

Síntese verde de nanopartículas de prata a partir do extrato de folhas de erva-mate (*Ilex paraguariensis*)

Juliane B. Bavaresco, Marina Bandeira, Camila S. Raota, Janaina S. Crespo, Marcelo Giovanela*

Resumo

As nanopartículas de prata (AgNPs) são reconhecidas como eficazes agentes antimicrobianos e seus métodos tradicionais de síntese utilizam reagentes químicos que podem ser tóxicos e potencialmente perigosos à saúde humana e ao meio ambiente. Por este motivo, diversos pesquisadores têm buscado alternativas que sejam mais limpas e ambientalmente corretas para a síntese desses nanomateriais. Dentro deste contexto, esse trabalho teve por objetivo propor um método de síntese verde para AgNPs, utilizando os compostos bioativos presentes no extrato de erva-mate (*Ilex paraguariensis*). A preparação do extrato foi previamente avaliada, visando à obtenção de uma solução com alto potencial redutor. Após a realização dos testes de captura do radical 2,2-difenil-1-picrilhidrazil (DPPH), optou-se pela utilização do extrato hidroalcoólico a 33% (v/v), utilizando as folhas de erva-mate. Posteriormente, avaliou-se o efeito da concentração desse extrato, da temperatura do meio reacional, do tempo de síntese e da concentração da solução de nitrato de prata, mantendo-se o pH do meio fixo em 8,0. Os parâmetros considerados mais satisfatórios para a síntese das nanopartículas foram a concentração do extrato de 25 mg mL⁻¹, a temperatura do meio reacional de 50 °C, o tempo de reação de 30 min e a concentração da solução de nitrato de prata de 1,0 mmol L⁻¹. Por fim, a síntese foi reconduzida nessas condições, variando-se o pH do meio de 3,0 a 12,0. A caracterização por espectroscopia de absorção molecular na região do ultravioleta e visível e microscopia eletrônica de transmissão revelou que as AgNPs sintetizadas nos diferentes pHs apresentam um máximo de absorção na faixa de 425-480 nm e um diâmetro médio entre 2,5 a 34,9 nm, com diferentes formas e estados de agregação. Considerando-se a abundância relativa de erva-mate na região da Serra Gaúcha, a facilidade de preparação do extrato, bem como a baixa toxicidade e a reduzida quantidade de reagentes utilizados no processo, o método desenvolvido revelou ser uma alternativa viável frente aos métodos tradicionais de obtenção de AgNPs.

Palavras-chave

Extrato de erva-mate. Síntese verde. Nanopartículas de prata. Caracterização.

Green synthesis of silver nanoparticles from the extract of yerba mate leaves (*Ilex paraguariensis*)

Abstract

Silver nanoparticles (AgNPs) have been known as effective antimicrobial agents. Their traditional methods of synthesis often use chemical reagents which can be toxic and potentially hazardous to human health and the environment. In this regard, researchers have been looking for alternatives that are cleaner and more environmentally friendly for the synthesis of these nanomaterials. For this reason, this work aimed to propose a green synthesis route for AgNPs using the biocompounds present in the extract of yerba mate (*Ilex paraguariensis*). The preparation of the extract was previously evaluated to obtain a solution with high reduction potential. After the tests involving the capture of the 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) radical, the hydroalcoholic extract 33% (v/v) prepared with fresh leaves of yerba mate was chosen to perform the next experiments. Subsequently, the effect of the concentration of plant extract, temperature of the reaction medium, time of synthesis, and concentration of silver nitrate solution in the AgNPs synthesis was evaluated, at fixed pH of 8.0. The best parameters for obtaining the AgNPs were 25 mg mL⁻¹ of yerba mate extract, reaction temperature of 50 °C, reaction time of 30 min, and 1.0 mmol L⁻¹ solution of silver nitrate. Finally, the synthesis was conducted under these optimized conditions, varying the pH of the medium from 3.0 to 12.0. The characterization by molecular absorption spectroscopy in the ultraviolet and visible region and transmission electron microscopy revealed that the AgNPs synthesized at different pH had a maximum absorption between 425-480 nm and an average diameter of 2.5 to 34.9 nm, with different shapes and aggregation states. Taking into account the relative abundance of yerba mate in the Serra Gaúcha region, the ease of preparation of the extract, as well as the low toxicity and amount of reagents used in the process, the method developed is a viable alternative to the traditional methods of AgNPs synthesis.

Keywords

Yerba mate extract. Green synthesis. Silver nanoparticles. Characterization.

I. INTRODUÇÃO

A Nanotecnologia possibilitou o conhecimento de propriedades únicas dos materiais que deram origem a

várias pesquisas voltadas para a fabricação, caracterização e aplicações de nanopartículas (NPs) [1]. Neste contexto, esses nanomateriais tornaram-se extremamente atrativos, possibilitando, de acordo com o tamanho, a distribuição e

Universidade de Caxias do Sul –Área do Conhecimento de Ciências Exatas e Engenharias
mgiovanl@ucs.br

Data de envio: 12/03/2020
Data de aceite: 30/06/2020

<http://dx.doi.org/10.18226/23185279.v8iss1p39>

a morfologia, aplicações em vários campos da ciência, tais como catálise, eletrônica, óptica e biologia [2].

As NPs podem ser obtidas por métodos químicos, físicos, através de micro-organismos ou via síntese verde [1,2]. Um dos principais problemas associados à produção de NPs pelos métodos tradicionais (físicos e químicos) é a utilização de reagentes químicos tóxicos e a geração de subprodutos potencialmente perigosos para o meio ambiente [3].

Dada à facilidade de obtenção de NPs a partir de métodos verdes, a síntese por essa rota tem atraído cada vez mais a atenção dos pesquisadores, especialmente nessa última década. Isso tem ocorrido porque as condições de obtenção dessas NPs proporcionam vantagens em termos da utilização de equipamentos e custos operacionais. Além disso, a síntese verde pode ser implementada em qualquer configuração e escala, caracterizando-a como uma estratégia inovadora, confiável e ambientalmente segura [1,2].

As plantas e os seus extratos são muito utilizados nesse tipo de síntese, pois normalmente não apresentam toxicidade, quando comparadas a algumas espécies de algas e bactérias. Além disso, as plantas ou seus extratos apresentam uma ampla gama de metabólitos secundários com alto potencial antioxidante, além de proporcionarem a estabilização das NPs em meio aquoso [2,4,5].

Esse tipo de síntese tem proporcionado a obtenção de diferentes NPs metálicas, tais como de prata [6], ouro [4], paládio [7], platina [8], cobre [9], entre outras. Dentre essas NPs, as de prata (AgNPs) têm sido as mais estudadas, devido à extensa faixa de aplicações, como na biomedicina (revestimentos antimicrobianos e administração de fármacos), na indústria alimentícia, no tratamento de águas residuais, e no desenvolvimento de sensores ambientais [1,2,10]. Estima-se que o mercado mundial de AgNPs aumente de US\$ 0,6 bilhões em 2012 para US\$ 2,45 bilhões em 2022 [11].

Vários artigos têm abordado a síntese verde como uma alternativa mais sustentável para a produção de AgNPs por meio da utilização de diferentes extratos de plantas, como folhas de canforeiro (*Cinnamomum camphora*), babosa (*Aloe vera*), árvore-do-pão (*Artocarpus altilis*), nogueira-do-japão (*Ginkgo biloba*), e losna (*Artemisia vulgaris*) [3,5,11,12,13]. Entretanto, estudos envolvendo especificamente a síntese de NPs com erva-mate ainda são muito escassos na literatura.

Devido à alta concentração de metabólitos secundários, as folhas dessa planta apresentam grande potencial para serem utilizadas na síntese verde de AgNPs. Recentemente, um trabalho obteve AgNPs de 50 nm de diâmetro, utilizando o extrato de duas variedades de erva-mate. A síntese foi realizada, utilizando-se uma solução aquosa de nitrato de prata (AgNO_3) de concentração igual a $1,0 \text{ mmol L}^{-1}$ e duas concentrações de extrato de erva-mate, à temperatura ambiente [14].

Nesse contexto, o presente trabalho tem por objetivo apresentar uma metodologia alternativa para a síntese de AgNPs utilizando o extrato de erva-mate (*Ilex paraguariensis*). A obtenção do extrato foi otimizada a fim de obter o maior potencial antioxidante, por meio da variação do teor de etanol na solução extratora e da fonte de erva-mate. Além disso, a síntese foi avaliada frente à concentração e pH do extrato, temperatura reacional e

concentração de AgNO_3 . As AgNPs obtidas nas condições otimizadas foram caracterizadas por meio das técnicas de espectroscopia de absorção molecular na região do ultravioleta e visível (UV-Vis) e microscopia eletrônica de transmissão (MET).

II. MATERIAIS E MÉTODOS

Para o desenvolvimento deste trabalho foram utilizadas duas fontes de erva-mate: (i) folhas *in natura* e (ii) pó de chimarrão comercial. As folhas foram coletadas no município de Nova Prata (RS), enquanto o pó de chimarrão (do tipo moída grossa da marca Ximango) foi obtido em um supermercado local. De acordo com a Portaria Normativa nº 118-N/92 do IBAMA, a granulometria desse tipo de pó de chimarrão é obtida pelo uso de peneiras de tela de 10 a 40 malhas para cada 625 mm^2 [15].

O AgNO_3 ($\geq 99,0\%$), o ácido clorídrico 37% grau P. A. e o hidróxido de sódio P. A. em lentilhas foram obtidos da Merck. O reagente de Folin-Ciocalteu e o 2,2-difenil-1-picrilhidrazil (DPPH) foram adquiridos da Sigma-Aldrich. O etanol 95%, utilizado no preparo das soluções hidroalcoólicas, foi adquirido da Vetec Química Fina Ltda. As soluções de AgNO_3 , as soluções extratoras, e as demais soluções aquosas foram preparadas com água ultrapura tipo I (resistividade mínima de $18,2 \text{ M}\Omega \text{ cm}$), obtida a partir de um equipamento Millipore, modelo Direct-Q 3 UV.

A. Obtenção do extrato de erva-mate

A higienização das folhas foi realizada por meio de três lavagens, na seguinte ordem: água de torneira, solução hidroalcoólica 50% (v/v) e água destilada. A secagem das folhas foi efetuada a $60 \text{ }^\circ\text{C}$, por aproximadamente 90 min, em uma estufa com circulação e renovação de ar (Nova Ética). Para a moagem da amostra foi empregado um moinho de facas (Marconi, modelo MA 580). Ao término desse procedimento, utilizou-se uma peneira de 10 mesh para uniformizar a granulometria dos fragmentos [16,17,18].

Inicialmente, avaliou-se qual das duas fontes de erva-mate (folhas *in natura* trituradas e pó de chimarrão) apresentava o maior potencial antioxidante. Para tanto, os dois extratos foram obtidos por meio da infusão de cada uma das amostras em água destilada, utilizando uma concentração de 100 g L^{-1} , durante 30 min e sob agitação magnética (180 rpm), à temperatura ambiente e ao abrigo da luz. Em seguida, os extratos aquosos foram filtrados a vácuo e centrifugados a 5.000 rpm por 20 min (Novatecnica, modelo NT 820), sendo finalmente acondicionados em frascos de polipropileno, e ao abrigo da luz, para determinação do potencial antioxidante por meio do teste de captura do radical DPPH.

Posteriormente, efetuou-se a extração com a amostra que apresentou a maior atividade antioxidante, utilizando soluções hidroalcoólicas a 20, 25, 33 e 50% (v/v).

B. Caracterização do extrato de erva-mate

O potencial antioxidante dos extratos foi determinado pelo método de DPPH, onde foram utilizados $400 \text{ }\mu\text{L}$ de tampão Tris-HCl, $100 \text{ }\mu\text{L}$ da amostra ou padrão (água destilada ou solução hidroalcoólica 50%, v/v), e $500 \text{ }\mu\text{L}$ da

solução de DPPH, em triplicata. Os tubos permaneceram em repouso por 20 min, e as soluções foram então analisadas em um espectrofotômetro UV-Vis (ThermoScientific, modelo Evolution 60), no comprimento de onda de 517 nm [19].

A determinação da quantidade total de polifenóis dos extratos também foi realizada, utilizando-se o método de Folin-Ciocalteu. Para tanto, foi construída uma curva de calibração com ácido gálico nas concentrações de 5, 25, 50, 75 e 100 mg L⁻¹, sendo as amostras analisadas em triplicata. O ensaio foi realizado pela adição de 750 µL do reagente de Folin-Ciocalteu 10% (m/v) e de 600 µL de carbonato de sódio 7,5% (m/v) a 150 µL de amostra ou padrão. Em seguida, os tubos permaneceram por 5 min em uma estufa aquecida a 55 °C. A leitura das soluções foi realizada em um espectrofotômetro UV-Vis, no comprimento de onda de 760 nm [20].

C. Síntese verde das AgNPs

A síntese verde foi realizada ao abrigo da luz, empregando volumes iguais da solução aquosa de AgNO₃ e do extrato de erva-mate. A síntese foi avaliada em relação à concentração do extrato, à temperatura de síntese, à concentração de sal de prata e ao pH do extrato. A reação é evidenciada pela alteração de cor da solução para tons de âmbar [21].

Primeiramente, o extrato com maior potencial antioxidante foi diluído nas concentrações de 20, 25, 50 e 100 mg mL⁻¹, em pH 8,0, e a síntese foi realizada mantendo-se fixa a concentração da solução de AgNO₃ em 2,5 mmol L⁻¹. O pH foi inicialmente fixado em 8,0 porque, de acordo com a literatura, condições mais alcalinas favorecem a formação de AgNPs [21,22,23]. A síntese foi então realizada, utilizando-se duas temperaturas: a primeira a 25°C por 1 h, e a segunda a 50 °C por 30 min, ambas com agitação magnética.

Posteriormente, verificou-se a influência da concentração de AgNO₃ na síntese, variando-se a concentração do sal de prata em 1,0; 2,5 e 5,0 mmol L⁻¹, e mantendo fixa a concentração do extrato em 25 mg mL⁻¹, o pH 8,0 e a temperatura em 50 °C por 30 min.

A síntese verde foi igualmente avaliada em função da variação do pH do extrato de 3,0 a 12,0, por meio da adição de soluções de ácido clorídrico (0,1 mol L⁻¹) ou hidróxido de sódio (0,1 mol L⁻¹). Utilizou-se a concentração de extrato de 25 mg mL⁻¹ e de AgNO₃ de 1,0 mmol L⁻¹, a 50 °C por 30 min. Os valores de pH foram ajustados com o auxílio de um pHmetro digital (Digimed, modelo DM-22).

O fluxograma da Figura 1 ilustra de forma esquemática os procedimentos realizados na síntese das AgNPs deste trabalho.

D. Caracterização das AgNPs sintetizadas

Os espectros de UV-Vis foram registrados na faixa de comprimento de onda entre 350 e 600 nm, utilizando-se uma cubeta de quartzo de caminho óptico de 10 mm [24]. O software VISIONlite foi utilizado para a medição e análise dos dados.

A preparação das amostras para a caracterização por MET foi realizada primeiramente pela diluição das

soluções contendo as AgNPs em água destilada (1:10, v/v), utilizando um ultrassom (Unique USC 8004) por 10 min. Em seguida, uma gota dessa solução foi depositada sobre um *grid* de cobre com filme de *Formvar* (300 mesh). O excesso de líquido foi removido com auxílio de um papel filtro e os *grids* permaneceram em um dessecador por 48 h [24]. As análises foram realizadas no Centro de Microscopia Eletrônica da UFRGS em um microscópio eletrônico de transmissão (JEOL, modelo JEM-2010), operando com uma tensão de 200 kV.

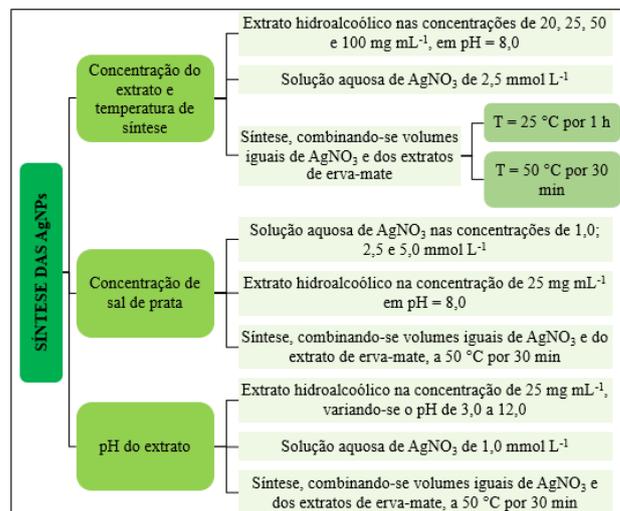


Figura 1 - Fluxograma dos procedimentos realizados na síntese verde das AgNPs deste trabalho.

III. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A. Avaliação da atividade antioxidante das amostras de erva-mate

A Tabela 1 apresenta os resultados obtidos pelo método de varredura do radical DPPH para o extrato aquoso de folhas de erva-mate e pó de chimarrão. Para obtenção dos valores de absorvância do padrão, em ambas as determinações, houve a necessidade de diluí-lo com água destilada (1:3, v/v).

Tabela 1 - Potencial antioxidante dos extratos aquosos de folhas de erva-mate e pó de chimarrão.

Extrato	Inibição do DPPH (%)
Folhas de erva-mate	77,80 ± 0,48
Pó de chimarrão	76,99 ± 0,78

Como pode ser observado, o pó de chimarrão e as folhas de erva-mate apresentaram praticamente o mesmo percentual de inibição do radical DPPH. Entretanto, o custo e o tempo associado à preparação das folhas são muito menores em relação ao pó de chimarrão, que necessita de várias etapas de processamento. Por esse motivo, optou-se pelas folhas de erva-mate para a realização das demais etapas desse trabalho.

B. Análise da composição da solução extratora

De posse dos resultados preliminares, avaliou-se a influência da composição da solução extratora utilizada para realizar a extração dos compostos antioxidantes presentes nas folhas de erva-mate.

A Figura 2 apresenta os resultados obtidos pelo método de DPPH para os extratos de folhas de erva-mate, obtidos a partir das diferentes soluções hidroalcoólicas. Como pode ser constatado, o extrato obtido a partir das folhas de erva-mate com a solução hidroalcoólica a 33% (v/v) foi o que apresentou o melhor percentual de inibição médio do DPPH. Percebe-se uma elevação gradual no percentual de inibição com o aumento do teor alcoólico do extrato até a concentração de 33% (v/v) e, em seguida, uma ligeira redução no percentual de inibição com a utilização da solução a 50% (v/v). No entanto, todos os extratos hidroalcoólicos apresentaram resultados muito próximos, sendo observada uma diferença máxima de 4,6% no percentual de inibição médio entre amostras extraídas apenas com água destilada e as amostras obtidas com a solução hidroalcoólica.

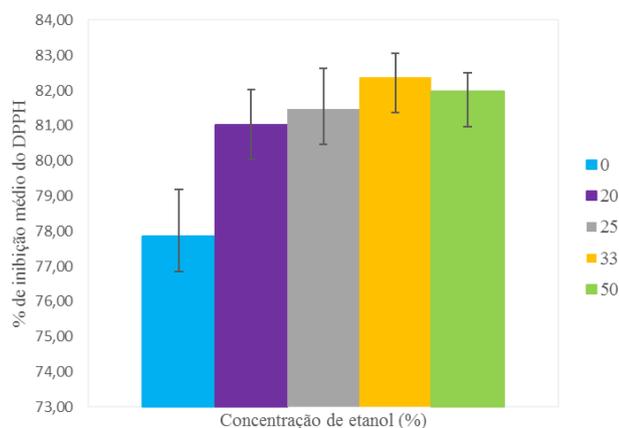


Figura 2 - Percentual de inibição médio do radical DPPH pelos extratos de folhas de erva-mate com diferentes soluções hidroalcoólicas.

Comparando-se a extração de folhas de erva-mate com água destilada e com uma solução de metanol e água destilada (80:20, v/v) a 85 °C, os melhores resultados foram obtidos para o extrato aquoso, tanto em termos de polifenóis totais, como de atividade antioxidante [25]. Outros autores realizaram a extração com etanol de cinco amostras: cascas e folhas de cerne-amarelo (*Terminalia brasiliensis*), folhas de caneleiro (*Cenostigma macrophyllum*), folhas de capitão-do-mato (*Terminalia fagifolia*), folhas de ariavá (*Qualea grandiflora*) e raiz de carnaúba (*Copernicia prunifera*) [26]. Na avaliação da atividade antioxidante pelo método de DPPH, a erva-mate apresentou melhores resultados quando comparada às folhas de cerne-amarelo, de caneleiro, de ariavá e com a raiz de carnaúba, bem como em relação às folhas de losna e da árvore-do-pão [11,13].

Uma vez que a solução hidroalcoólica a 33% (v/v) extraiu a maior quantidade de compostos fenólicos com a menor concentração de etanol, esse sistema foi escolhido para a realização das demais etapas desse trabalho.

O teor de fenólicos totais foi determinado pelo método de Folin-Ciocalteu apenas para o extrato obtido pela solução hidroalcoólica a 33% (v/v). A determinação foi realizada por meio da padronização externa com ácido gálico ($y = 0,0084x + 0,0061$; $R^2 = 0,9990$). A quantificação de fenólicos totais resultou em 295,67 miligramas de equivalentes de ácido gálico por litro de extrato (mg EAG L^{-1}), com desvio padrão de 4,54. De

acordo com a literatura, o teor de fenólicos em erva-mate depende principalmente da época de colheita e do sombreamento da planta. Um teor de fenólicos totais de 150,35 mg de EAG L^{-1} de extrato foi obtido, por exemplo, para uma solução hidroalcoólica a 20% (v/v) de folhas de erva-mate [27].

C. Avaliação da concentração do extrato de erva-mate e da temperatura do meio na síntese verde das AgNPs

A Figura 3 apresenta os espectros de UV-Vis das AgNPs obtidas a 25 °C, em função das diferentes concentrações de extrato de erva-mate. Como pode ser constatado, a banda plasmônica característica das AgNPs aparece somente quando o extrato a 25 mg mL^{-1} é utilizado.

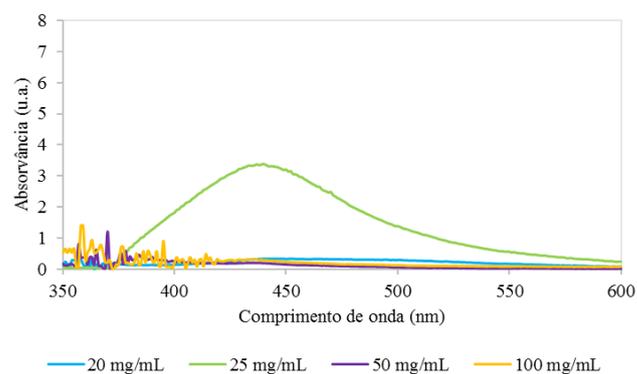


Figura 3 - Espectros de UV-Vis das AgNPs obtidas a 25 °C em função das diferentes concentrações de extrato de erva-mate.

Já para a síntese realizada a 50 °C (Figura 4), esse comportamento é evidenciado nos quatro sistemas avaliados.

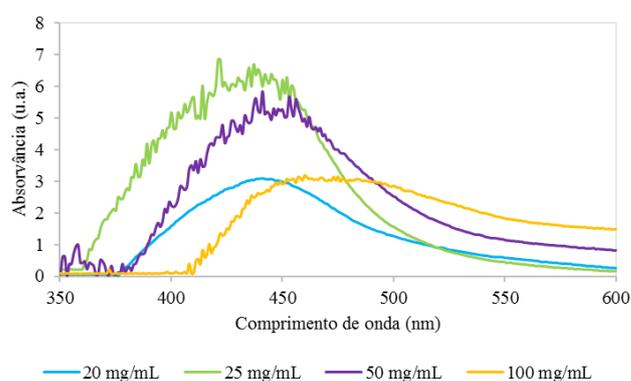


Figura 4 - Espectros de UV-Vis das AgNPs obtidas a 50 °C em função das diferentes concentrações de extrato de erva-mate.

As principais diferenças dizem respeito à posição e à intensidade associada ao comprimento de onda de máxima absorção ($\lambda_{\text{máx}}$) das AgNPs. Em geral, o $\lambda_{\text{máx}}$ está situado entre 430 e 450 nm, com exceção do espectro do extrato a 100 mg mL^{-1} , cujo $\lambda_{\text{máx}}$ está deslocado para a região do vermelho (prolongando-se de 450 a 490 nm), indicando um possível aumento no tamanho médio das AgNPs [23]. O tamanho, a dispersividade, a distribuição e a forma das nanopartículas são influenciadas diretamente pela concentração do extrato vegetal na síntese verde. O estudo

realizado com a flor *Osmanthus fragrans*, revelou que o aumento na concentração do extrato, utilizado como fonte de espécies antioxidantes, deslocou o $\lambda_{\text{máx}}$ de 433 nm para 450 nm, indicando a formação de AgNPs com maior tamanho médio [28].

A análise conjunta dos espectros de UV-Vis ilustrados nas Figuras 3 e 4 demonstra que a temperatura do meio reacional tem uma grande influência sobre a formação das AgNPs. Além disso, observa-se ainda que a síntese realizada com o extrato a 25 mg mL^{-1} foi a que apresentou o espectro com os maiores valores de absorvância nas imediações do $\lambda_{\text{máx}}$, para ambas as temperaturas avaliadas. À medida que a temperatura do meio reacional aumenta, ocorre um aumento na taxa de formação de AgNPs. As temperaturas mais baixas promovem o crescimento das NPs, enquanto as temperaturas maiores favorecem a nucleação [22].

Por esses motivos, optou-se por fixar a temperatura do meio reacional em $50 \text{ }^\circ\text{C}$, utilizando um extrato hidroalcoólico de erva-mate com concentração de 25 mg mL^{-1} , para a avaliação da influência da concentração de AgNO_3 e do pH do meio na síntese verde das AgNPs.

D. Avaliação da concentração de AgNO_3 na síntese verde

A Figura 5 apresenta os espectros de UV-Vis das AgNPs obtidas a $50 \text{ }^\circ\text{C}$ em função das diferentes concentrações de AgNO_3 . Observa-se que, independente da concentração de sal de prata utilizada, a banda plasmônica característica das AgNPs está presente em todos os sistemas avaliados. De acordo com a literatura, a intensidade do $\lambda_{\text{máx}}$ é dependente da concentração de AgNO_3 utilizada, uma vez que uma maior quantidade de íons Ag^+ disponíveis em solução implica na formação de uma maior quantidade de nanopartículas [23].

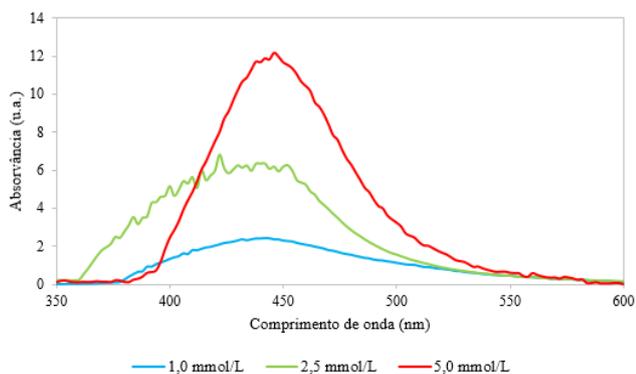


Figura 5 – Espectros de UV-Vis das AgNPs obtidas a $50 \text{ }^\circ\text{C}$ em função das diferentes concentrações de AgNO_3 .

A concentração de AgNO_3 que resultou em uma maior quantidade de AgNPs foi a de $5,0 \text{ mmol L}^{-1}$; porém, devido ao elevado custo do sal de prata, optou-se por fixar a concentração em $1,0 \text{ mmol L}^{-1}$ para a realização do último ensaio que teve por objetivo avaliar a influência do pH do meio na síntese das AgNPs.

E. Avaliação do pH do meio na síntese verde

A Figura 6 apresenta o extrato puro de erva-mate e os frascos onde foram realizadas as sínteses das AgNPs.

Como pôde ser visualmente constatado, a formação das nanopartículas ocorreu apenas em $\text{pHs} \geq 6,0$. Outros autores também não observaram a formação de AgNPs nos pHs 4,0 e 5,0 [21]. Além disso, em pHs muito alcalinos (entre 10,0 e 12,0), observa-se uma desestabilização da solução coloidal (de tonalidade âmbar), o que acaba provocando a aglomeração das AgNPs [22].

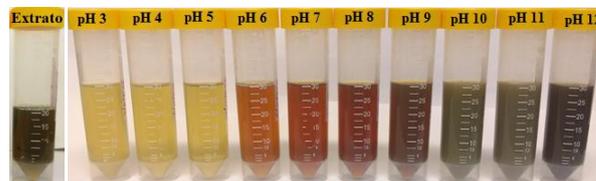


Figura 6 - Síntese verde das AgNPs a $50 \text{ }^\circ\text{C}$ em função do pH do meio, utilizando uma concentração de AgNO_3 de $1,0 \text{ mmol L}^{-1}$. À esquerda, encontra-se o extrato puro de erva-mate.

A Figura 7 ilustra os espectros de UV-Vis para valores de pH de 6,0 a 12,0. Observa-se que a síntese realizada em pH 9,0 foi a que apresentou o espectro com os maiores valores de absorvância nas imediações do $\lambda_{\text{máx}}$, quando comparada aos demais sistemas. O $\lambda_{\text{máx}}$ para as soluções na faixa de pH de 6,0 a 9,0 está situado na faixa entre 425 e 445 nm, enquanto as demais amostras se deslocaram para a faixa entre 450 e 480 nm. Observa-se também, nesses casos, o alargamento e/ou perda de simetria da banda plasmônica, o que indica um aumento de tamanho e uma perda de uniformidade das partículas [23].

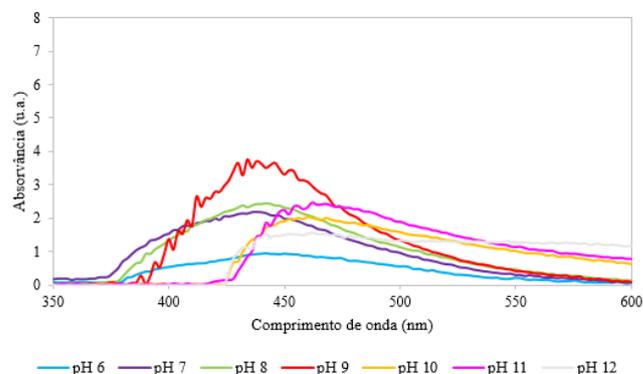


Figura 7 – Espectros de UV-Vis das AgNPs obtidas a $50 \text{ }^\circ\text{C}$ em função da variação do pH do meio.

Estudos utilizando o extrato da fruta amazônica araçá mostraram que a posição e a intensidade do $\lambda_{\text{máx}}$ não variam significativamente com o aumento do pH de 5,4 para 9,0, permanecendo em aproximadamente 430 nm [29]. Nessas condições, esses autores observaram AgNPs de formato esférico e monodispersas. Também verificaram que em pHs extremos (pH 11,0 e pH 4,0), as bandas se tornam alargadas e com menor intensidade, além de sofrerem um deslocamento no $\lambda_{\text{máx}}$, indicando polidispersividade.

Com base nos resultados obtidos e levando-se em consideração os aspectos mencionados anteriormente, as análises de MET das AgNPs foram realizadas apenas para as amostras sintetizadas entre pH 6,0 e 9,0.

As imagens de MET desses quatro sistemas encontram-se nas Figuras 8, 9, 10, 11. Como pode ser verificado, as

AgNPs sintetizadas apresentam formato esférico em toda a faixa de pH avaliada, estando agregadas em pH 6,0 e 7,0, e mais dispersas em pH 8,0 e 9,0. A forma com que as nanopartículas se agregaram em pH 6,0 e 7,0 lembra o crescimento dendrítico de cristais. Observa-se também a ocorrência de fusão e coalescência de algumas partículas.

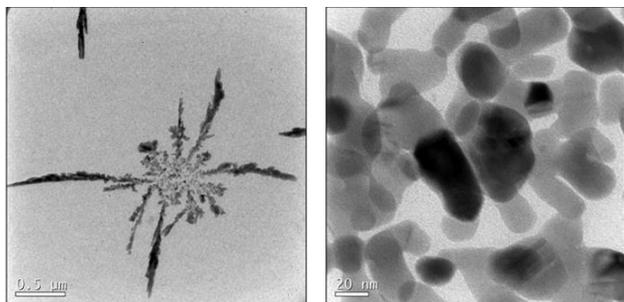


Figura 8 - Imagens de MET das AgNPs em pH 6,0.

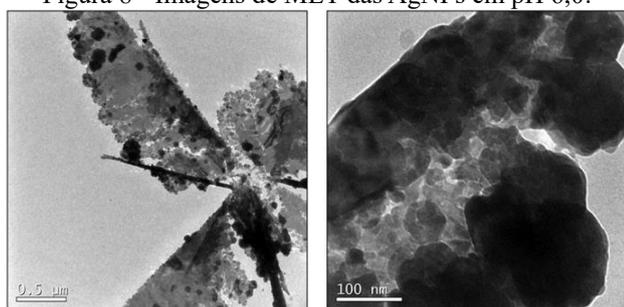


Figura 9 - Imagens de MET das AgNPs em pH 7,0.

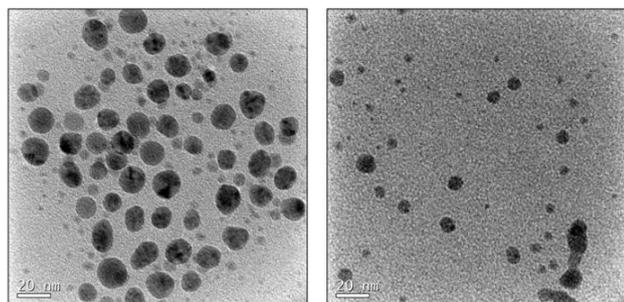


Figura 10 - Imagens de MET das AgNPs em pH 8,0.

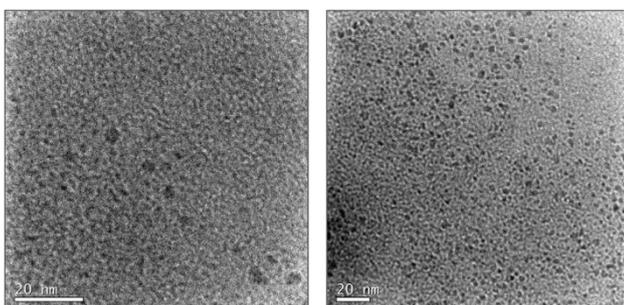


Figura 11 - Imagens de MET das AgNPs em pH 9,0.

Em pHs ácidos, a agregação de AgNPs se sobrepõe à nucleação, fato que justifica a obtenção de nanopartículas maiores [22]. Já em pHs mais alcalinos (pH = 8,0 e 9,0), ocorre a formação de AgNPs com menores diâmetros.

O diâmetro médio das AgNPs foi obtido por meio da análise no *software* ImageJ, e os resultados encontram-se na Tabela 2. Como pode ser observado, os diâmetros médios variaram de 2,5 a 34,9 nm. A partir da análise de MET pode-se observar que o pH é um fator que possui uma grande influência na síntese das AgNPs. Na síntese

realizada neste trabalho, o pH determinou o formato, o tamanho médio, e a dispersão ou agregação das nanopartículas.

Tabela 2 - Diâmetro médio das AgNPs em função do pH.

pH	Diâmetro médio (nm)
6,0	34,9 ± 10,7
7,0	28,7 ± 6,2
8,0	11,7 ± 3,7
9,0	2,5 ± 0,7

A literatura reporta que AgNPs esféricas com tamanho médio de 35 nm foram obtidas, utilizando o extrato das folhas de mangostão (*Garcinia mangostana*), em pH 7,0 [22]. Poliedros estáveis de AgNPs com um tamanho médio de 15 nm foram também obtidos, utilizando-se algas *Parachlorella kessleri*, em pH 8,0 e 10,0. Entretanto, nos pHs 4,0 e 6,0 houve grande variação no tamanho das partículas (de 20 a 60 nm de diâmetro) [23].

AgNPs foram sintetizadas a partir de folhas frescas de noqueira-do-japão (*Ginkgo biloba*), em pH 8,0, e as imagens de MET revelaram nanopartículas esféricas com tamanho variando entre 10 a 16 nm [5]. Nanopartículas na faixa de 20 a 50 nm, com tamanho médio de 38 nm, foram obtidas a partir da biossíntese de AgNPs com extrato das folhas de árvore-do-pão (*Atrocarpus altilis*), em pH 7,0 [10].

As AgNPs obtidas com o extrato das folhas de agrião-do-brejo (*Eclipta prostrata*) apresentaram formato esférico e aglomerações, com diâmetros variando entre 35 a 60 nm e tamanho médio de 45 nm [30]. Utilizando o extrato de semente de *Pimpinella anisum* para biossíntese de AgNPs foram obtidas nanopartículas esféricas, dispersas e com tamanho médio de 80 a 85 nm [31].

Finalmente, AgNPs sintetizadas à temperatura ambiente com extrato de erva-mate e pH natural apresentaram diâmetro médio de 50 nm, com formatos triangulares e hexagonais [15].

IV. CONCLUSÕES

Este trabalho apresentou uma metodologia para a síntese verde de AgNPs a partir do extrato de erva-mate.

No que se refere à influência da composição da solução extratora, verificou-se que a solução hidroalcoólica 33% (v/v) foi a que extraiu a maior quantidade de compostos antioxidantes das folhas de erva-mate. Nesta condição, o teor de fenólicos totais foi quantificado em $295,67 \pm 4,54$ mg de EAG por litro de extrato.

As melhores condições para a síntese verde foram obtidas com a concentração do extrato de 25 mg mL^{-1} , a concentração da solução de AgNO_3 de $1,0 \text{ mmol L}^{-1}$, o pH do extrato igual a 8,0 e a temperatura do meio reacional de $50 \text{ }^\circ\text{C}$.

A análise das AgNPs por espectroscopia de absorção na região do UV-Vis revelou que a forma dos espectros e que a intensidade relativa da banda plasmônica dependem dos parâmetros experimentais avaliados durante a síntese. O pH apresentou a maior interferência, proporcionando modificações na intensidade, na simetria e no comprimento de onda de máxima intensidade da banda

plasmônica. Na análise por MET foram evidenciadas AgNPs com formas e tamanhos variados, sendo que os diâmetros médios variaram de 2,5 a 34,9 nm. Percebeu-se ainda uma mudança na morfologia e no estado de agregação das nanopartículas, em função do pH do meio reacional.

Por fim, é possível concluir que a síntese verde de AgNPs a partir do extrato hidroalcoólico de folhas de erva-mate é uma proposta alternativa ecologicamente correta frente aos métodos tradicionais de síntese dessas nanopartículas.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao Núcleo de Pesquisas em Geoquímica (NupGeo) e ao Laboratório de Caracterização de Materiais II pela oportunidade de realização da pesquisa, fundamental para a conclusão deste trabalho.

V. BIBLIOGRAFIA

- [1] K. Vijayaraghavan; T. Ashokkumar. Plant-mediated biosynthesis of metallic nanoparticles: A review of literature, factors affecting synthesis, characterization techniques and applications. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, v. 5, n. 5, p. 4866-4883, 2017.
- [2] G. Sharmila, et al. Green synthesis, characterization and antibacterial efficacy of palladium nanoparticles synthesized using *Filicium decipiens* leaf extract. *Journal of Molecular Structure*, v. 1138, p. 35-40, 2017.
- [3] R. Rajan, et al. Plant extract synthesized silver nanoparticles: an ongoing source of novel biocompatible materials. *Industrial Crops and Products*, v. 70, p. 356-373, 2015.
- [4] S. Balasubramanian; S. M. J. Kala; T. L. Pushparaj. Biogenic synthesis of gold nanoparticles using *Jasminum auriculatum* leaf extract and their catalytic, antimicrobial and anticancer activities. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, v. 57, 101620, 2020.
- [5] Y. Ren, et al. Green synthesis and antimicrobial activity of monodisperse silver nanoparticles synthesized using *Ginkgo Biloba* leaf extract. *Physics Letters A*, v. 380, n. 45, p. 3773-3777, 2016.
- [6] M.R. Bindhu et al. Green synthesis and characterization of silver nanoparticles from *Moringa oleifera* flower and assessment of antimicrobial and sensing properties. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, p. 111836-111865, 2020.
- [7] A. J. Kora; L. Rastogi. Green synthesis of palladium nanoparticles using gum ghatti (*Anogeissum latifolia*) and its application as an antioxidant and catalyst. *Arabian Journal of Chemistry*, 111836, 2015.
- [8] P. V. Kumar; S. M. J. Kala; K. S. Prakash. Green synthesis derived Pt-nanoparticles using *Xanthium strumarium* leaf extract and their biological studies. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, v. 7, n. 3, 103146, 2019.
- [9] T. Jasrotia et al. Green chemistry-assisted synthesis of biocompatible Ag, Cu, and Fe₂O₃ nanoparticles. *Materials Today Chemistry*, v. 15, 100214, 2020.
- [10] V. Ravichandran, et al. Green synthesis of silver nanoparticles using *Atrocarpus altilis* leaf extract and the study of their antimicrobial and antioxidant activity. *Materials Letters*, v. 180, p. 264-267, 2016.
- [11] GRAND VIEW RESEARCH. Silver nanoparticles market by application (electronics & electrical, healthcare, food & beverages, textiles) and segment forecasts to 2022. Disponível em: <<https://www.grandviewresearch.com/industry-analysis/silver-nanoparticles-market>>. Acesso em 03 mar. 2018.
- [12] A. K. Mittal; Y. Chisti; U. C. Banerjee. Synthesis of metallic nanoparticles using plant extracts. *Biotechnology Advances*, v. 31, n. 2, p. 346-356, 2013.
- [13] T. Rasheed, et al. Green biosynthesis of silver nanoparticles using leaves extract of *Artemisia vulgaris* and their potential biomedical applications. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, v. 158, p. 408-415, 2017.
- [14] R.A. Arreche et al. Synthesis of silver nanoparticles using extracts from Yerba Mate (*Ilex paraguariensis*) wastes. *Waste Biomass Valor*, v. 11, p. 245-253, 2020.
- [15] INSTITUTO BRASILEIRO DO MEIO AMBIENTE E DOS RECURSOS NATURAIS RENOVÁVEIS. Portaria Normativa nº 118-N/92. Disponível em: <http://www.mma.gov.br/estruturas/pnf/arquivos/portaria_normativa_ibama_11_8n_92.pdf>. Acesso em: 09 mar. 2020.
- [16] R. Filip, et al. Antioxidant activity of *Ilex paraguariensis* and related species. *Nutrition Research*, Buenos Aires, v. 20, n. 10, p. 1493-1503, 2000.
- [17] P. Logeswari; S. Silambarasan; J. Abraham. Synthesis of silver nanoparticles using plants extract and analysis of their antimicrobial property. *Journal of Saudi Chemical Society*, v. 19, n. 3, p. 311-317, 2015.
- [18] L. P. Santos. *Desenvolvimento de sistemas nanoestruturados contendo extrato padronizado de Ilex paraguariensis* A. St.-Hil. visando à obtenção de produto fitoterápico tóxico com atividade antioxidante. 2016. 109 f. Dissertação (Mestrado em Farmácia) – Universidade Federal de Santa Catarina, Programa de Pós-Graduação em Farmácia, 2016.
- [19] T. Yamaguchi, et al. HPLC method for evaluation of the free radical-scavenging activity of foods by using 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, v. 62, n. 6, p. 1201-1204, 1998.
- [20] V. L. Singleton; R. Orthofer; R. M. Lamuela-Raventós. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-ciocalteu reagent. *Methods in Enzymology*, v. 299, p. 152-178, 1999.
- [21] V. L. Albernaz. *Síntese verde de nanopartículas de prata com extrato aquoso de folhas de Brosimum gaudichaudii, caracterização físico-química, morfológica e suas aplicações no desenvolvimento de um nanobiossensor eletroquímico*. 2014. 122 f. Dissertação (Mestrado em Nanociência e Nanobiotecnologia) – Universidade de Brasília, Programa de Pós-graduação em Nanociência e Nanobiotecnologia, 2014.
- [22] R. Veerasamy, et al. Biosynthesis of silver nanoparticles using mangosteen leaf extract and evaluation of their antimicrobial activities. *Journal of Saudi Chemical Society*, v. 15, n. 2, p. 113-120, 2011.
- [23] O. Velgsová; A. Mražíková; R. Marcincáková. Influence of pH on green synthesis of Ag nanoparticles. *Materials Letters*, v. 180, p. 336-339, 2016.
- [24] F. Zarpelon. *Preparação, caracterização e aplicação de filmes finos de PAH/PAA com nanopartículas de prata no tratamento microbiológico de efluentes industriais para reuso*. 2013. 82 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia e Ciência dos Materiais) – Universidade de Caxias do Sul, Programa de Pós-Graduação em Engenharia e Ciência dos Materiais, 2013.
- [25] C. M. Pagliosa, et al. *Caracterização química do resíduo de ervas e folhas "in natura" de erva-mate (Ilex paraguariensis* A. St. Hil.). 2009. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos) – Universidade Federal de Santa Catarina, Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Alimentos, 2009.
- [26] C. M. de M. Sousa, et al. Fenóis totais e atividade antioxidante de cinco plantas medicinais. *Química nova*, São Paulo, v. 30, n. 2, p. 351-355, 2007.
- [27] T. S. Ferrera, et al. Substâncias fenólicas, flavonoides e capacidade antioxidante em erva-mate sob diferentes coberturas do solo e sombreamentos. *Revista Brasileira de Plantas Medicinais*, v. 18, n. 2, p. 588-596, 2016.
- [28] C. Dong, et al. Green synthesis of biocompatible silver nanoparticles mediated by *Osmanthus fragrans* extract in aqueous solution. *Optik-International Journal for Light and Electron Optics*, v. 127, n. 22, p. 10378-10388, 2016.
- [29] B. Kumar, et al. Extracellular green synthesis of silver nanoparticles using Amazonian fruit Araza (*Eugenia stipitata* McVaugh). *Transactions of Nonferrous Metals Society of China*, v. 26, n. 9, p. 2363-2371, 2016.
- [30] G. Rajakumar; A. A. Rahuman. Larvicidal activity of synthesized silver nanoparticles using *Eclipta prostrata* leaf extract against filariasis and malaria vectors. *Acta Tropica*, v. 118, n. 3, p. 196-203, 2011.
- [31] S. Devanesan, et al. Rapid biological synthesis of silver nanoparticles using plant seed extracts and their cytotoxicity on colorectal cancer cell lines. *Journal of Cluster Science*, v. 28, p. 595-605, 2017.