.2013, p.1-7, 2013.

MARCONE, G.P. Nanotecnologia e Nanociência: Aspectos gerais, aplicações e perspectivas no contexto do Brasil. **Perspectivas da Ciência e Tecnologia**, v.7, n.2, p.1-24, 2015.

MELO JR, M.A. *et al.* Preparação de Nanopartículas de Prata e Ouro: Um método simples para a introdução de nanociência em laboratório de ensino. **Química Nova**, v.35, n.9, p.1872-1878, 2012.

NATSUKI, J.; HASHIMOTO, Y. A review of silver nanoparticles: synthesis methods, properties and applications. **International Journal of Materials Science and Applications**, v.4, n.5, p.325-332, 2015.

PAEPE, D.D *et al.* Thermal degradation of cloudy apple juice phenolic constituents. **Food chemistry**, v.162, p.176-185, 2014.

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

PANDEY, J.K. *et al.* Silver nanoparticles synthesized by pulsed laser ablation: as a potent antibacterial agent for human enteropathogenic gram-positive and gram-negative bacterial strains. **Applied biochemistry and biotechnology**, v.174, n.3, p.1021-1031, 2014.

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

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

REIDY, B. *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.

RESENDE, R.R. **Biotecnologia Aplicada à Agro&Indústria: Fundamentos e Aplicações**, 1 ed. Editora Edgard Blucher Ltda, v.4, cap.26, p.967, 2017.

SILVA, H.R. **Desenvolvimento Tecnológico De Formulações Contendo Extrato Etanólico Dos Frutos De *Euterpe oleracea* Mart. (AÇAÍ)**. 2017. Tese

de Doutorado (Inovação Farmacêutica) – Universidade Federal do Amapá, Macapá, 135 f.

ŠILEIKAITĖ, A. *et al.* Investigation of Silver Nanoparticles Formation Kinetics During Reduction of Silver Nitrate with Sodium Citrate. **Materials science (medžiagotyra)**, v.15, n.9, 2009.

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

SONG, J.Y.; KIM, B.S. Rapid biological synthesis of silver nanoparticles using plant leaf extracts. **Bioprocess and Biosystems Engineering**, v.32, n.1, p.79, 2009.

SPRENGER, L.K. *et al.* In vitro antibacterial effect of *Euterpe oleracea* Mart. and *Theobroma grandiflorum* hydroalcoholic extracts. **Archives of Veterinary Science**, v.21, n.2, 2016.

THAKKAR, K.N.; MHATRE, S.S; PARIKH, R.Y. Biological synthesis of metallic nanoparticles. **Nanomedicine: Nanotechnology, Biology, and Medicine**, v.6, n.2, p.257-262, 2010.

YAMAGUCHI, K.K. *et al.* Amazon Acai: Chemistry and biological activities: a review. **Food Chemistry**, v.179, p. 137-151, 2015.

YUN, H. *et al.* Antibacterial activity of CNT-Ag and GO-Ag nanocomposites against gram-negative and gram-positive bacteria. **Bulletin of the Korean Chemical Society**, v.34, n.11, p.3261-3264, 2013.