



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CENTRO DE CIÊNCIAS FÍSICAS E MATEMÁTICAS
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA

**QUÍMICA VERDE: SÍNTESE DE NANOPARTÍCULAS DE
PRATA UTILIZANDO EXTRATOS VEGETAIS**

ROSIANA ROCHO ROCHA

Florianópolis, novembro de 2010.

ROSIANA ROCHO ROCHA

**QUÍMICA VERDE: SÍNTESE DE NANOPARTÍCULAS DE PRATA
UTILIZANDO EXTRATOS VEGETAIS**

Relatório apresentado ao Departamento de
Química da Universidade Federal de Santa
Catarina, como requisito parcial da disciplina
de Estágio Supervisionado II (QMC 5512).

Orientador: Professor Dr. César Vitório Franco

Florianópolis, novembro de 2010.

ROSIANA ROCHO ROCHA

**QUÍMICA VERDE: SÍNTESE DE NANOPARTÍCULAS DE PRATA
UTILIZANDO EXTRATOS VEGETAIS**

Prof^a. Dra. Inês Maria Costa Brighente
Coordenadora de Estágios do Curso de Química-Bacharelado

Banca Examinadora:

Prof. Dr. César Vitório Franco
Orientador

Prof^a. Dr. Rosely Aparecida Peralta

Prof^a. Dr. Hérica Aparecida Magosso

Florianópolis, novembro de 2010.

DEDICATÓRIA

Dedico aos meus irmãos, Robson e Vitória, pois tenho amor maior do mundo! Vocês são minha inspiração e força para seguir em frente.

AGRADECIMENTOS

Agradeço aos meus pais pelo amor, carinho e apoio, mas principalmente pelos valores e conselhos valiosos. Amo vocês!

Ao meu namorado Guilherme pela compreensão, ajuda e por estar sempre ao meu lado. Obrigado por todo amor e carinho.

A minha amiga Fran, em especial, pela cumplicidade, amizade, carinho e por suas risadas maravilhosas que contagiam o meu dia.

A minha amiga Maisa, em especial, pelo companheirismo e amizade. Tenho um carinho enorme por você.

A minha amiga querida Mariane que apesar da distância sempre esteve ao meu lado. Te amo amiga.

A minha amiga Renata, obrigada por sua amizade tão especial.

As amigas Andressa, Daiane e Giovana pelas risadas, adoro vocês.

As amigas Ana e Thamara pela amizade e agradável convivência na universidade, ficarão sempre na lembrança.

Ao professor orientador César Vitório Franco pelos ensinamentos, e dedicação.

Aos colegas do LabSⁱⁿ: Walter, Raphael, Vanessa, Franciele, Márcia e Jéssica, obrigada pela ajuda.

Aos Colegas do LABQA-CAL por acreditarem e participarem deste projeto, principalmente a Prof^a. Dr. Roseane Fett coordenadora deste grupo de pesquisa.

Ao Luciano V. Gonzaga, pois não teria conseguido sem sua ajuda. Muito obrigada.

Ao Laboratório de Frutas e Hortaliças pelas análises de UV-Vísivel.

Ao Laboratório Central de Microscopia Eletrônica pelas análises de MET.

RESUMO

O uso de extratos vegetais na obtenção de nanopartículas de prata foi estudado com base nos princípios de química verde utilizando processos de síntese sem o uso de reagentes e solventes tóxicos aos seres humanos. Foram usados neste trabalho extratos de semente de uva Isabel (*Vitis labrusca* L.) e Pitaya (*Hylocereus polyrhizus*), que atuam como redutores e estabilizantes das nanopartículas, destacando a significativa atividade antioxidante que compõe estes vegetais. Os resultados obtidos mostraram que as nanopartículas apresentaram características morfológicas distintas para cada um dos extratos. As caracterizações foram realizadas através de técnicas como Espectroscopia UV-Vísivel, Microscopia Eletrônica de Transmissão (MET), ELS e Potencial Zeta. Constatou-se que as nanopartículas obtidas utilizando o extrato de semente de uva apresentaram forma esférica e menor tamanho, concordando com a banda de *plasmom* ressonante bem definida e com o histograma de distribuição de tamanho obtido por ELS e Potencial Zeta, que mostraram distribuição estreita de partículas. Entretanto as nanopartículas com extrato de Pitaya mostraram partículas maiores multi-geminadas e esféricas compondo pequenos grupos, tais formas geométricas distintas contribuem para o alargamento da banda de *plasmom* e para a característica multimodal do histograma de distribuição de partículas obtido por ELS e Potencial Zeta. Sendo assim, este estudo mostrou que as nanopartículas de prata obtidas com extrato de semente de uva Isabel apresentaram melhores características físicas e melhor estabilidade coloidal.

Palavras-chave: Química Verde, Nanopartículas de Prata, Extratos Vegetais;

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	9
2. REVISÃO DE LITERATURA	10
2.1. Química Verde: Síntese de Nanopartículas	10
2.2. Nanopartículas Metálicas	13
2.3. Atividade Anti-Séptica de Nanopartículas	15
2.4. Extratos Vegetais	16
2.4.1. Semente de Uva Isabel (<i>Vitis labrusca L.</i>)	16
2.4.2. Pitaya(<i>Hylocereus polyrhizus</i>)	17
3. OBJETIVOS	19
3.1. Objetivos gerais	19
3.2. Objetivos específicos	19
4. PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL	20
4.1. Preparo dos Extratos para Síntese	20
4.2. Síntese de Nanopartículas de Prata	20
4.2.1. Síntese de Nanopartículas de Prata com extrato de semente de Uva Isabel	21
4.2.2. Síntese de Nanopartículas de Prata com extrato de Pitaya	21
4.3. MATERIAIS	21
4.3.1. Reagentes	21
4.3.2. Equipamentos	21
4.4. TÉCNICAS DE CARACTERIZAÇÃO	22
4.4.1. Espectroscopia de UV-Vísivel	22
4.4.2. Microscopia Eletrônica de Transmissão	23
4.4.3. Difração de elétrons em MET	24
4.4.4. Potencial Zeta	25
4.4.5. Espalhamento Dinâmico da Luz - DLS	26
4.4.6. Determinação da atividade antioxidante dos Extratos	26

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	27
5.1. Atividade antioxidante dos Extratos	27
5.1.1. Semente de Uva Isabel	27
5.1.2. Pitaya	28
5.2. Nanopartículas de Prata	29
5.2.1. Nanopartículas de Prata com extrato de semente de Uva Isabel	29
5.2.2. Nanopartículas de Prata com extrato de Pitaya	36
5.3. Comparação entre AgNPs com extrato de Semente de Uva e Pitaya	42
6. CONCLUSÃO	43
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	44

1. INTRODUÇÃO

Manipular materiais, átomos e moléculas em tamanho nanométrico tem destacado inúmeras propriedades novas, que são dependentes do tamanho das partículas, oportunizando a exploração e criação de inovações tecnológicas. Para compreendermos a dimensão em que a nanotecnologia atua, o nanômetro (10^{-9}m) representa um bilionésimo do metro. Como comparativo, se uma nanopartícula fosse uma pequena moeda, uma bola de futebol seria do tamanho da Lua.

O estudo e a compreensão da matéria na escala nanométrica são os principais atributos da nanotecnologia, visando explorar e ampliar o potencial dos nanomateriais para que possam ser utilizados em tecnologias que possam beneficiar os seres humanos.

As partículas nanométricas não são algo totalmente novo, estão presentes na atmosfera e ocorrem naturalmente em erupções vulcânicas, queimadas e incêndios.

Assim, a exploração de nanopartículas metálicas, principalmente de prata e ouro, vem crescendo amplamente em áreas de contato direto com os seres humanos, como por exemplo: na medicina, em alimentos, no meio ambiente, em roupas, produtos de higiene pessoal e cosméticos, atuando de diversas maneiras inclusive no transporte de fármacos, ou agentes biologicamente ativos que podem combater células bactericidas, tumorais, entre outros.

No entanto ainda não existem informações e pesquisas suficientes para comprovar e avaliar quais os efeitos que a exposição à sistemas nanoparticulados pode ocasionar a saúde humana e ao meio ambiente. Assim sendo, visando minimizar os possíveis impactos que estes sistemas podem gerar, são crescentes os estudos sobre o uso e aplicações da química verde na escala nanométrica. [1,2] A síntese verde de nanopartículas se faz necessária para garantir a biocompatibilidade e biodisponibilidade das NPs para que entre em contato no corpo humano de modo não invasivo, tendo como foco principal

a produção de nanopartículas sem a utilização de solventes tóxicos, sem a geração de resíduos químicos, diminuindo os riscos à saúde e ao meio ambiente.

Os métodos de síntese biológicos - química verde - de nanopartículas utilizam microrganismos como fungos, enzimas, celulose, quitosana, mel, extratos de plantas e vegetais, sendo inúmeros os compostos que apresentam potencial para formar e estabilizar nanopartículas metálicas.

Este trabalho apresenta a síntese verde e caracterização de nanopartículas de prata utilizando extrato de semente de Uva Isabel e de Pitaya, estes extratos atuam como estabilizantes e redutores dos íons prata. Estes dois sistemas possuem uma infinidade de compostos, que são de extrema importância para os organismos vivos, cuja principal característica é a atividade antioxidante, proposto por ser responsável pela redução dos íons prata.

2. REVISÃO DA LITERATURA

2.1. Química Verde: Síntese de Nanopartículas

A química se situa no centro de todos os processos impactantes ao meio ambiente, afetando setores vitais da economia. Por esta razão nas últimas décadas a plena aceitação e adoção de um novo campo, a química verde, se devem ao esforço bem sucedido de acoplar os interesses da inovação química simultaneamente com a exploração de metodologias e técnicas químicas que reduzem ou eliminam o uso de solventes e reagentes ou a geração de produtos tóxicos, que são nocivos a saúde humana e ao meio ambiente. [4,5]

Utilizar os princípios da síntese verde em conjunto com a nanotecnologia oportuniza a capacidade de minimizar os possíveis impactos destes sistemas à saúde humana e ao meio ambiente, através de mecanismos sintéticos que proporcionem a criação de novos materiais sem o uso de fortes agentes redutores, polímeros, solventes, surfactantes, etc., e contribuindo para a redução de resíduos tóxicos gerados.

Portanto, aliada à química verde a nanotecnologia apresenta grande importância no desenvolvimento de tecnologia sustentável, possibilitando a nanociência explorar os recursos naturais, como extratos de plantas e vegetais, etc., ricos em compostos e substâncias de enorme importância para a vida.

Extratos provenientes de bioorganismos podem atuar como agentes redutores e estabilizantes na síntese de nanopartículas de prata. A redução dos íons Ag por conjuntos de moléculas encontradas nos extratos como enzimas, proteínas, amoniácidos, polissacarídeos e vitaminas é quimicamente benigna, resultando em um enorme volume de pesquisas bem sucedidas utilizando estes compostos.

Por exemplo, o extrato de algas verdes unicelulares *Chlorella vulgaris* foi utilizado para sintetizar nanopartículas de Ag a temperatura ambiente [7]. As proteínas presentes no extrato têm a dupla função de reduzir os íons Ag⁺ e controlar a forma na síntese nanopartículas de prata (AgNPs), devido aos

grupos carboxílicos nos resíduos aspártico e, ou glutamina, e os grupos hidroxila presentes na moléculas de tirosina existente nas proteínas dessa algas foram sugeridos por serem responsáveis pela redução da prata iônica.[2,7]

Philip D., estabilizou sistemas nanoparticulados de prata e ouro com extratos de uma cogumelo natural comestível, *Volvariella volvacea*, cuja dupla era de estabilizar e reduzir as nanoparticulas. [12] Em outra pesquisa, *Daizy Philip* sintetizou através um método simples e economicamente favorável nanoparticulas cristalinas de prata, com tamanho aproximado de quatro nanômetros com mel natural cultivado na Universidade Agrícola de Kerala. O mel tem sido objeto de estudo ao redor do mundo por apresentar vitaminas e minerais que são benéficos a saúde humana. [13]

Song e Kim preparam nanoparticulas de prata usando extratos de cinco plantas, onde eles compararam a estabilidade das partículas formadas através do tratamento de uma solução aquosa de nitrato de prata com os extratos como agentes redutores de Ag^+ para Ag^0 . Eles relatam que o tamanho das partículas pode ser alterado pela temperatura da reação e pelas concentrações dos extratos e da solução de $AgNO_3$, a espectroscopia UV-visível foi usada para monitorar a formação quantitativa das nanopartículas. [14]

Huang et al., utilizando folhas desidratadas de lixívia, *Cinnamomum Camphora*, mostraram ser possível sintetizar nanopartículas de ouro e prata em solução aquosa e condições ambientes. Este método sintético com extrato de planta ou biomassa exemplifica a aplicação promissora dos recursos biológicos vegetais para síntese de nanopartículas metálicas. [11]

Ahmad et al., apresentaram a biossíntese de NPs usando microrganismos, principalmente se concentrando no uso de fungos. Eles observaram que quando exposta ao fungo *Fusarium oxysporum* uma solução aquosa de prata iônica sofreu redução levando à formação de AgNPs. Acredita-se que a redução dos íons metálicos ocorre por um processo enzimático envolvendo NADH-redutase, possivelmente liberada em solução. [9]

2.2. Nanopartículas Metálicas

O cenário científico atual revela um grande número de estudos e publicações relacionadas a nanotecnologia. O interesse na criação e desenvolvimento de nanopartículas se deve às propriedades físicas inexploradas, bem como propriedades intrínsecas dos materiais que são aprimoradas principalmente com base em características específicas, tais como: tamanho, distribuição, morfologia, composição, cristalinidade e estrutura. [15,16]

É fato que a nanociência tornou-se um campo promissor devido à capacidade atual de estudar e caracterizar os materiais, por meio de técnicas como microscopia eletrônica de transmissão, espectroscopia de UV-visível, difração de elétrons, Potencial Zeta, entre outras. Desse modo, a investigação de propriedades como o efeito da superfície *plasmom* em NPs metálicas, a possibilidade de liberação de fármacos, a atividade antibacteriana e o aumento da força de catálise, são amplamente compreendidos e observados. Estes resultados estão chamando atenção principalmente no que se refere ao processo de obtenção de NPs.

Diversas estratégias químicas (*bottom up*) e físicas (*top down*) são empregadas em síntese de NPs. O conceito de *bottom up*, do inglês “de baixo para cima” descreve a construção de dispositivos a partir de átomos e moléculas ligados quimicamente. As estruturas são observadas como versáteis “blocos de construção” para obtenção de dispositivos nanométricos, por exemplo, a funcionalização de um substrato com moléculas de propriedades e funções específicas. Entre os métodos *top down*, do inglês “de cima para baixo” existem técnicas como a nanolitografia, sonólise e a coevaporação. [17]

Nanopartículas metálicas podem ser facilmente preparadas pela redução de seus respectivos sais em solução aquosa [18]. A reação ocorre quase que instantaneamente e partículas pequenas geralmente menores que 100 nm são obtidas. A redução destes sais geralmente ocorre na presença de agentes redutores e estabilizantes, que têm a função de tornar termodinamicamente

estáveis às partículas, evitando sua aglomeração e crescimento. Os estabilizantes funcionalizam as superfícies das nanopartículas tornando-as compatíveis em sistemas biológicos e potencializando características como efeito bactericida existentes em sistemas coloidais contendo íons metálicos de prata.

Além de controlar a distribuição de tamanho médio das partículas, os estabilizantes têm função moderadora quanto a sua forma geométrica e este fator implica diretamente sobre as propriedades ópticas destes sistemas nanoparticulados.

Quando irradiadas com luz, NPs de metais como prata, cobre e ouro tem absorções bem definidas em regiões distintas do espectro visível, denominadas bandas *plasmom*. Esta ressonância é decorrente da alta razão superfície/volume destas nanopartículas, e ocorre devido à oscilação coletiva dos elétrons de condução em resposta a excitação óptica promovida pela aplicação de um campo eletromagnético externo, como esquematizado na Figura 1. [17-19]

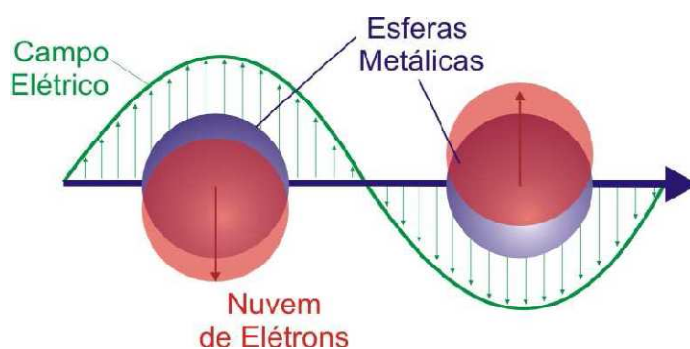


Figura 1: Ilustração da oscilação *plasmom* ressonante para uma esfera, mostrando o deslocamento da nuvem dos elétrons de condução relativa à partícula. [17]

Diversos trabalhos descritos na literatura revelam a importância da banda *plasmom* como técnica qualitativa para investigar os sistemas onde se encontram as NPs, pois o comprimento de onda de oscilação na absorção *plasmom* é dependente de inúmeros fatores, entre eles o tamanho médio das partículas, a forma geométrica e o meio onde se encontram estes sistemas coloidais. [17-19]

A pesquisa de *Levin e colaboradores* [20] relata a combinação de propriedades ópticas e de ressonância magnética em uma nanoestrutura única,

realizada pelo crescimento de uma camada de ouro, “casca”, em torno de núcleos de nanopartículas de óxido de ferro magnética, onde os autores observaram que a medida que a espessura da casca aumentava, as bandas de plasmon se deslocavam para comprimentos de onda maiores.

2.3. Atividade antimicrobiana de Nanopartículas de Prata

A prata coloidal apresenta ação contra diversos microorganismos como bactérias (Gram-positivas/ negativas) como: *E. coli*, *S. aureus*, *S. pneumoniae*, fungos e vírus. O efeito bactericida dos íons prata foi quantificado pela primeira vez pelo cientista suíço *Karl Wilhelm Von Naegelis*, em 1983 contra células eucarióticas e procarióticas de algas. [23, 21]

Adicionalmente, a prata é o metal que apresenta a menor toxicidade para as células animais, pois a concentração efetiva contra microorganismos é de $0,1 \mu\text{g.L}^{-1}$, enquanto para seres humanos a concentração tóxica é 10 mg.L^{-1} . A dependência com o tamanho permite que as AgNPs potencializem tais propriedades [17, 24]. No entanto, ainda precisam ser ampliados os estudos com a relação à toxicidade e bioacumulação da prata no organismo humano.

Nanopartículas de prata de 1 a 100 nanômetros em contato com bactérias são encontradas nas membranas e no interior das células bacterianas, pois estas partículas têm grande afinidade por grupos onde se encontram os elementos químicos enxofre e fósforo que constituem estes microorganismos. A interação da prata com a membrana destas células causa danos no processo de respiração celular e, no interior das mesmas, ligando-se com o DNA impedindo a divisão celular [22].

Estudos revelam que a liberação dos íons metálicos presentes na superfície das NPs reagem com os grupos tiol e sulfidril (-SH) presente nas proteínas, diminuindo a permeabilidade da membrana celular, ocasionando a morte celular. A reação da Ag^+ com o grupo -SH, produz o grupo (-Ag-S) muito estável na superfície bacteriana.

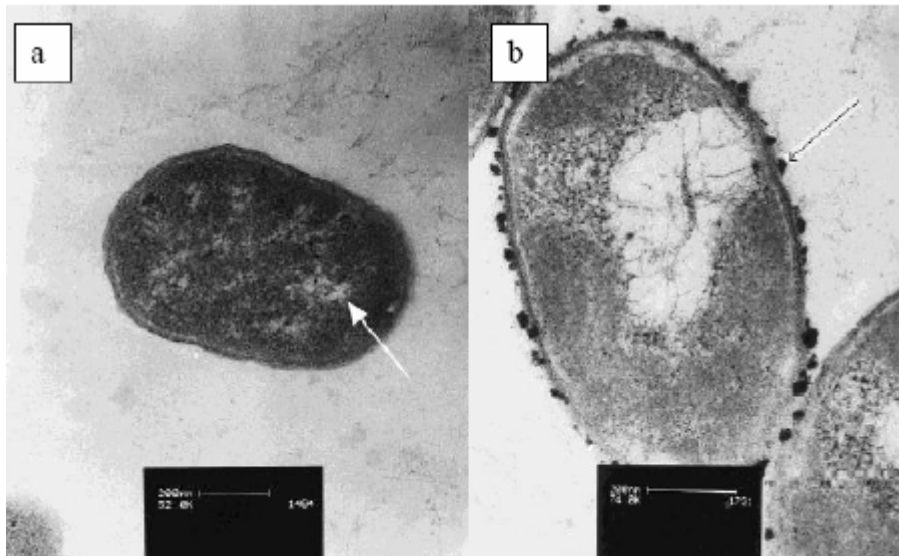


Figura 2: (a) Célula *E. coli* saudável. (b) Célula *E. coli* tratada com Ag^+ . [17,23]

Na figura 2(a) observa-se uma célula de *Escherichia Coli* em estado normal. Na figura 2(b) após o tratamento do microorganismo *Escherichia Coli* submetido ao tratamento com íons prata em excesso, onde se observa que somente a superfície da célula contendo os grupos sulfrídrida foi afetada pelos íons Ag^+ , ou seja, nesse estudo constatou-se a ausência de prata no interior da célula, indicando possivelmente que somente bactérias e vírus sofrem ação da prata monovalente. [17, 23].

2.4. Extratos Vegetais

2.4.1. Semente de Uva Isabel (*Vitis labrusca L.*)

A composição de semente de uva é basicamente 40% de fibra, 16% de óleo essencial, 11% de proteína, 7% de compostos fenólicos complexos como taninos, açúcares, sais minerais e outras substâncias [26]. Óleo de semente de uva é constituído principalmente de triglicerídeos, rico em ácidos graxos insaturados, como o ácido linoléico e oléico, em comparação com outras sementes oleaginosas [27].

Os poli-insaturados, como ácido linoléico e linolênico, essenciais para o metabolismo humano devido a ausência de enzimas responsáveis pela síntese de ácidos graxos.



Figura 3: Semente de Uva Isabel (*Vitis labrusca L.*)

Extratos obtidos de sementes de uva têm sido utilizados como antioxidantes naturais, principalmente em virtude da sua grande quantidade de compostos fenólicos. Tem havido também um interesse crescente no uso de extratos de sementes de uva como compostos antimicrobianos naturais com o intuito de substituir os aditivos sintéticos. [25,26.27]

2.4.2. Pitaya (*Hylocereus polyrhizus*)

Pitaya é um fruto de diversas variedades de cactos nativos do México, América Central e do Sul. A pele do fruto é coberta com brácteas daí o nome popular fruta do dragão [29,30] como pode ser vista na figura 4.



Figura 4: Pitaya (*Hylocereus polyrhizus*)

Os frutos dos cactos *Hylocereus*, conhecido como Pitaya vermelha recentemente chamou a atenção de produtores de todo o mundo, não só

devido à sua cor vermelha púrpura e valor econômico, mas também pela atividade antioxidante do conteúdo betacianina [28].

A fruta do dragão tem sido relatada como uma fonte de beta-caroteno, licopeno e vitamina E. As sementes têm teor de óleos que apresentam número significativo de poli-insaturados, 50% de ácidos graxos essenciais, 48% de ácido linoléico e 1,5 % de ácido linolênico [29].

A compreensão científica de sementes de Pitaya e seu óleo são mínimos. Dificuldade na separação e recuperação de sementes pode ser atribuída à polpa altamente gelatinosa que é constituída de carboidratos (hemicelulose, celulose) e polímeros sacarídeos simples [29].

Os extratos vegetais apresentam algumas desvantagens, sendo que a principal é o fato de serem quimicamente instáveis. Em solução sofrem oxidação, envolvendo a perda de átomos de hidrogênio aos compostos fenólicos. Uma série de fatores, incluindo a concentração de oxigênio e pH, influenciam a estabilidade de extratos vegetais [27].

3. OBJETIVOS

3.1. Objetivo geral

Este trabalho tem como objetivo principal preparar emulsões de nanopartículas de prata aquosas utilizando fundamentos de química verde, empregando extratos vegetais de semente de Uva Isabel e Pitaya que têm ação redutora e estabilizante.

Efetuar as caracterizações e avaliar a estabilidade coloidal das nanopartículas.

3.2. Objetivos específicos

Aperfeiçoar metodologias para síntese de nanopartículas em meio aquoso usando como redutores e estabilizantes os extratos de Pitaya (*Hylocereus polyrhizus*) e de semente de uva Isabel (*Vitis labrusca* L.);

Monitorar a atividade antioxidante dos extratos;

Estudar a estabilidade das soluções coloidais das nanopartículas obtidas, usando espectroscopia de UV-Visível e Microscopia Eletrônica de Transmissão – MET, Potencial Zeta, ELS.

Verificar por MET e comparar as morfologias apresentadas por estas nanopartículas.

Comparar os resultados obtidos por cada extrato.

4. PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL

4.1. Preparo dos extratos para síntese

As frutas após coletadas e identificadas são encaminhadas ao Laboratório de Química de Alimentos - CAL/CCA/UFSC. Em seguida é feita a liofilização e posterior armazenagem a - 20°C.

Para a biossíntese de nanopartículas de prata, as frutas são trituradas e sua granulometria é ajustada para 60 *mesh*. Os extratos em pó (1 g) são extraídas com 50 mL de água ultra pura, em temperatura ambiente, por 60 minutos, em sistema de ultrassom e centrifugadas a 5.000 RPM. O sobrenadante será aplicado como agente redutor e estabilizador para a síntese das NP's de Ag.

4.2. Síntese de Nanopartículas de Prata

Inicialmente a síntese das nanopartículas foi feita através de uma solução aquosa de AgNO₃ 100 ppm, utilizando dois diferentes extratos naturais de semente de uva Isabel e Pitaya. A adição dos extratos ocorreu em proporções 0,5 mL de extrato para 10 mL de nitrato de prata, com adição lenta e gotejante. As sínteses coloidais foram submetidas às temperaturas de 45°C, 55°C e 65°C, durante 6 horas ou até apresentar cor amarela, o que revela a completa redução dos íons prata e formação das nanopartículas. Para cada hora reacional, uma alíquota foi separada para análises de espectroscopia de UV-Vísivel.

Definiu-se o melhor sistema reacional para cada extrato, considerando o maior custo benefício dos produtos obtidos em relação ao tempo, temperatura e bandas *plasmom*, observando mudanças na coloração e presença de precipitado.

4.2.1. Síntese de Nanopartículas de Prata com Extrato de Uva Isabel

A síntese das nanopartículas foi feita através de uma solução aquosa de AgNO_3 onde realizou-se a adição lenta e gotejante do extrato. Este sistema se manteve por 2 horas sob agitação e temperatura de 55 °C.

4.2.2. Síntese de Nanopartículas de Prata com Extrato de Pitaya

A síntese das nanopartículas foi feita através de uma solução aquosa de AgNO_3 onde realizou-se a adição lenta e gotejante do extrato. Este sistema se manteve por 2 horas sob agitação e temperatura de 65 °C.

4.3. Materiais

4.3.1. Reagentes

O reagente utilizado neste trabalho foi o sal de prata (AgNO_3). Fabricante VETEC.

4.3.2. Equipamentos

Estão listados na tabela abaixo, os equipamentos utilizados na realização dos procedimentos experimentais deste trabalho.

Tabela 1. Equipamentos utilizados na realização do trabalho.

Equipamentos	Fabricante	Modelo
Espectrofotômetro UV-visível	HITACHI	U-1800
Ultra-som	Servilab	
Agitador mecânico	Dist	
Centrífuga	Qhimis	
Balança analítica	SHIMADZU	AY220
Microscópio Eletrônico de Transmissão- MET	JEM	1011
Zetasizer Nano	Malvern	Zetasizer Nanoseries

4.4. Técnicas de Caracterização

Com a intenção de monitorar a morfologia, o diâmetro, a distribuição de tamanho, e a estabilidade das nanopartículas, foram utilizadas diversas técnicas de caracterização.

4.4.1. Espectroscopia de UV-Visível

As diversas colorações das nanopartículas podem ser atribuídas ao conhecido efeito *plasmon* ressonante de superfície, que é a excitação coletiva dos elétrons na interface entre um condutor e um isolante. [38]

Medidas de absorção de luz pelo *plasmon* de nanopartículas metálicas podem ser obtidas nas regiões do ultravioleta, visível e infravermelho próximo. O aumento no tamanho das partículas resulta em um deslocamento da banda do *plasmon* de superfície do metal para a região espectral de maior comprimento de onda. [4, 20]

As partículas nanométricas de prata foram monitoradas em um espectrômetro de UV-visível (U-1800 - HITACHI), onde se pôde observar a largura e o deslocamento da banda.

4.4.2. Microscopia Eletrônica de Transmissão (MET)

Um microscópio eletrônico de transmissão consiste de um feixe de elétrons e um conjunto de lentes eletromagnéticas, que controlam o feixe, encerrados em uma coluna evacuada á pressão reduzida. [39]

Este microscópio possui uma resolução subnanométrica e é considerado um importante instrumento na caracterização de materiais nanoestruturados [39-40].

As imagens observadas no MET são projeções de uma determinada espessura do material, havendo uma diferença com relação ao observado na superfície. Portanto, as imagens são formadas por uma projeção das linhas, áreas e volumes de interesse, podendo ocorrer superposição.

Para que uma amostra possa ser analisada por MET é necessário que ela possua alguns nanômetros de espessura, seja limpa, condutora ou estável sob a ação do feixe. [39,40]

O método de preparação de amostras de NPs coloidais para MET é conduzido pelo depósito de uma gota da solução em um filme de carbono amorfo (com 3-5 nm de espessura) sustentado em uma grade de cobre com três milímetros de diâmetro (com 300-400 *mesh*). A amostra fica inteiramente pronta quando o solvente evapora completamente. Devido à rugosidade natural do filme de carbono e da diferença de contraste com a nanopartícula, o limite mínimo de detecção é 1 nm de diâmetro [10].

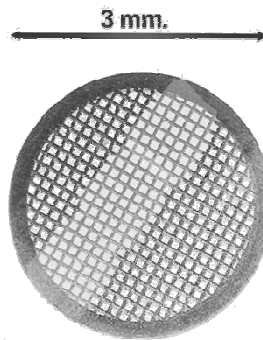


Figura 5: Representação da grade de amostra para MET.[11]

A figura 5 representa a grade de carbono amorfo onde a amostra é gotejada e depois inserida no microscópio.

Todo o estudo de caracterização usando MET foi feito no Centro de Microscopia Eletrônica (LCME) da UFSC, em um equipamento JEM 1011.

4.4.3. Difração de elétrons em MET

A análise das figuras de difração permite a determinação da estrutura cristalina assim como a orientação da micro região analisada [38].

O diagrama de difração de um cristal corresponde aproximadamente a uma secção plana através do espaço recíproco, perpendicular ao feixe incidente. A figura 6 mostra os principais tipos de padrão de difração que podem ser obtidas para os diferentes materiais: monocristais, policristais e materiais amorfos [38].

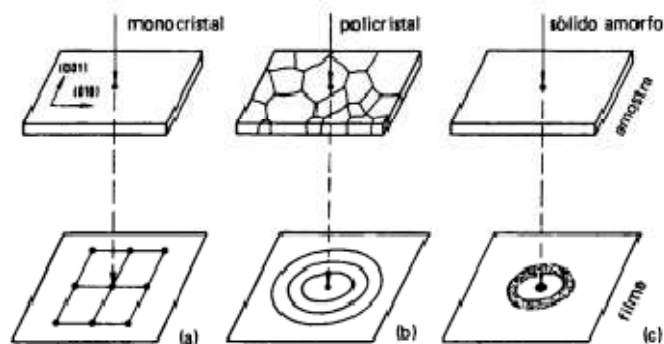


Figura 6: Imagens características de difração. [26]

Como mostrado na figura 6, nota-se que para sólidos amorfos ocorre uma distribuição uniforme de elétrons. Já para sólidos cristalinos a estrutura periódica funciona como uma rede de difração, o espalhamento dos elétrons ocorre de maneira previsível, onde pode ser possível determinar a estrutura do cristal através do padrão de difração [39].

4.4.4. Potencial Zeta

As partículas em suspensão possuem uma carga de superfície, pela presença de grupos ionizáveis ou adsorção de espécies carregadas. Dessa forma, o potencial zeta é função da carga superficial da partícula, de qualquer camada adsorvida na interface com o meio e da natureza e composição do meio que a circunda.

Esse potencial pode ser determinado experimentalmente e, como ele reflete a carga efetiva nas partículas, ele se correlaciona com a repulsão eletrostática entre elas e com a estabilidade da suspensão. Desse modo, quanto maior o potencial zeta mais provável que a suspensão seja estável, pois as partículas carregadas repelem umas às outras. [39]

A estabilidade de partículas ocorre quando o valor do potencial Zeta é menor ou igual a -30 mV ou maior igual a 30 mV, caso contrário, a aglomeração irá ocorrer, sendo que a velocidade de aglomeração é aumentada quanto mais próximo de zero for o potencial Zeta [38].

O equipamento utilizado foi o Zetasizer Nanoseries da Malvern Instruments capaz de determinar tamanhos de 0,6 nm até 6 μm

4.4.5. Espalhamento Dinâmico da Luz – ELS

A técnica de espalhamento dinâmico da luz (Dynamic Light Scattering) mede de modo não invasivo o tamanho das partículas em regiões sub-micrométricas.

Devido ao movimento Browniano, a intensidade da luz espalhada por um conjunto de partículas sofre flutuações ao longo do tempo. Esta flutuação da intensidade de luz espalhada ocorrerá com maior velocidade quando a dispersão contiver partículas pequenas, pois estas se movimentam mais rapidamente dentro de um intervalo de tempo. [40, 41]

Desse modo é possível utilizar a teoria de Stokes-Einsten e obter uma estimativa do tamanho do raio hidrodinâmico das partículas. O equipamento usado nas medidas de Potencial Zeta foi utilizado também nas medidas de ELS, o Zetasizer Nanoseries da Malvern Instruments.

4.4.6. Determinação da atividade antioxidante dos extratos

A determinação da atividade antioxidante foi avaliada de acordo com método DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazila) que refere-se a capacidade dos antioxidantes presentes nas amostras de seqüestrar o radical estável DPPH[•]. Este método será aplicado de acordo com a metodologia desenvolvida por Brand-Williams *et al.* A medida de absorbância será realizada no comprimento de onda de 517 nm, do radical antes de adicionar a amostra (A_0) e após a adição da amostra a 30 minutos de reação (A_f). A concentração de DPPH[•] no meio de reação será calculada a partir a curva de calibração e os resultados serão expressos em TEAC (μMol de equivalentes trolox por grama de peso fresco).

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. Atividade antioxidante dos Extratos

5.1.1. Semente de Uva Isabel

A atividade antioxidante observada para este extrato pode ser explicada pelo alto teor de compostos fenólicos. Os compostos fenólicos individuais quantificados incluem catequina, epicatequina, t-resveratrol e o ácido clorogênico, (tabela 2).

Tabela 2: Compostos fenólicos e atividade antioxidante do extrato da semente de uva Isabel (*Vitis labrusca* L.).

Fenólicos Totais (mg EC ¹ /100 g dw)	2128 ± 19
Flavonóides Totais (mg EC ¹ /100 g dw)	1188 ± 25
Catequina (mg /100 g dw)	24.12 ± 0.37
Epicatequina (mg ¹ 100 g dw)	17.78 ± 0.14
t-Resveratrol (mg /100 g dw)	3.75 ± 0.08
Ácido Clorogênico (mg /100 g dw)	4.62 ± 0.02
DPPH (μmol ET ² /100 g dw)	2694 ± 32

¹ EC = Equivalente Catequina / ² ET= Equivalente Trolox

A catequina foi o mais abundante composto fenólico quantificado no extrato de semente de uva. Uma quantidade menor de epicatequina foi detectada no extrato.

A presença de t-resveratrol era esperada, pois foi identificado em mais de 70 espécies de plantas, incluindo as uvas, amendoim, frutas, vinho tinto e amoras. Estudos têm demonstrado que o resveratrol é um potente antimutagênico, antioxidante, antiinflamatório e antiproliferativo, bem como um inibidor da ciclooxigenase e hidroperoxidase em diversos sistemas experimentais [30].

O conteúdo total de flavonóides representa mais de 55% do total teor de compostos fenólicos e confirma que os extratos de semente de uva são uma rica fonte de catequina e epicatequina [31].

Outros compostos fenólicos detectados e quantificados no extrato de semente de uva foram o ácido clorogênico, um éster do ácido caféico e ácido quínico, que é considerado um polifenol abundante na dieta humana, com café, frutas, legumes e sendo suas principais fontes [32].

5.1.1. Pitaya

Os padrões de distribuição quali-quantitativa variaram consideravelmente entre a polpa e a semente. A Tabela 3 mostra o teor de atividade antioxidante das partes da fruta e apresenta diferentes métodos e extrações com solventes. A semente expressa uma concentração significativamente mais elevada de compostos fenólicos e maior atividade antioxidante em comparação com a polpa.

O extrato da polpa de Pitaya aquoso teve uma atividade antioxidante semelhante em todos os extratos metanólicos sendo que estes apresentaram os maiores valores de atividade antioxidante na polpa.

Tabela 3: Atividade antioxidante e compostos fenólicos do extrato de Pitaya.

Solventes de diferentes polaridades	Atividade Antioxidante ($\mu\text{g Trolox. } 100\text{g}^{-1}$)
Polpa	
Metanol - HCl 0.1M agitação	118.30 \pm 30.41
Acetona 80% agitação	109.38 \pm 18.56
Metanol - HCl 0.1M ultrassom	123.20 \pm 12.17
Acetona 80% ultrassom	16.85 \pm 2.13
Semente	
Metanol - HCl 0.1M agitação	3261.22 \pm 22.33
Acetona 80% agitação	809.54 \pm 10.34
Metanol - HCl 0.1M ultrassom	915.17 \pm 9.58
Acetona 80% ultrassom	3620.29 \pm 25.87

5.2. Nanopartículas de Prata

Com o intuito de avaliar os benefícios destas soluções coloidais aplicadas diretamente aos seres humanos, serão testadas futuramente por este grupo de pesquisa as atividades antioxidante e antimicrobiana das AgNPs.

5.2.1. Nanopartículas de Prata com extrato de semente de uva Isabel

A solução coloidal das nanopartículas de prata obtidas utilizando extrato de semente de uva Isabel, como descrito no item 4.2.1., apresentou coloração amarela após aproximadamente 36 horas do término das reações, revelando lenta a redução sofrida pelos íons prata.

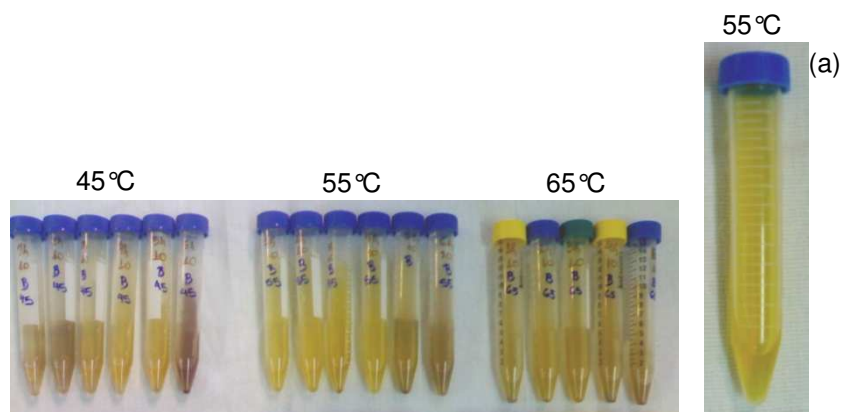


Figura 7: Imagens das AgNPs com extrato de semente de Uva Isabel.

(a) Imagem ampliada das AgNPs.

Na figura 7, verificam-se imagens das nanopartículas de prata aquosas estabilizadas e reduzidas pelo extrato de semente de uva Isabel para as temperaturas de 45°C, 55°C e 65°C, onde se pode observar que existem colorações mais escurecidas e presença de precipitado em alguns tubos Falcon, principalmente para as temperaturas de 45°C e 65°C indicando que o extrato não estabilizou a suspensão de nanopartículas.

Alíquotas das três temperaturas onde o tempo de reação ultrapassou três horas, também apresentaram os mesmos aspectos.

As imagens vistas na figura 8 mostram as bandas de *plasmom* ressonante na figura 8A para as nanopartículas de prata com o extrato de semente de uva Isabel nas três temperaturas de síntese.

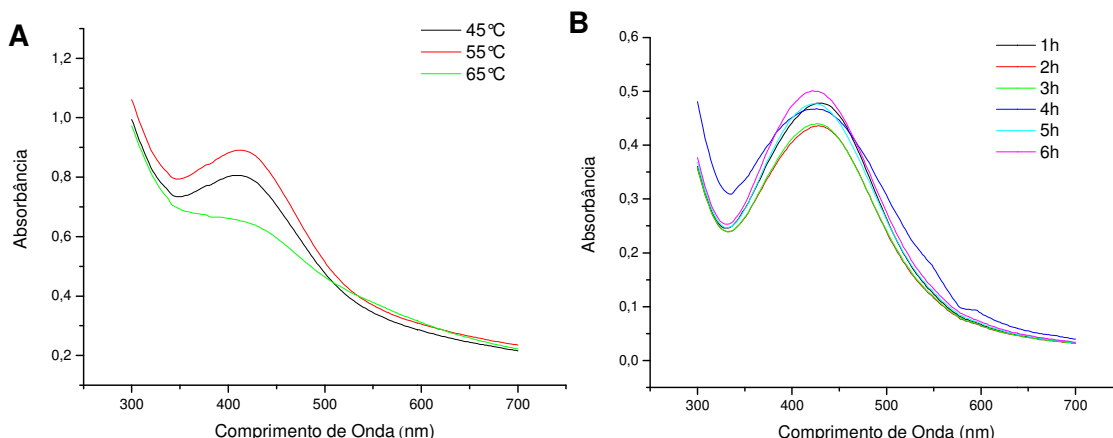
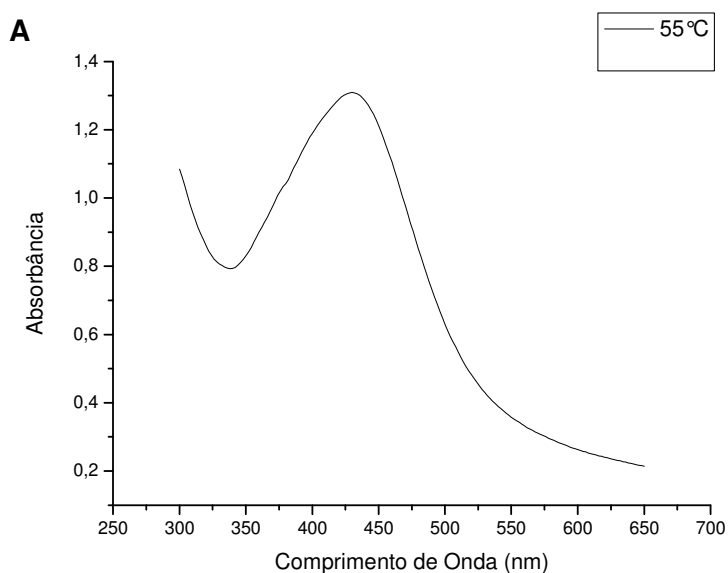


Figura 8: (A) Espectros de UV-vis das AgNPs com extrato de semente de Uva Isabel, nas temperaturas de 45°C, 55°C e 65°C. (B) Espectros de UV-vis das AgNPs nos tempos de 1 a 6 horas na temperatura de 55°C.

Observando os espectros de UV-visível da figura 8A, se observa que as bandas apresentam a absorção máxima próximo a 400 nm, região característica da prata como descrito na literatura [36]. É possível apontar a temperatura de 55°C como ideal neste sistema para obtenção das AgNPs aquosas, pois a banda de *plasmom* para esta temperatura se mostrou mais definida.

A partir desta temperatura, realizou-se também um estudo do tempo de reação. Na figura 8B verificam-se as bandas de *plasmom* para tempos de 1 a 6 horas de reação. Nos tempos superiores a 3 horas nota-se o alargamento das bandas de *plasmom* e certa deformidade, com o passar do tempo ocorrem modificações estruturais nos compostos presentes no extrato, ocasionando possíveis aglomerações e coalescência entre as partículas.

O espectro de UV-Visível na figura 9A é um caso ilustrativo de banda *plasmon* para as nanoparticulas de prata com extrato de semente de Uva Isabel na temperatura de 55°C e tempo de reação de 2 horas. Estes parâmetros foram escolhidos com base nas observações de propriedades como coloração, presença de precipitado e as bandas de *plasmom*, já que estas se mostraram coerentes com dados presentes na literatura.



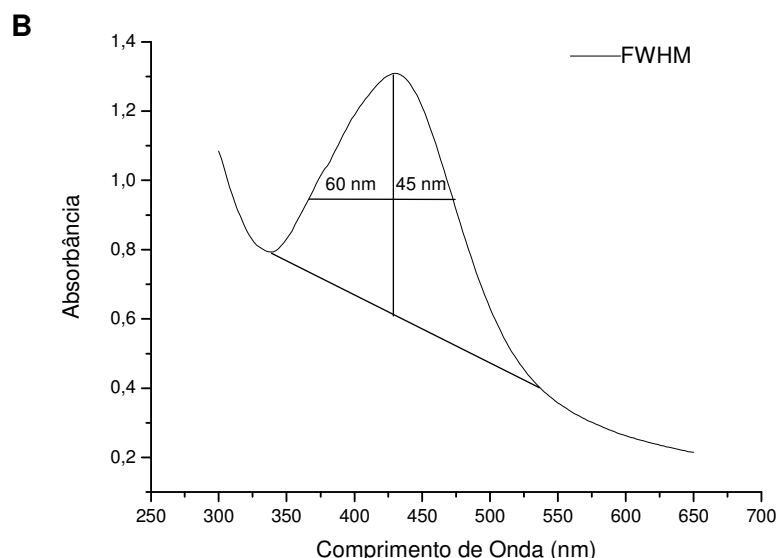


Figura 9: **A** Espectro de UV-vis das AgNPs com extrato de semente de Uva Isabel, na temperatura de 55 °C. **B** Cálculo da largura à meia altura (FWHM).

O espectro obtido revela absorção máxima em 420 nm, corroborando com a teoria de Mie que prevê um pico acentuado na faixa entre 380 a 420 nm [37].

O alargamento na banda de *plasmom* ocorre possivelmente pela aglomeração e pela presença de tamanhos variados das nanopartículas, porém se verifica na figura 9 que o espectro de UV-Visível apresenta também um leve afinamento na banda na região de máxima absorvância. Na figura 9 B se observa o cálculo da largura à meia altura (FWHM -Full width at half maximum) de 105 nm quase simétrico caracterizando AgNPs com superfícies regulares e distribuição de tamanho de partículas dentro de uma faixa estreita de valores como pode ser visto no histograma de tamanho de partículas da figura 13 obtido por ELS.

Comprova-se a morfologia e o tamanho das AgNPs sugeridas pela Espectroscopia de UV-Vis através das imagens de Microscopia Eletrônica de Transmissão- MET, figura 10.

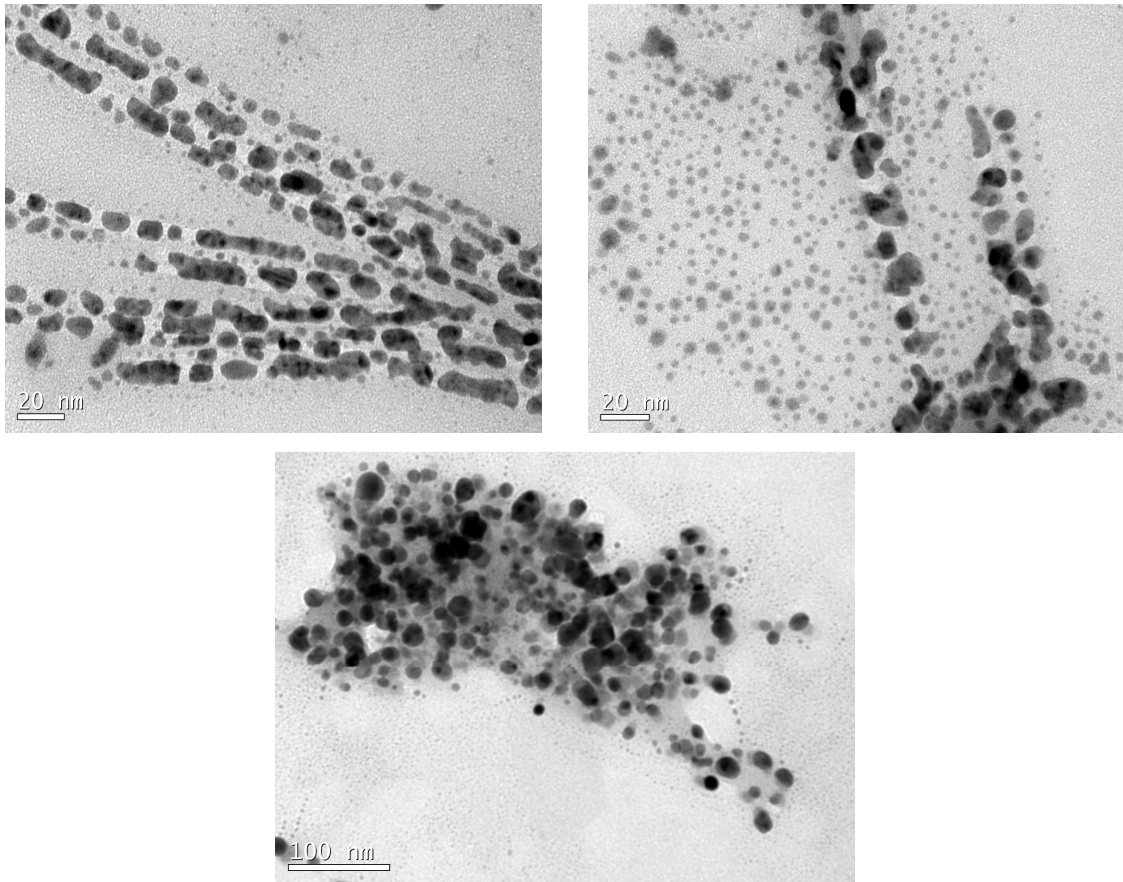


Figura 10: Imagens de MET das AgNPs.

As imagens na figura 10 mostram a que morfologia predominante é de forma esférica. Observa-se também a ocorrência de fusão e coalêscencia de algumas partículas.

Na figura 11 se verifica o histograma e a imagem MET das nanopartículas de prata obtidas a partir do extrato de semente de uva Isabel. O histograma foi obtido através contagem das nanopartículas pelo software *Image J*. Os valores encontrados para a imagem 11 (b) são inferiores a 10 nm. Na contagem foram rejeitadas nanopartículas com tamanho inferior a 1 nm pois formam nuvens e não são reconhecidas pelo software.

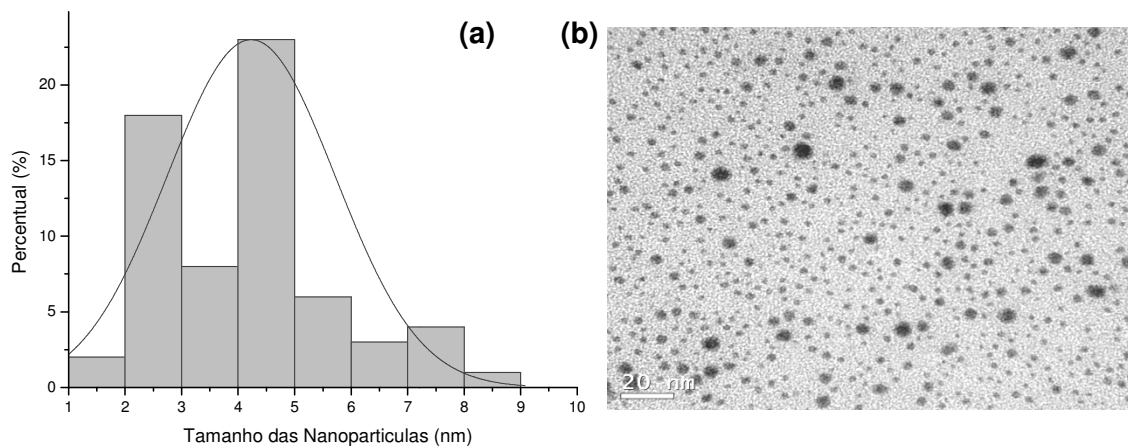


Figura 11: (a) Histograma de distribuição de tamanho das nanopartículas de prata ajustado por função lognormal e (b) Imagem de MET das AgNPs.

A técnica microscópica *bright-field* é de todas as técnicas de iluminação a mais simples. A amostra é iluminada por baixo e o contraste de luz branca na amostra é causado pela absorção de parte da luz transmitida em áreas densas da amostra. A aparência típica de uma imagem de microscopia de *bright-field* é uma amostra escura sobre um fundo claro, como visto na figura 12 para as nanopartículas de prata [11].

Já o modo de *dark-field*, há uma abertura na lente fazendo com que novas imagens se revelem por diferentes escolhas do feixe difratado [11].

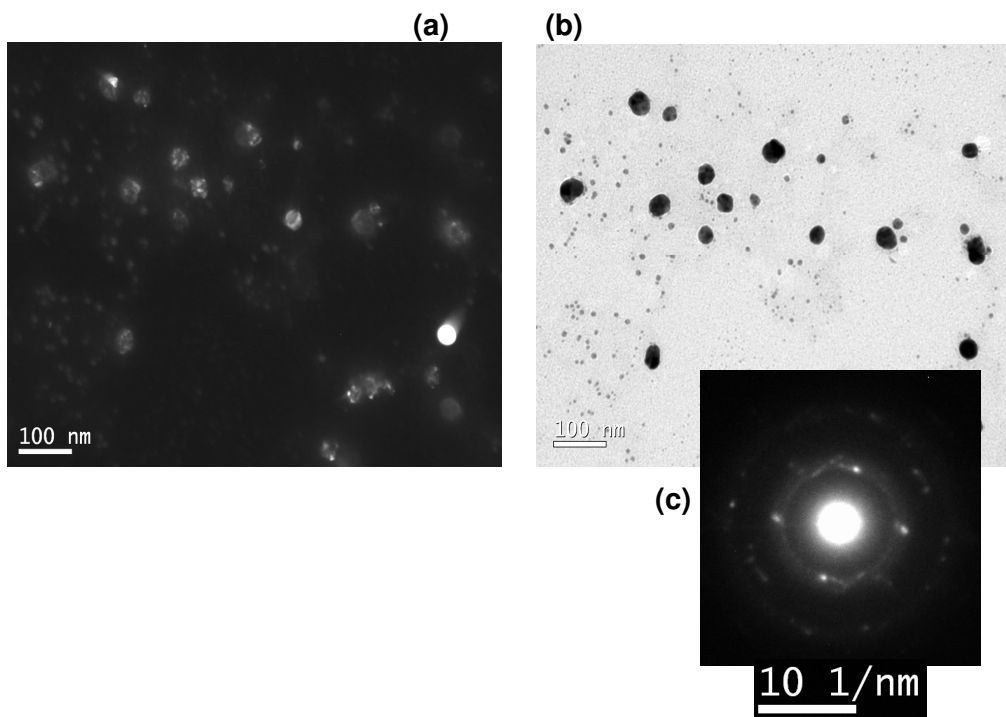


Figura 12: Micrografias das AgNPs utilizando: (a) *dark-field* e (b) *bright-field* (c) difratometria.

As imagens de microscopia da figura 12 são referentes as técnicas de *dark-field* e *bright-field* para as nanopartículas de prata estabilizadas e reduzidas pelo extrato de semente de uva Isabel, onde se observa nanopartículas de forma esférica com variada distribuição de tamanho. A difratometria de elétrons na figura 12 (c) informa o caráter policristalino das nanopartículas.

Na figura 13 (a) se verifica o histograma gerado através da análise de ELS, e este apresenta distribuição de tamanho de partículas monomodal quase simétrica, com partículas de dimensões entre 6,5 nm até 11,70 nm exibindo máximo em 8,72 nm representando 39,6% da população de partículas. Esses dados corroboram com o a curva monomodal de potenciais Zeta da figura 13 (b) que cobre uma faixa de - 64,5 mV até -19,6 mV com máximo em -42 mV.

Nos resultados mostrados na figura 13 (b) pode se observar que algumas partículas apresentam um maior valor de potencial Zeta, sendo desse modo sistemas mais estáveis na forma de NPs. Verifica-se, porém, que uma

fração das NPs apresenta um menor valor de potencial Zeta o que sugere a tendência á aglomeração destas partículas.

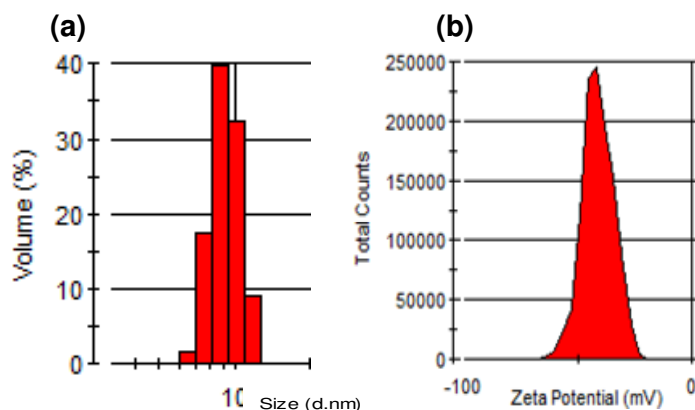


Figura 13: (a) Histograma de distribuição de tamanho obtido por análise de ELS e (b) pico de Potencial Zeta das AgNPs com extrato de semente de uva Isabel.

O histograma obtido por análise de ELS apresenta valores próximos do histograma da figura 11, e corrobora com o espectro de UV-visível, pois ambos representam nanopartículas com estreita faixa de distribuição de tamanho.

Porém, nas imagens de MET (figura 10) se observa fusão e aglomeração de algumas nanopartículas. Isso pode ter ocorrido possivelmente por imperfeições existentes no grid de cobre, como arranhões ou partes amassadas.

Outra possibilidade está no momento de preparo da amostra antes da análise de MET quando se deixa o solvente evaporar do grid, o que facilita a coalêscencia das partículas.

5.2.2. Nanopartículas de Prata com extrato Pitaya

A solução coloidal das nanopartículas de prata obtidas utilizando extrato de Pitaya como descrito no item 4.2.2., apresentou coloração alaranjada após aproximadamente 5 horas de reação.

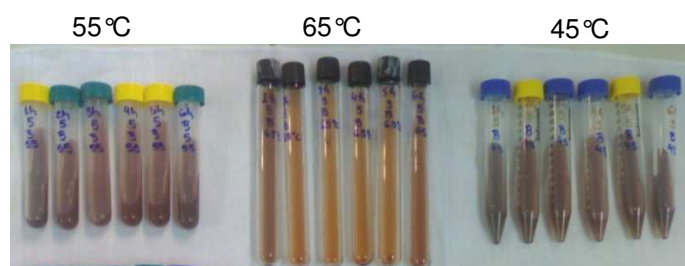


Figura 14: Imagens das AgNPs com extrato de Pitaya.

As imagens na figura 14 correspondem as nanopartículas de prata aquosas estabilizadas e reduzidas pelo extrato de Pitaya para as temperaturas de 45°C, 55°C e 65°C, onde se pode observar que existem colorações mais escurecidas e presença de precipitado para as temperaturas de 45°C e 55°C.

A temperatura de 65°C apresentou melhor resultado como se observa através da coloração e da banda de absorção do espectro de UV-Visível observado na figura 15. Nota-se que esta banda de *plasmom* apresenta menor tamanho e alargamento em relação às outras temperaturas analisadas, e este fato pode ser relacionado com a formação de nanopartículas de menores diâmetros e possivelmente com maior estabilidade.

Na figura 15B, onde se encontram as bandas de *plasmom* para tempos de 1 a 6 horas de reação, se verifica o alargamento e aumento das bandas a cada hora do experimento, pois possivelmente com o passar do tempo ocorrem aglomerações, coalescência entre as partículas e degradação dos composto presentes no extrato.

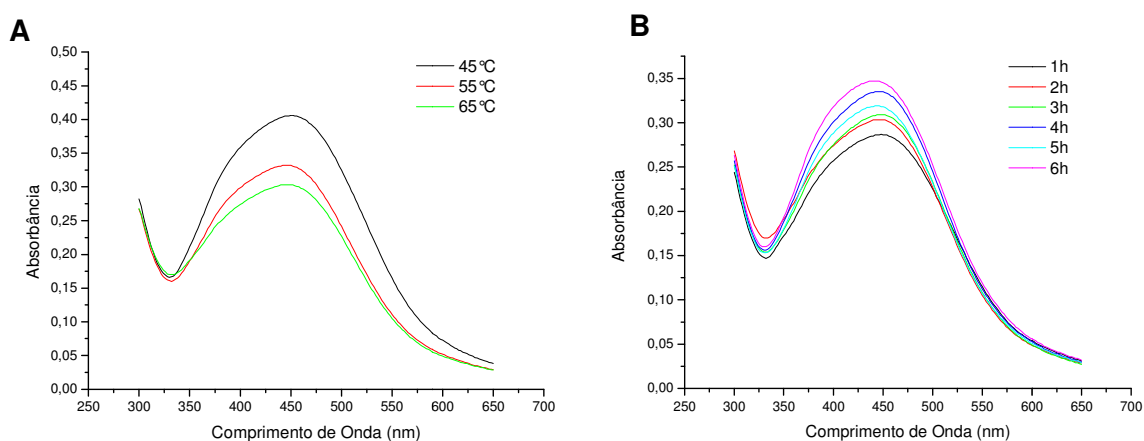


Figura 15: (A) Espectros de UV-vis das AgNPs com extrato de Pitaya, nas temperaturas de 45°C, 55°C e 65°C. (B) Espectros de UV-vis das AgNPs nos tempos de 1 á 6 horas na temperatura de 65°C.

A figura 16 mostra o espectro de UV-visível para as nanopartículas de prata com extrato de Pitaya na temperatura de 65°C e tempo de reação de 2 horas, escolhido por apresentar melhor coloração em relação à alíquota correspondente a primeira hora e melhor custo benefício.

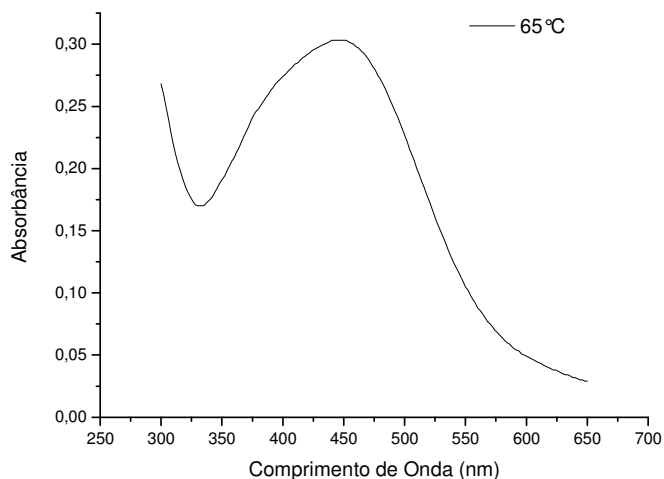


Figura 16: Espectro de UV-vis das AgNPs com extrato de Pitaya, na temperatura de 65°C.

O espectro de UV-Visível das AgNPs obtidas com extrato de Pitaya mostra uma banda de *plasmom* ressonante com absorção máxima em 450 nm. Esta banda se apresenta assimétrica com FWHM de 154 nm cuja quantificação esta visivelmente demonstrada na figura 17.

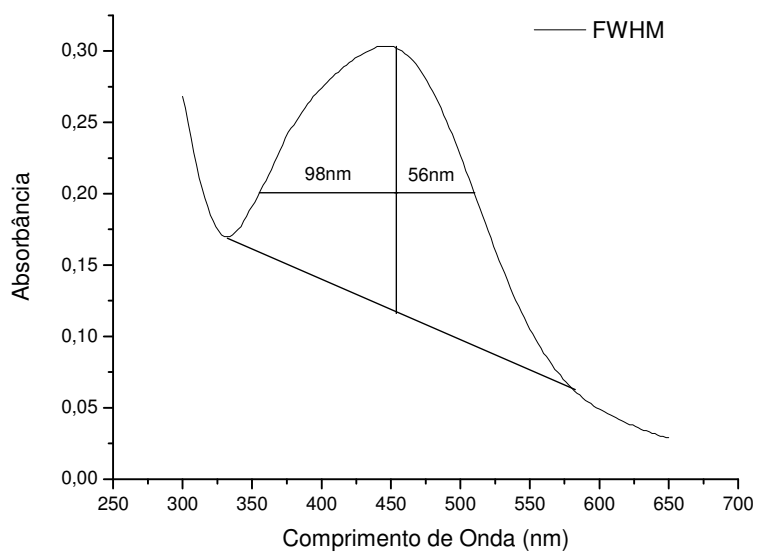


Figura 17: Cálculo de FWHM para o espectro de UV-vis das AgNPs com extrato de Pitaya.

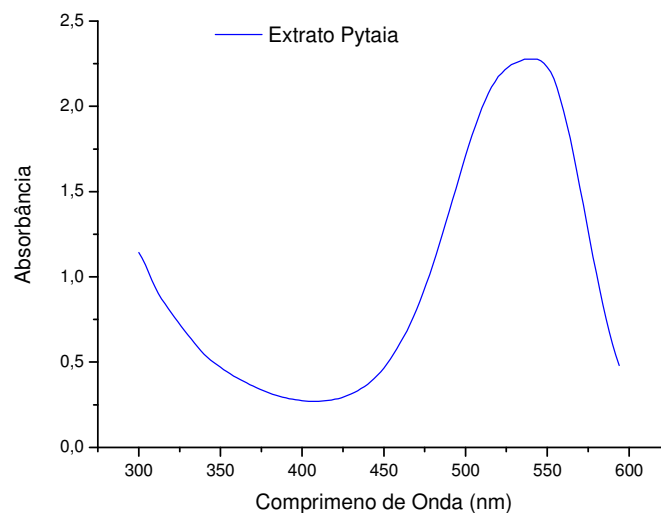


Figura 18: Espectro de UV-vis do extrato de Pitaya aquoso, na temperatura de 65°C.

A forma da banda *plasmom* da figura 16 sugere a presença de mais de um evento eletrônico, possivelmente representando as três populações de partículas vistas nas medidas de potencial Zeta e ELS. Nesta análise não foi considerada a banda de absorção do extrato aquoso, pois esta se encontra situada em uma região afastada do máximo da banda *plasmom* para as AgNPs (Figura 18).

O alargamento na banda ocorre pela presença de tamanhos variados como visto na figura 19, que apresenta nanopartículas multi-geminadas e também uma população menor de partículas esféricas.

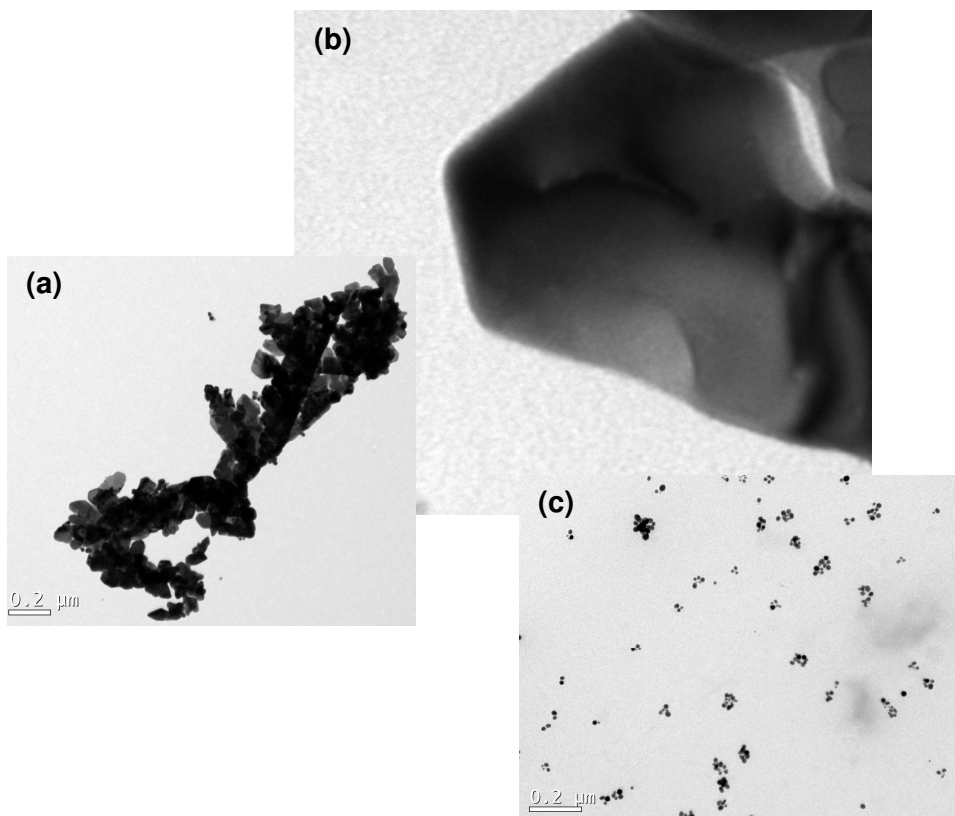


Figura 19: Imagens de MET das AgNPs.

As morfologias exibidas na figura 19 (a e b) são as formas predominantes encontradas na utilização do extrato de Pitaya. Verifica-se na figura 19c partículas esféricas de tamanho médio inferior a 10 nm formando pequenos aglomerados. A presença de variadas formas e tamanhos explicam o alargamento e deslocamento da banda observada no espectro de UV-Visível (Figura 16 e 17).

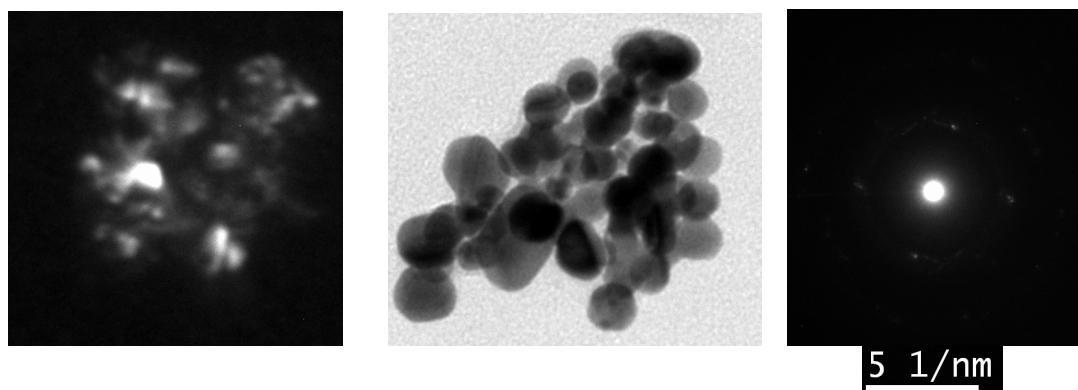


Figura 20: Micrografias das AgNPs:(a) *dark-field* e (b) *bright-field* (c) difratometria

As técnicas de *bright-field* e *dark-field* para as nanopartículas de prata estabilizadas e reduzidas pelo extrato de Pitaya são vistas na figura 20, onde se observa apenas as nanopartículas esféricas.

A difratometria de elétrons realizada não apresentou qualidade desejada, mas o caráter policristalino das nanopartículas de prata pôde ser visto pela presença de pequenos pontos que circundam o feixe central.

Na figura 21 o histograma da análise de ELS mostrou uma distribuição de tamanho de partículas multimodal com partículas de dimensões distintas representados por três picos, essa variedade de tamanhos pode ser explicado pela deficiência apresentada pelo extrato de Pitaya em estabilizar as nanopartículas.

O primeiro pico apresenta partículas variando de 30 nm até 700 nm exibindo máximo em 68,06 nm representando 5,7% da população de partículas. O pico número 2 mostra partículas variando de 800 nm até 2.000 nm com máximo em 1.484 nm representando 4,4 % das partículas. O pico número 3 representa partículas ainda maiores na faixa de 2.000 nm até 6.000 nm com máximo em 4.801 nm representando 5,6 % das partículas. Esses dados representam a diversidade de partículas observadas na figura 19.

O histograma de distribuição de potencial Zeta da figura 21 também apresenta característica multimodal variando o potencial entre -76,6 mV e 46,8 mV, com máximo em -31,7 mV, o que corrobora com as observações encontradas com a análise distribuição de tamanho de partículas obtidas por ELS.

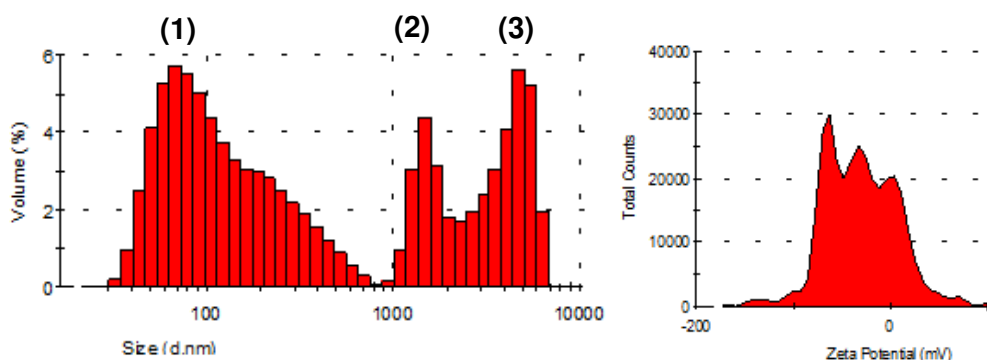


Figura 21: Histograma de distribuição de tamanho obtido por análise de ELS e pico de Potencial Zeta das AgNPs com extrato de Pitaya.

5.3. Comparação entre AgNPs com extrato uva Isabel e Pitaya

Para nanopartículas obtidas com extrato de Pitaya, observa-se a mudança para comprimentos de onda mais longos refletindo o aumento de tamanho de partículas. É bem conhecido pela literatura que a absorção de nanopartículas de prata depende principalmente do tamanho e forma. Em geral, a largura da banda de absorção de *plasmom* ressonante diminui a medida que a simetria das nanopartículas aumenta [38].

Em contrapartida, para as nanopartículas de prata com extrato de uva a absorção ocorreu na faixa de 400 nm, região bem característica de AgNPs com tamanhos próximos da simetria.

A banda de plasmom ressonante obtida para as AgNPs com extrato de Pitaya, assemelha-se a uma banda resultante de mais de um evento eletrônico podendo ser deconvoluída em três bandas distintas corroborando com os picos multimodais do histograma de potencial Zeta e ELS, desconsiderando a contribuição da banda do extrato aquoso como se pode observar na figura 18.

Já para as AgNPs com extrato de uva a bandas de plasmom ressonante apresentou um pico estreito e bem definido, corroborando com o pico monomodal do histograma de distribuição de partículas (ELS) e potencial Zeta. Neste caso não foi necessário quantificar a contribuição das bandas de *plasmom* do extrato, pois o mesmo é incolor.

As AgNPs obtidas com extrato de Pitaya (figura 19) apresentam distribuição de forma bastante ampla, com morfologia bastante variada, com partículas fugindo da esfericidade, muitas multi-geminadas agrupadas em enormes aglomerados, coexistindo com partículas menores em concordância com as distribuições multimodais encontradas nos histogramas de potencial Zeta e ELS e na aparência assimétrica da banda de plasmom ressonante.

Por outro lado, para as AgNPs com extrato de uva Isabel verifica-se a forma esférica das nanopartículas, bem como seu tamanho reduzido.

6. CONCLUSÃO

Neste trabalho foi observada a estabilidade dos colóides de prata formados utilizando dois diferentes extratos vegetais que atuam como redutores e estabilizantes das nanopartículas.

As nanopartículas obtidas foram monitoradas por Espectroscopia de UV-Vísivel e MET, e por meio destas técnicas pode-se comprovar que a utilização do extrato de semente de Uva Isabel forma preferencialmente partículas com morfologia esférica de tamanho reduzido, corroborando com a banda de *plasmom* ressonante obtida que se mostrou característica de partículas com esta forma geométrica.

Para as nanopartículas obtidas com o extrato de Pitaya se verificou uma diversidade nas formas das partículas, com nanopartículas multi-geminadas e esféricas e diferentes tamanhos.

As duas metodologias exploradas para a obtenção das nanopartículas com o uso de extratos vegetais apresentam grande potencial, porém as nanopartículas de prata com extrato de semente de uva Isabel apresentaram maior regularidade geométrica e menor tamanho, características fundamentais para sistemas nanoparticulados.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. SHARMA, K.V., YNGARD, A.R., YEKATERINA, L.- Silver nanoparticles: Green synthesis and their antimicrobial activities ; *Advances in Colloid and Interface Science* 145 (2009) pág.83-96.
2. ALBRECHT, A. M., EVANS, W. C., RASTON, L. C., - Green chemistry and the health implications of nanoparticles; *Green Chem.*, 2006,8, pág. 417- 432.
3. *Química verde no Brasil: 2010-2030* - Brasília, DF: Centro de Gestão e Estudos Estratégicos, 2010.
4. SONG, Y.J., KIM, S.B.- Rapid biological synthesis of silver nanoparticles using plant leaf extracts- *Bioprocess Biosyst Eng.* Vol 32 (2009) pág. 79-84.
5. AHMAD, A., MUKHERJEE, P., SENAPATI, S., MANDAL, D., KHAN, M.I., KUMAR, R., SASTRY, M.- Extracellular biosynthesis of silver nanoparticles using the fungus *Fusarium oxysporum*; *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* 28 (2003) pág. 313-/318.
6. XIE, J., LEE, J.Y., WANG, D.I.C., TING, Y.P.- Silver Nanoplates: From Biological to Biomimetic Synthesis; *ACSNano* 2007,1, pág.429-439.
7. http://en.wikipedia.org/wiki/Transmission_electron_microscopy (acesso em 27/10/10 às 22:15 hrs)
8. http://pt.wikipedia.org/wiki/Microsc%C3%B3pio_eletr%C3%B4nico_de_transmiss%C3%A3o (acesso em 05/11/10 às 21:40 hrs)
9. PHILIP, D.- Biosynthesis of Au, Ag, and Au-Ag Nanoparticles using edible mushroom extract- *Spectrochimica Acta Part A* -73 (2009) pág. 374–381.
10. PHILIP, D., - Honey mediated Green synthesis of silver nanoparticles- *Spectrochimica Acta Part A* - 75 (2010) pág. 1078–1081.
11. HUANG, J., LIN, L., LI, Q., SUN, D., WANG, Y., LU, Y., NING, H., YANG, K., YANG, X., WANG, H., WANG, W., LIN, W. – Continuous-Flow Biosynthesis of Silver Nanoparticles by Lixivium of Sundried *Cinnamomum camphora* Leaf Tubular Microreactors; *Ind. Eng. Chem. Res.* 2008, 47, pág. 6081–6090.

12. SUN, Y., XIA, Y.- Shape-Controlled Synthesis of Gold and Silver Nanoparticles – Science 298, pág 2176-2179 (2002).
13. SONG, Y.J., KIM, S.B.- Rapid biological synthesis of silver nanoparticles using plant leaf extracts- Bioprocess Biosyst Eng. Vol 32 (2009) pág. 79-84.
14. SEGALA, K. – Síntese e caracterização de nanocompósitos funcionais- 2009 - Tese de Doutorado- Universidade Federal de Santa Catarina- UFSC- Centro de Ciências Físicas e Matemáticas- Pós-graduação em Química.
15. KALELE, S., GOSAVI, S.W., URBAN, J., KULKARNI, K.,- Nanoshell particles: synthesis, properties and applications. CURRENT SCIENCE, VOL. 91(2006), NO. 8, pág.1038-1052.
16. OLIVEIRA, M.M.- Nanopartículas de prata e seus nanocompósitos com polianilina: síntese, caracterização e propriedades - 2005- Tese de Doutorado- Universidade Federal do Paraná- UFPR- Pós-graduação em Química.
17. LEVIN, S.C., HOFMANN, C., ALI, A.T., KELLY, T. A., MOROSAN, E., NORDLANDER, P., WHITMIRE, H.K., HALAS, J. N. - Magnetic-Plasmonic Core-Shell Nanoparticles. Journal American Chemical Society- ACS Nano- vol.3 (2009), N° 6, pág. 1379-1388.
18. NETO, B. A. E., RIBEIRO, C., ZUCOLOTTI, V.,- Síntese de Nanopartículas de Prata para Aplicação na Sanitização de Embalagens- Comunicado Técnico - Embrapa Instrumentação Agropecuária - ISSN 1517-4786- 2008.
19. MORONES, J., ELECHIGUERRA, J., CAMACHO, A., HOLT, K., KOURI, J., RAMIREZ, J., YACAMAN, M., - The bactericidal effect of silver nanoparticles - Nanotechnology, Bristol, Vol. 16 (2005), pág. 2346-2353.
20. FENG, Q.L., WU, J., CHENG, G.Q., CUI, F.Z., KIM, T.N., KIM, J.O. – A mechanistic study of the antibacterial effect of silver ions on *Escherichia Coli* and *Staphylococcus aureus* . Journal of Biomedical Materials Research- 52(4), 2000, pág.662-668.
21. DAMM, C., NEUMANN, M., MUSTEDT, H.- Properties of nanosilver coatings on polymethyl methacrylate. Chemical Communications, 3 (2-3), 2006, pág. 71-82.

22. NETO, A. E. - Desenvolvimento de nanobiocompósitos contendo nanopartículas de prata para aplicações bactericidas- 2010- Dissertação de Mestrado- Universidade de São Paulo- Instituto de Física São Carlos.
23. SONAI, G. G. - Preparação e caracterização de nanopartículas de Prata em meio aquoso e orgânico, com impregnação em borrachas de silicone contendo $\text{RuCl}_2(\text{vpy})_4$ para fim antimicrobiano, Trabalho de conclusão de curso – UFSC – Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2008
24. LEITE, M. S. – Diferenças Estruturais em Nanopartículas de Ag e Au Coloidais, Dissertação de Mestrado – Unicamp – Universidade Estadual de Campinas, 2003.
25. JAYAPRAKASHA, G. K.; SINGH, R. P.; SAKARIAH, K. K. Antioxidant activity of grape seed (*Vitis vinifera*) extracts on peroxidation models in vitro. *Food Chemistry*, v. 73, p. 285-290, 2001.
26. JAYAPRAKASHA, G. K.; SELVI, T.; SAKARIAH, K. K. Antibacterial and antioxidant activities of grape (*Vitis vinifera*) seed extracts. *Food Research International*, v. 36, p. 117-122, 2003.
27. MURTHY, K. N. C.; SINGH, R. P.; JAYAPRAKASHA, G. K. Antioxidant activity of grape (*Vitis vinifera*) pomace extracts. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 50, p. 5909–5914, 2002.
28. WU, L., HSU, H., CHEN, Y., CHIU C., LIN, Y., HO, J. A. Antioxidant and antiproliferative activities of red pitaya. *Food Chemistry*, 95, 319-327, 2006.
29. ARIFFIN, A. A., BAKAR, J., TAN, C. P., RAHMAN, R. A., KARIM, R., LOI, C. C. Essential fatty acids of pitaya (dragon fruit) seed oil. *Food Chemistry*, 114, 561-564, 2009.
30. WICHENCHOT, S., JATUPORNPIPAT, M., RASTALL, R. A. Oligosaccharides of pitaya (dragon fruit) flesh and their prebiotic properties. *Food Chemistry*, 120, 850-857, 2010.
31. JANA, N. R.; GEARHEART, L.; MURPHY, C. J. – *Wet chemical synthesis of silver nanorods and nanowires of controllable aspect ratio. Chem. Commun*, 617–618, 2001;

32. BREGGIN L., FALKNER R., JASPERS N., PENDERGRASS J. and PRTER R., *Securing the Promise of Nanotechnologies, Royal Institute of International Affairs, 2009, Registration No. 208223*;
33. BRAUSE, R., MOELTGEN, H., KLEINERMANN, K.- Characterization of laser ablated and chemically reduced silver colloids in aqueous solution by UV/VIS spectroscopy and STM/SEM microscopy. *Applied Physics B: Lasers and Optics* 2002, 75- pág.711-716.
34. KERKER, M. - The optics of colloidal silver: something old and something new. *Journal of Colloid and Interface Science* 1985, 105 - pág.297-314.
35. SOSA, I.O., NOGUEZ, C., BARRERA, R.G.- Optical Properties of Metal Nanoparticles with Arbitrary Shapes. *Journal of Physical Chemistry B* 2003, 107 pág. 6269-6275.
36. ZHANG, L., ZHENG, Y., CHOW, M. S. S., & ZUO, Z. Investigation of intestinal absorption and disposition of green tea catechins by caco-2 monolayer model. *International Journal of Pharmaceutics*, 287, 1-12, 2004.
37. GÖKTÜRK BAYDAR, N.; AKKURT, M. Oil content and oil quality properties of some grape seeds. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, v. 25, p. 163-168, 2001.
38. PADILHA, F. A. – *Microscopia Eletrônica de Transmissão- Depto de Engenharia Metalúrgica e de Materiais – EPUSP.*
39. <http://www.instrutec.com.br/v2/represen/bic/teoriazeta.html> (acesso 20/11/2010 as 3:37 h);
40. CARDOSO, O. A., - *Espalhamento de Luz Dinâmico Aplicado no estudo de Sistemas Micelares – Campinas – 2001*;
41. <http://www.nbtc.cornell.edu/facilities/downloads/Zeta%20potential%20-%20An%20introduction%20in%2030%20minutes.pdf> (acesso 20/11/10 às 2:40 h).