

INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA
GOIANO - CAMPUS RIO VERDE
DIRETORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO, PESQUISA E INOVAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGROQUÍMICA

**SÍNTESE DE NANOPARTÍCULAS DE PRATA E
AVALIAÇÃO DA TOXICIDADE EM CARAMUJOS**

Autora: Mariana Chaves Santos

Orientadora: Prof^ª. Dra. Eloiza da Silva Nunes Viali

Coorientadora: Prof^ª. Dra. Ana Carolina Ribeiro Aguiar

Coorientador: Prof. Dr. Celso Martins Belisario

Rio Verde - GO

Junho – 2020

INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA
GOIANO - CAMPUS RIO VERDE
DIRETORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO, PESQUISA E INOVAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGROQUÍMICA

SÍNTESE DE NANOPARTÍCULAS DE PRATA E AVALIAÇÃO DA TOXICIDADE EM CARAMUJOS

Autora: Mariana Chaves Santos

Orientadora: Prof^ª. Dr.^a. Eloiza da Silva Nunes Viali

Coorientadora: Prof^ª. Dr.^a. Ana Carolina Ribeiro Aguiar

Coorientador: Prof. Dr. Celso Martins Belisario

Dissertação apresentada, como parte das exigências para a obtenção do título de MESTRE EM AGROQUÍMICA, no Programa de Pós-Graduação em Agroquímica – Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano – Campus Rio Verde, Agroquímica Ambiental.

Rio Verde - GO

Junho – 2020

Sistema desenvolvido pelo ICMC/USP
Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Sistema Integrado de Bibliotecas - Instituto Federal Goiano

SSA237 Santos, Mariana
s Síntese nanopartículas de prata e avaliação da
toxicidade em caramujos / Mariana Santos;
orientadora Eloiza Vialli, da Silva Nunes; co-
orientador Celso Belisario, Martins. -- Rio Verde,
2020.
78 p.

Dissertação (Mestrado em Mestrado em Agroquímica) -
- Instituto Federal Goiano, Campus Rio Verde, 2020.

1. Nanotecnologia. 2. Nanopartículas metálicas. 3.
Nanopartículas de prata. I. Vialli, da Silva Nunes,
Eloiza, orient. II. Belisario, Martins, Celso, co-
orient. III. Título.



RIIF Goiano

Repositório Institucional do IF Goiano -

Sistema Integrado de Bibliotecas

TERMO DE CIÊNCIA E DE AUTORIZAÇÃO PARA DISPONIBILIZAR PRODUÇÕES TÉCNICO-CIENTÍFICAS NO REPOSITÓRIO INSTITUCIONAL DO IF GOIANO

Com base no disposto na Lei Federal nº 9.610/98, AUTORIZO o Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano, a disponibilizar gratuitamente o documento no Repositório Institucional do IF Goiano (RIIF Goiano), sem ressarcimento de direitos autorais, conforme permissão assinada abaixo, em formato digital para fins de leitura, download e impressão, a título de divulgação da produção técnico-científica no IF Goiano.

Identificação da Produção Técnico-Científica

- | | |
|--|---|
| <input type="checkbox"/> Tese | <input type="checkbox"/> Artigo Científico |
| <input checked="" type="checkbox"/> Dissertação | <input type="checkbox"/> Capítulo de Livro |
| <input type="checkbox"/> Monografia – Especialização | <input type="checkbox"/> Livro |
| <input type="checkbox"/> TCC - Graduação | <input type="checkbox"/> Trabalho Apresentado em Evento |
| <input type="checkbox"/> Produto Técnico e Educacional - Tipo: | |

Nome Completo do Autor: Mariana Chaves Santos
Matrícula: 20181033103I0116

Título do Trabalho: SÍNTESE DE NANOPARTÍCULAS DE PRATA E AVALIAÇÃO DA TOXICIDADE EM CARAMUJOS

Restrições de Acesso ao Documento

Documento confidencial: Não Sim, justifique: _____

Informe a data que poderá ser disponibilizado no RIIF Goiano: 20/02/2021

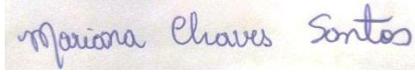
O documento está sujeito a registro de patente? Sim Não
O documento pode vir a ser publicado como livro? Sim Não

DECLARAÇÃO DE DISTRIBUIÇÃO NÃO-EXCLUSIVA

O/A referido/a autor/a declara que:

- o documento é seu trabalho original, detém os direitos autorais da produção técnico-científica e não infringe os direitos de qualquer outra pessoa ou entidade;
- obteve autorização de quaisquer materiais inclusos no documento do qual não detém os direitos de autor/a, para conceder ao Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano os direitos requeridos e que este material cujos direitos autorais são de terceiros, estão claramente identificados e reconhecidos no texto ou conteúdo do documento entregue;
- cumpriu quaisquer obrigações exigidas por contrato ou acordo, caso o documento entregue seja baseado em trabalho financiado ou apoiado por outra instituição que não o Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano.

RIO VERDE, 15/02/2021.
Local Data



Assinatura do Autor e/ou Detentor dos Direitos Autorais

Ciente e de acordo:



Assinatura do(a) orientador(a)



SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
 MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
 SECRETARIA DE EDUCAÇÃO PROFISSIONAL E TECNOLÓGICA
 INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA GOIANO

Ata nº 17/2020 - NREPG-RV/CPG-RV/DPGPI-RV/DG-RV/CMPRV/IFGOIANO

PRÓ-REITORIA DE PESQUISA, PÓS-GRADUAÇÃO E INOVAÇÃO

ATA Nº/70

BANCA EXAMINADORA DE DEFESA DE DISSERTAÇÃO

Aos trinta dias do mês de junho do ano de dois mil e vinte, às 14h00min (quatorze horas), reuniram-se os componentes da banca examinadora em sessão pública realizada por videoconferência, para procederem a avaliação da defesa de Dissertação, em nível de mestrado, de autoria de **Mariana Chaves Santos**, discente do Programa de Pós-Graduação em Agroquímica do Instituto Federal Goiano – Campus Rio Verde. A sessão foi aberta pelo(a) presidente da Banca Examinadora, Prof. Dr. Celso Martins Belisario, que fez a apresentação formal dos membros da Banca. A palavra, a seguir, foi concedida o(a) autor (a) para, em 30 min., proceder à apresentação de seu trabalho. Terminada a apresentação, cada membro da banca arguiu o(a) examinado(a), tendo-se adotado o sistema de diálogo sequencial. Terminada a fase de arguição, procedeu-se a avaliação da defesa. Tendo-se em vista as normas que regulamentam o Programa de Pós-Graduação em Agroquímica, e procedidas às correções recomendadas, a Dissertação foi APROVADA, considerando-se integralmente cumprido este requisito para fins de obtenção do título de **MESTRE (a) NO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGROQUÍMICA**, na área de concentração em Agroquímica, pelo Instituto Federal Goiano – Campus Rio Verde. A conclusão do curso dar-se-á quando da entrega na secretaria do PPGAq da versão definitiva da Dissertação, com as devidas correções. Assim sendo, a defesa perderá a validade se não cumprida essa condição, em até **60 (sessenta) dias** da sua ocorrência. A Banca Examinadora recomendou a publicação dos artigos científicos oriundos dessa dissertação em periódicos após procedida as modificações sugeridas. Cumpridas as formalidades da pauta, a presidência da mesa encerrou esta sessão de defesa de Dissertação de Mestrado, e para constar, foi lavrada a presente Ata, que, após lida e achada conforme, será assinada eletronicamente pelos membros da Banca Examinadora.

Membros da Banca Examinadora

Nome	Instituição	Situação no Programa
Celso Martins Belisario	IF Goiano – Campus Rio Verde	Presidente
Carlos Frederico de Souza Castro	IF Goiano – Campus Rio Verde	Membro interno
Wesley Renato Viali	IF Goiano – Campus Rio Verde	Membro externo

Documento assinado eletronicamente por:

- **Carlos Frederico de Souza Castro, PROFESSOR ENS BASICO TECN TECNOLOGICO**, em 30/06/2020 18:51:24.
- **Wesley Renato Viali, PROFESSOR ENS BASICO TECN TECNOLOGICO**, em 30/06/2020 18:00:51.
- **Celso Martins Belisario, PROFESSOR ENS BASICO TECN TECNOLOGICO**, em 30/06/2020 17:36:50.

Este documento foi emitido pelo SUAP em 25/06/2020. Para comprovar sua autenticidade, faça a leitura do QRCode ao lado ou acesse <https://suap.ifgoiano.edu.br/autenticar-documento/> e forneça os dados abaixo:

Código Verificador: 157114

Código de Autenticação: 9c1ace8322



INSTITUTO FEDERAL GOIANO
Campus Rio Verde
Rodovia Sul Goiana, Km 01, Zona Rural, None, RIO VERDE / GO, CEP 75901-970
(64) 3620-5600



SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
SECRETARIA DE EDUCAÇÃO PROFISSIONAL E TECNOLÓGICA
INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA GOIANO

Documentos 15/2020 - NREPG-RV/CPG-RV/DPGPI-RV/DG-RV/CMPRV/IFGOIANO

SÍNTESE DE NANOPARTÍCULAS DE PRATA E AVALIAÇÃO DA SUA TOXICIDADE EM CARAMUJOS

Autora: Mariana Chaves Santos
Coorientador: Dr. Celso Martins Belisário

TITULAÇÃO: Mestre em Agroquímica - Área de Concentração Agroquímica

APROVADO em 30 de junho de 2020.

Prof. Dr. Wesley Renato Viali
Avaliador externo - IF Goiano /
Rio Verde

Prof. Dr. Carlos Frederico de
Souza Castro
Avaliador interno - IF Goiano /
Rio Verde

Prof. Dr. Celso Martins Belisario
Presidente da Banca - IF Goiano / Rio Verde

Documento assinado eletronicamente por:

- **Carlos Frederico de Souza Castro, PROFESSOR ENS BASICO TECN TECNOLOGICO**, em 30/06/2020 18:50:53.
- **Wesley Renato Viali, PROFESSOR ENS BASICO TECN TECNOLOGICO**, em 30/06/2020 18:00:08.
- **Celso Martins Belisario, PROFESSOR ENS BASICO TECN TECNOLOGICO**, em 30/06/2020 17:38:58.

Este documento foi emitido pelo SUAP em 25/06/2020. Para comprovar sua autenticidade, faça a leitura do QRCode ao lado ou acesse <https://suap.ifgoiano.edu.br/autenticar-documento/> e forneça os dados abaixo:

Código Verificador: 157134

Código de Autenticação: 621a616bb4



INSTITUTO FEDERAL GOIANO
Campus Rio Verde
Rodovia Sul Goiana, Km 01, Zona Rural, None, RIO VERDE / GO, CEP 75901-970
(64) 3620-5600

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus por ser tão bom comigo, por todos os momentos de fraqueza em que encontrei amparo em seus braços. Por todos os livramentos e cuidados, por renovar as minhas forças e conceder a oportunidade de conhecer e viver experiências incríveis ao lado de pessoas maravilhosas, sempre me mostrando que nunca estarei sozinha.

Agradeço a minha família, meu pai o meu maior incentivador, que sempre acredita em mim, por mais louca que pareça a minha ideia. Nunca mediu esforços para me ajudar a seguir em frente. Minha mãezinha por todo cuidado e incentivo e conselhos, pelos princípios que me ensinou, sem dúvidas, vocês são o melhor de mim, mesmo distante, sempre estiveram me segurando à mão; aos meus irmãos Paulo Henrique, Antônio Cardoso e Cleidiane que sempre me incentivaram; aos meus sobrinhos Sebastian Simplício e Ana Clara, são os seus sorrisos que acalmam as minhas angústias. Agradeço aos demais familiares. Ao meu Lucas que durante esses dois anos sempre esteve ao meu lado me apoiando.

Serei eternamente grata a minha orientadora, Eloiza da Silva Nunes Viali, por todo conhecimento e experiências que a mim foram passados, pela paciência e dedicação em me orientar. Ao meu coorientador Celso Martins Belisário, pela paciência, dedicação e conhecimento. Sempre prestativo e disposto a auxiliar em minhas dúvidas. A professora e também minha coorientadora Ana Carolina Ribeiro Aguiar, que me acolheu carinhosamente na minha chegada em Rio verde, e que sempre esteve disposta a me ajudar sempre que precisei. Aos demais professores do programa, que sempre me auxiliaram no que precisei.

Agradeço ao Professor Thiago Rocha, um dos colaboradores do projeto, sempre muito prestativo e toda a equipe do laboratório de biotecnologia ambiental e ecotoxicologia /Labae da Universidade federal de Goiás/UFG, em especial a Paula Amorim e Maxwell Batista que me auxiliaram nos testes de toxicidade, surgindo uma bela amizade.

Agradeço a CAPES e o CNPq, pela concessão da bolsa, pois essa foi responsável pela minha permanência no mestrado, bem como a participação em eventos e projetos; agradeço ao IFGoiano – Rio Verde e ao Programa de Mestrado em Agroquímica, pela oportunidade. Agradeço as minhas amigas Jany Moura, Amanda Oliveira, entramos juntas no mestrado e

com as experiências compartilhadas temos um forte laço de amizade.

Agradeço a todos que fazem parte do Laboratório de Materiais e Eletroanalítica, em especial os meus colegas que tornaram essa jornada mais leve e prazerosa Lhais Lara, Aline Sousa, Lorena Lemes, Paulo Cesar, que participaram diretamente e indiretamente desse trabalho.

Agradeço a família que o IFPI me deu, Das, Yanna, Ariele, Lud, Maria, Talita, Thaila, Luelma e por último minha companheira e amiga Jeisa que estendeu a mão e me abrigou quando eu mais precisei, meu muito obrigada, minhas irmãs de alma. Aos meus professores da Graduação, Joaquim Junior, Ronaldo Cunha, Fábio Batista, Vicente Galber, Luzia Aurea, e Luís Fernando.

Agradeço a todas as pessoas que contribuíram direta e indiretamente com a concretização desse sonho, que me deram abrigo, carona, comida, conselhos, que me apresentaram em suas orações, que fizeram parte dos bastidores dessa conquista, em especial aos meus amigos Bruna Larissa, Vanessa, Kaline, Artur, Eliza, Scarlett, Karol, Raysa e todos do Mama.

BIOGRAFIA DA AUTORA

Mariana Chaves Santos nasceu em 28 de dezembro de 1993, residente em Teresina – PI, filha de Antônio Ferreira Chaves e Maria Lucia dos Santos, um professor e uma lavradora. Em 2007, concluiu o Ensino Fundamental e Médio na rede pública de ensino. Em dezembro de 2016, concluiu a graduação em Licenciatura em Química pelo Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Piauí – IFPI Campus Teresina Central, onde também foi Bolsista do Programa Institucional de Bolsa de Iniciação à Docência (PIBID) e Programa Institucional de Bolsa de Iniciação Científica (PIBIC) de forma voluntária. Em março de 2018, ingressou no Programa de Pós-Graduação em Agroquímica, em nível de Mestrado, na área de concentração em Agroquímica Ambiental, submetendo-se à defesa da dissertação, requisito indispensável para a obtenção do título de Mestre em Agroquímica pelo Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano – Campus Rio Verde, em junho de 2020.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	1
2	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	2
2.1	Nanotecnologia.....	2
2.1.1	Nanopartículas metálicas.....	3
2.1.2	Nanopartículas de prata	4
2.2	Sínteses de nanopartículas.....	5
2.2.1	Síntese convencional	7
2.2.2	Síntese verde	8
2.2.3	Aplicações de Nanopartículas de prata	9
2.3	Toxicidade das AgNps	9
2.3.1	Moluscidas.....	10
2.3.2	Plantas utilizadas como moluscidas	12
2.4	<i>Biomphalaria glabrata</i>	13
2.5	Esquitossomose	Erro! Indicador não definido.
3	Referências Bibliográficas	15
4	OBJETIVOS	23
4.1	Objetivogeral.....	23
4.2	Objetivosespecíficos.....	23
	CAPÍTULO I.....	24
	INTRODUÇÃO	26
	EXPERIMENTAL	27
	RESULTADOS E DISCUSSÃO	31
	CONCLUSÃO	40
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	40
	CAPÍTULO II	43
	INTRODUÇÃO	46
	EXPERIMENTAL	50
	RESULTADOS E DISCUSSÃO	52
	CONCLUSÃO	61
	REFERÊNCIAS	62

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1 – Tabela com as siglas de identificação das nanopartículas e redutores produzidos no presente trabalho, junto com as concentrações utilizadas.	29
Tabela 2 - Medidas de valores de estabilidade DLS e Potencial Zeta.....	37
Tabela 3 - Condições ótimas para a produção das nanopartículas de prata combinadas com extratos de plantas.	51
Tabela 4 - Medidas de estabilidade DLS e potencial Zeta	54

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1 - Imagem representando fatores que podem influenciar na obtenção de nanopartículas metálicas (Fonte: Autora).....	4
Figura 2 - Esquema do plasmon ressonante (LIZ-MARZÁN, 2004).....	4
Figura 3 - Esquema dos métodos top down e bottom up de síntese de NPs.	6
Figura 4 - Mapa de incidência do <i>Biomphalaria glabrata</i> no Brasil (CARVALHO et al., 2008).	14
Figura 5 - Síntese de AgNP com ácido ascórbico.	28
Figura 6 - Imagens de microscopia eletrônica de transmissão (A) das nas nanopartículas de prata usando como redutor o ácido ascórbico (AgNPAA); (B) Imagem ampliada da AgNPAA na ordem de 5 nm.	31
Figura 7 - Imagens ampliada das sínteses mostrando as diferentes morfologias. A) Nanopartículas de prata com ácido ascórbico AgNPAA. B) Nanopartículas de prata com borohidreto de sódio AgNPBH. C) Nanopartículas de prata com ácido tânico AgNPTA.....	32
Figura 8 - Imagens de microscopia de transmissão (A) da Nanopartícula de prata usando borohidreto como redutor (AgNPBH) (B) e imagem aproximada na ordem de 5 nm.....	33
Figura 9 - Imagens de microscopia de transmissão (A) da AgNPTA (B) e imagem aproximada na ordem de 5 nm.	34
Figura 10 - Espectros de UV-visível das sínteses de ácido ascórbico, borohidreto e ácido tânico.	35
Figura 11 - Espectros de infravermelho das amostras (AgNPAA) Nanopartículas de prata com ácido ascórbico. (AgNPBH) Nanopartículas de prata com borohidreto de sódio. (AgNPTA) Nanopartículas de prata com ácido tânico.....	36
Figura 12 – Resultado da exposição dos moluscos <i>B. Glabrata</i> com diferentes redutores, ácido ascórbico (AgNPAA), borohidreto de sódio (AgNPBH) e ácido tânico (AgNPTA).....	39
Figura 13 - Esquema ilustrativo do princípio da síntese verde de NPMs utilizando plantas (SILVA, 2014).....	47
Figura 14 - imagens das arvores utilizadas com suas respectivas partes casca, fruto e seiva para a obtenção dos extratos. A) barueiro; b) cajueiro c) sangra d'água.....	49
Figura 15 - Imagens de MET das nanopartículas de prata combinadas com diferentes extratos A) Nanopartículas de prata com extrato de Sangra d'água (AgNPSD); B) Nanopartículas de prata com extrato de Caju (AgNPCA); C) Nanopartículas de prata com extrato de Baru	

(AgNPBA).....	53
Figura 16 - Espectros de UV-vis dos extratos de sangra d'água na cor preta, caju na cor vermelha e baru na cor azul.....	56
Figura 17 - Espectros de UV-vis das AgNPs combinados com extratos de sangra d'água na cor preta, caju na cor vermelha e baru na cor azul.	56
Figura 18 - Espectros de infravermelho das amostras AgNPSD Nanoparticulas de prata combinadas com extrato de sangra d'água; AgNPCA: Nanoparticulas de prata combinadas com extato de caju e AgNPBA. Nanoparticulas de prata combinadas com extrato de baru...	57
Figura 19 - Resultado da comparação da exposição dos moluscos B. Glabrata com extratos puros e combinados com nanopartículas de prata. A) AgNPSD Nanoparticulas de prata combinadas com extrato de sangra d'água; B) AgNPCA: Nanoparticulas de prata combinadas com extato de caju e C) AgNPBA. Nanoparticulas de prata combinadas com extrato de baru, em 5 concentrações distintas, e tempo de exposição de 96 horas e controle negativo (água reconstituída).	59
Figura 20 – Índices de mortalidade de moluscos expostos a diferentes concentrações: A) AgNPSD Nanoparticulas de prata combinadas com extrato de sangra d'água; B) AgNPCA: Nanoparticulas de prata combinadas com extato de caju e C) AgNPBA Nanoparticulas de prata combinadas com extrato de baru e controle negativo com água reconstituída em variados tempos de exposição.....	60

LISTA DE SÍMBOLOS, SIGLAS, ABREVIACÕES E UNIDADES

AgNP	Nanopartículas de prata
AgNPAA	Nanopartículas de prata com o redutor ácido ascórbico
AgNPBA	Nanopartículas de prata combinadas com extrato de baru
AgNPBH	Nanopartículas de prata com o redutor borohidreto de sódio
AgNPCA	Nanopartículas de prata combinadas com extrato de caju
AgNPSD	Nanopartículas de prata combinados com extrato de sangra d'água
AgNPPTA	Nanopartículas de prata com o redutor ácido tânico
DH	Diâmetro hidrodinâmico
DLS	<i>Dynamic Light Scattering</i> (Espalhamento de luzdinâmico)
ELS	Electrophoretic Light Scattering
FTIR	<i>Fourier Transform Infrared</i> (infravermelho com transformada de Fourier)
IPTSP	Instituto de Patologia Tropical e saúde pública
MET	Microscopia eletrônica de transmissão
Mv	Milivolt
Nm	Nanômetro (Símbolo é nm) ok
NPM	Nanopartículas metálicas
P. Zeta	Potencial Zeta
Pdi	<i>Polydispersity Index</i> (Índice de polidispersividade)
UFG	Universidade federal de Goiás
UV-vis	UV-Visível

RESUMO

SANTOS, M.C. Instituto Federal Goiano – Campus Rio Verde – GO, maio de 2020. **Síntese e caracterização de Nanopartículas de prata e avaliação da toxicidade em caramujos.**

Orientadora: Prof^ª. Dra. Eloiza da Silva Nunes Viali; Coorientadora: Prof^ª. Dra. Ana Carolina Ribeiro Aguiar; Coorientador: Prof. Dr. Celso Martins Belisário

Com o aumento do interesse da comunidade científica pela nanotecnologia e pela nanociência, surge o interesse na busca por rotas alternativas de sínteses mais seguras e com menor impacto ao meio ambiente. Parte desse interesse se dá às inúmeras aplicações dadas a nanopartículas metálicas, como construção de sensores, microeletrônica, catálise, ação bactericida, medicamentos entre outras, por suas altas propriedades ópticas, eletrônicas, magnéticas e catalíticas. A síntese verde de NPMs visa à utilização de organismos biológicos, ou partes deles (como órgãos, tecidos, células ou biomoléculas), como substituintes de reagentes químicos tóxicos nas reações de síntese de nanocompostos, apresentando como alternativa sustentável. Com esse trabalho, pretendeu-se relatar diferentes rotas de síntese, incluindo a síntese verde de nanopartículas de prata (AgNPs), com extratos de plantas do Bioma Cerrado, e testar sua toxicidade em caramujos da espécie *Biomphalaria glabrata*, vetor do parasita *Schistosoma mansoni*, que provoca a esquistossomose. A caracterização das AgNPs combinadas com os extratos foi realizada por espectroscopia na região do UV-Visível; os grupos funcionais foram analisados por Espectroscopia no Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR); o tamanho das partículas foi observado por microscopia eletrônica de transmissão (MET); A carga superficial das nanopartículas foi analisada em aparelho Zeta Sizer Nano Z-S em diferentes intervalos de tempo. A avaliação do efeito moluscicida das AgNPs com extrato vegetal de plantas do Cerrado foi realizada em parceria com a Universidade Federal de Goiás. As AgNPs apresentaram absorvância máxima a cerca de 400 nm. As cargas superficiais variaram entre -54,7 mV a -29,5 mV. Apenas a amostra de nanopartículas de prata com o redutor borohidreto promoveu mortalidade de 100% e das sínteses utilizando extratos as que apresentaram mortalidade foram as AgNP combinadas com sangra d'água e com caju O processo de síntese apresentou alta reprodutibilidade, alcançaram o escalonamento desejado, e pode ser utilizada como um moluscicida, apresentando 100% da mortalidade dos caramujos expostos.

PALAVRAS- CHAVE: Nanotecnologia, nanopartículas metálicas, nanopartículas de prata.

ABSTRACT

SANTOS, M.C. Instituto Federal Goiano – Campus Rio Verde – GO, May 2020. **Synthesis and characterization of silver nanoparticles and toxicity assessment in snails.** Advisor: Profa. Dra. Eloiza da Silva Nunes Vialli; Co-advisor: Prof^ª. Dra. Ana Carolina Ribeiro Aguiar; Co-supervisor: Prof. Dr. Celso Martins Belisario

With the increasing interest of the scientific community in nanotechnology and nanoscience, there is an interest in the search for alternative routes of safer syntheses with less impact on the environment. Part of this interest is due to the numerous applications given to metallic nanoparticles, such as sensor construction, microelectronics, catalysis, bactericidal action, drugs, among others, due to their high optical, electronic, magnetic and catalytic properties. The green synthesis of NPMs aims to use biological organisms, or parts of them (such as organs, tissues, cells or biomolecules), as substitutes for toxic chemical reagents in the synthesis reactions of nanocomposites, presenting itself as a sustainable alternative. This work aimed to report different synthesis routes, including the green synthesis of silver nanoparticles (AgNPs), with extracts from plants of the Cerrado Biome, and to test their toxicity in snails of the species *Biomphalaria glabrata*, vector of the parasite *Schistosoma mansoni*, which causes schistosomiasis. The characterization of AgNPs combined with extracts was performed by spectroscopy in the UV-Visible region; the functional groups were analyzed by Infrared Spectroscopy with Fourier Transform (IVTF); particle size was observed by transmission electron microscopy (MET); The surface charge of the nanoparticles was analyzed in a Zeta Sizer Nano Z-S device at different time intervals. The assessment of the molluscicide effect of AgNPs with plant extract from Cerrado plants was carried out in partnership with the Federal University of Goiás. The AgNPs showed maximum absorbance around 400 nm. Surface loads ranged from -54.7 mV to -29.5 mV. Only the sample of silver nanoparticles with the borohydride reducer promoted 100% mortality and for the syntheses using extracts the ones that showed mortality were the AgNP combined with water bleeding and cashew. The synthesis process showed high reproducibility, reached the desired scale, and it can be used as a molluscicide, presenting 100% of the mortality of exposed snails.

KEYWORDS: Nanotechnology, metallic nanoparticles, silver nanoparticles

1 INTRODUÇÃO

A nanotecnologia tem se consolidado como ferramenta eficaz na solução de problemáticas técnicas e ambientais em áreas como conversão de energia solar (DAN et al., 2018), catálise aplicada (VAN VAERENBERGH et al., 2018), medicina (ZARRINTAJ et al., 2017) e biotecnologia (WERKNEH& RENE, 2019). Acompanhando esta tendência, há um esforço global em reduzir a geração e toxicidade de resíduos, implantando os princípios fundamentais da química verde nos processos e progressivamente integrando-os com as tecnologias de ponta desenvolvidas na ciência (KARGOZAR & MOZAFARI, 2018).

Há grande esforço na literatura em investigar a síntese de nanopartículas metálicas para usos em áreas como catálise, eletrônica, ambiental e biotecnologia. Esse interesse se deve às propriedades exibidas por esta classe de nanopartículas, como ressonância plasmon de superfície e atividade biológica, as quais são dependentes do tamanho, ambiente químico e espécies adsorvidas na superfície (CHANG et al., 2019).

Nanopartículas de prata (AgNP) são frequentemente obtidas como coloides, e apresentam elevada atividade antimicrobiana. A obtenção de AgNP geralmente ocorre por métodos de redução química, técnicas eletroquímicas e fotoquímicas (SHARMA et al., 2019). Contudo, os métodos de síntese verde de AgNP têm sido abordados recentemente, e geralmente envolvem o estabelecimento de passos como a seleção do meio (solvente), seleção do agente redutor e de agentes estabilizantes ambientalmente amigáveis (VIRKUTYTE, 2011).

Extratos originados de bio-organismos tais como algas e plantas, podem atuar como agentes redutores e como agentes estabilizantes para a síntese de AgNP. A redução de íons Ag^+ pela combinação de biomoléculas extraídas destas fontes é ambientalmente benigna e quimicamente complexa. Muitos relatos na literatura demonstram a obtenção de AgNP utilizando biomoléculas aplicando-as contra pragas e vetores, a citar os extratos das folhas de neen (*Azadirachta indica*) (VELUSAMY et al., 2015), *Aloe vera* (TIPPAYAWAT et al., 2016), capim-limão (*Cymbopogon flexuosus*) (GUPTA& GANJEWALA, 2015).

O Cerrado brasileiro exhibe grande biodiversidade, contendo mais de 12000 espécies de plantas. Muitos estudos têm demonstrado o elevado potencial fitoquímico das plantas oriundas do Cerrado, as quais frequentemente exibem atividades fitotóxica, antifúngica,

inseticida e antibacteriana (TIZEI, 2008).

Contudo, investigações do uso de extratos de plantas nativas do Cerrado para síntese de AgNP são escassas. Esta proposta de pesquisa busca contribuir nesse ponto cientificamente incipiente. A ação combinada de AgNP com os extratos bioativos de plantas podem aumentar a eficácia de ação e o potencial inibitório de crescimento de microrganismos (MELO,2013).

Desta forma, diante do vasto número de possibilidades de combinação de espécies e atividades, optou-se por restringir os objetivos desta pesquisa à utilização de extratos de plantas com atividade moluscicida. Este uso está relacionado com problemas sanitários e saúde com a necessidade do controle da população de vetores (*Biomphalaria glabrata*), transmissores de esquistossomose.

O presente trabalho se dividiu em dois capítulos, o primeiro relata uma síntese convencional, com a obtenção de três amostras com redutores diferentes: ácido ascórbico (AgNPAA), borohidreto de sódio (AgNPBH) e ácido tânico (AgNPTA). O segundo mostra a obtenção de AgNP combinados com extratos de plantas nativas do bioma Cerrado: Sangra d'água (*Cróton urucurana*) (AgNPSP), Caju (*Anacardium occidentale*) (AgNPJA) e Baru (*Dipteryx alata Vogel*) (AgNPBA).

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Nanotecnologia

A nanotecnologia é uma área da ciência que avalia a matéria que apresenta tamanho em nível molecular, em escala nanométrica, de tamanho entre 1 e 100 nm, permitindo, assim a manipulação de material em nanoescala para atender as necessidades existentes (OLAWOYIN, 2018). O desenvolvimento e o uso de nanopartículas de prata (AgNPs) aumentou rapidamente, por causa de suas propriedades ópticas, químicas, eletrônicas, catalíticas, magnéticas, antibacterianas e biológicas (HE et al., 2018).

A evolução do conhecimento em nanotecnologia demonstrou conceitos fundamentais da área e proporcionou diversas aplicações como na microbiologia aplicada (HE et al., 2018), a bionanotecnologia (SOLIMAN et al., 2017), os pontos quânticos e espalhamento Raman de superfície (WANG et al., 2016), em produtos químicos, em imagens biomédicas, em sensores, na agricultura, na engenharia de tecidos e na entrega e direcionamento de drogas (DESHMUKH et al., 2019) em biomedicina (RAU et al., 2017)

entrega de medicamentos (PROW et al., 2011), indústrias de alimentos (CHAUDHRY & CASTLE, 2011), indústrias têxteis (KELLY & JOHNSTON, 2011), tratamento de água (KAMALI et al., 2019) como agente antimicrobiano, antifúngico, em catálise (CHANG et al., 2019), e espectroscopia (MENG et al., 2017).

2.1.1 Nanopartículas metálicas

Em 1857, o físico e químico Michael Faraday produziu nanopartículas de ouro (AuNPs) dispersas em suspensão coloidal. Momento em que a síntese de NPs foi realizada de modo intencional pela primeira vez. As NPs têm gerado muito interesse em virtude de apresentarem propriedades físicas, químicas e/ou biológicas específicas, em comparação a partículas em seu tamanho natural. Devido ao seu tamanho em nanoescala, a razão entre a área de superfície e o volume das NPs aumenta, fazendo com que elas se tornem mais reativas. Adicionalmente, podem surgir comportamentos eletrônicos e ópticos característicos, devido ao confinamento eletrônico, característica proeminente nas nanopartículas metálicas (NPM).

Essas propriedades e a reatividade das NPs são dependentes de diversos fatores, ilustrados na Figura 1, entre eles: a composição química; a concentração e o estado de agregação; o tamanho, que está diretamente ligado com sua reatividade por razão volume-área de superfície; a forma, relacionada também com a área de superfície e com a condutividade da NP; e o recobrimento da NP, que vai moldar a sua interação com o meio externo (KHODASHENAS & GHORBANI, 2015).

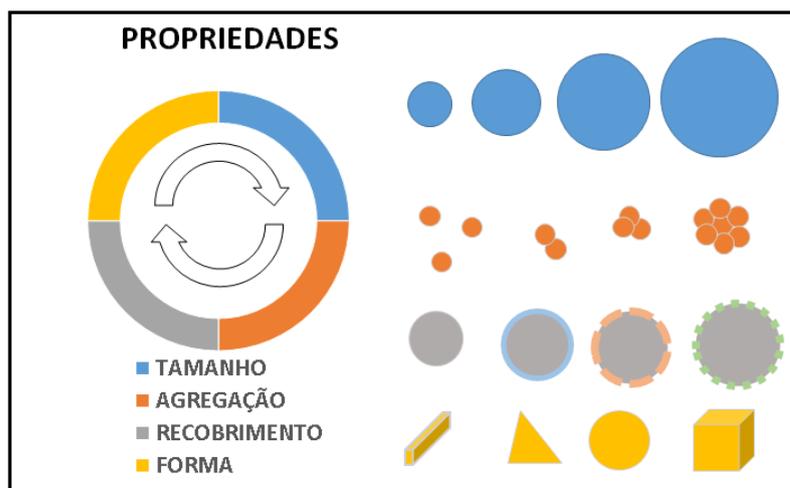


Figura 1 - Imagem representando fatores que podem influenciar na obtenção de nanopartículas metálicas (Fonte: Autora).

Sabendo que as NPs são bastante dependentes do tamanho da partícula. Tendo em vista que as variações de tamanho e forma da partícula, o espectro de absorção óptica das NPs, apresentam mudanças na banda plasmon, tais como variação de intensidade e desvio do seu comprimento de onda. Dentre os metais que apresentam ressonância plasmon no espectro visível, ouro, prata e cobre, a prata é a que exibe maior eficiência na excitação (Figura 2) do plasmon. (GRASSIAN, 2008).

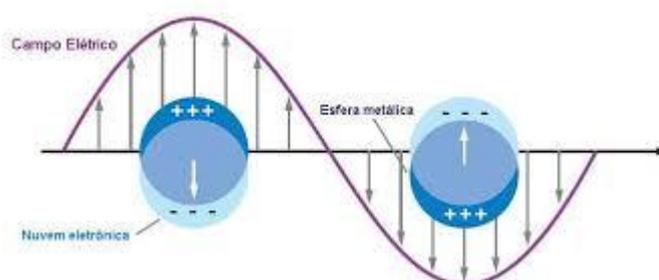


Figura 2 - Esquema do plasmon ressonante (LIZ-MARZÁN, 2004).

2.1.2 Nanopartículas de prata

Nas últimas décadas, as nanopartículas de prata (AgNPs) têm sido consideradas materiais de vanguarda por suas propriedades promissoras, que parecem diferir dos seus homólogos em massa. A principal característica dos AgNPs é a alta área de superfície em

relação ao volume, permitindo a nanoestrutura a ser extensivamente explorada em diversas áreas como biotecnologia, eletrônica, medicina, remediação ambiental, biossensores, agricultura e indústria de alimentos. O uso extensivo de AgNPs reflete na quantidade de fornecedores mundiais e no consumo global dessas nanopartículas em produtos elétricos, de saúde, alimentos e produtos têxteis (CALDERÓN-JIMÉNEZ et al., 2017).

Novas aplicações para AgNPs são descobertas diariamente, com isso, pode-se esperar a continuação do crescimento na fabricação global de nanopartículas. Syafiuddin et al. (2017) relataram que, pelo bom desempenho de AgNPs em aplicações eletrônicas e elétricas, está previsto o crescimento dessas demandas até 2022.

Curiosamente, entre os nanomateriais produzidos hoje, um quinto (435 nanoproductos) são de prata com produção total anual entre 320 e 420 toneladas, isso ainda é um volume pequeno na escala industrial (PULITPROCIAK & BANACH, 2016). No entanto, a demanda por AgNPs não se restringe apenas a produtos comerciais; esses nanomateriais mostraram uso potencial em aplicações ambientais, como em processos de biorremediação (YADAV, S. K. et al., 2017) e tratamento de águas residuais (MOUSTAFA et al., 2017)

Como é necessário grande volume de AgNPs para satisfazer a demanda do mercado em diferentes aplicações, as AgNPs são sintetizadas em escala industrial, principalmente através de técnicas físico-químicas, como o uso de raios gama (FLORES-ROJAS et al., 2020), métodos eletroquímicos (NASRETDINOVA et al., 2015), redução química (KHAN et al., 2017).

Embora esses métodos sejam considerados eficazes e eficientes, eles geram resíduos tóxicos que potencialmente podem ser liberados no meio ambiente. Eles também estão associados a altos custos e energia. Para superar essas questões, grandes esforços foram feitos nos últimos anos para promover a síntese em larga escala de AgNPs por meios econômicos eficazes.

2.2 Sínteses de nanopartículas

A síntese de nanopartículas (NPs) é uma área de pesquisa em expansão pelas propriedades químicas, físicas e biológicas, que conduzem a ampla gama de aplicações.

Em 1857 Michael Faraday relatou pela primeira vez a síntese coloidal do ouro, desde então vários métodos para a obtenção das nanopartículas metálicas vem sendo

desenvolvidos. Em geral, eles são métodos químicos, em especial aqueles baseados em automontagem e auto-organização e considerando aspectos como a qualidade da síntese obtida, a rapidez e o custo da preparação. Os nanomateriais podem ser preparados por duas abordagens *bottom-up* ("de baixo para cima"), onde se constroem materiais a partir dos átomos ou moléculas ou através da abordagem *top-down* ("de cima para baixo") (Figura 3), onde há uma quebra de um material maior que irá ser trabalhado em nanopartículas, fazendo-se uso de técnicas específicas (JU-NAM& LEAD, 2008).

Para a fabricação de estruturas em três dimensões, originando assim pontos quânticos, geralmente, utiliza-se técnicas específicas normalmente essas técnicas utilizam um feixe eletrônico. Além da litografia na abordagem *top-down* "de cima para baixo" um material de estrutura nanométrica em três dimensões pode ser obtido a partir da técnica de evaporação-condensação, que se coloca o material de interesse sobre uma superfície por várias etapas de corrosão química seletiva(JU-NAM& LEAD, 2008).

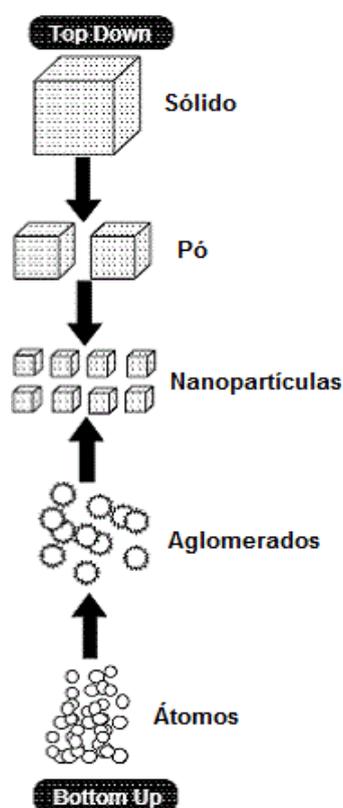


Figura 3 - Esquema dos métodos *top down* e *bottom up* de síntese de NPs.

Quando se considera o controle de tamanho de partícula, busca-se um controle rigoroso de variáveis, tais como pH do meio reacional, temperatura de calcinação e a dispersão das espécies químicas de interesse. Nesse contexto, tem-se investigado como os diferentes métodos de preparação dos catalisadores, a natureza do suporte e a interação metal-suporte afetam o tamanho e a forma das nanopartículas, visando aumentar e estabilizar a atividade catalítica (HARUTA, 2004).

No procedimento de "baixo para cima", os átomos podem ser depositados sobre uma superfície regular e se autoagrupam sobre a superfície, formando estruturas nanométricas com tamanho e características bem definidos. A produção das nanopartículas metálicas pelo método de redução química foi amplamente estudada na presença de agente estabilizante para evitar a aglomeração indesejada de coloides (JU-NAM& LEAD, 2008).

Os agentes estabilizantes mais comumente utilizados são o borohidreto de sódio, o ácido ascórbico e o citrato de sódio. Abordagens de sínteses verdes utilizando extratos de plantas para a síntese de nanopartículas metálicas têm sido sugeridos como ferramenta alternativa valiosa aos processos convencionais (SHANKAR, 2016).

2.2.1 Síntese convencional

Diferentes métodos físicos e químicos, como eletroquímicos, redução química e redução fotoquímica são comumente empregados para a preparação e estabilização de nanopartículas metálicas. Em que o uso de metais nobres como ouro, prata e platina vem se tornando destaque, para a síntese de nanopartículas com aplicações diversas aplicações. (KRUTYAKOV et al., 2008)

Diferentes métodos podem ser utilizados para a obtenção de nanopartículas metálicas, e a seleção do método de preparação varia de acordo com o objetivo da síntese. Alguns desses métodos são técnicas físico-químicas como redução química que usam água ou solventes orgânicos para preparar as nanopartículas.

Esse processo, geralmente emprega três componentes principais como precursores de metais, agentes redutores e estabilização e basicamente a redução de sais de prata envolve duas fases a nucleação e crescimento respectivamente. Momento em que a escolha desses componentes principais, gera como consequência um alto rendimento. (KHAN et al., 2017), radiação gama (FLORES-ROJAS et al., 2018), microemulsão (RIVERA-RANGEL et al., 2018), método eletroquímico (NASRETDINOVA et al., 2015), ablação a

laser (KIM, et al., 2017), micro-ondas (SOLIVERI et al., 2016), e redução fotoquímica (MEADER, 2019). Esses métodos têm rendimento efetivo, mas estão associados com as limitações como o uso de produtos químicos, alto custo operacional e necessidades energéticas.

2.2.2 Síntese verde

A síntese verde de nanopartículas (NPs) vem recebendo muita atenção, uma vez que é uma abordagem limpa, não tóxica e ecologicamente correta. Este tipo de síntese utiliza materiais renováveis e solventes não tóxicos (RAFIQUE et al., 2017). Portanto, a integração dos princípios da química verde na nanotecnologia é essencial quando o desenvolvimento da nanotecnologia pode se beneficiar de uma abordagem verde que promova alto desempenho e segurança (MULVIHILI et al., 2011).

O desenvolvimento de processos experimentais baseados na síntese verde para a obtenção de NPs é considerado importante ramo da nanotecnologia. A síntese verde de AgNPs usando bactérias, fungos (ABDEL-RAOUF et al., 2018), algas (DE ARAGAO et al., 2016), plantas (CHANDHRU et al., 2019; AHMAD et al., 2010, BANKAR et al., 2010, IRAVANI, 2011, LUKMAN et al., 2011, MUBARAKALI et al., 2011; NABIKHAN et al., 2010), vem sendo relatados. Dessa forma, estima-se que é possível a obtenção de AgNPs com extratos de plantas nativas do Brasil, originais do bioma Cerrado.

Os principais benefícios comparados aos métodos tradicionais são o menor custo e redução de resíduos perigosos (CALDERÓN-JIMÉNEZ et al., 2017). Além disso, sugerindo que as NPs verdes são, geralmente, menos tóxicas *in vivo* do que nanopartículas sintetizadas quimicamente. As rotas de síntese verde tem ganhado atenção considerável, mas a redução química convencional ainda é o método mais amplamente utilizado para obter nanopartículas metálicas, pois oferece maior controle sobre os parâmetros experimentais, permitindo a formação de tamanhos pequenos e baixa polidispersidade (SYAFIUDDIN et al., 2017).

O Brasil possui grande biodiversidade, mas apenas uma pequena fração das suas potencialidades é utilizada para pesquisa e desenvolvimento de medicamentos. Algumas plantas medicinais e seus metabólitos secundários podem representar a oportunidade de elaboração de tratamentos eficazes e de baixo custo para muitas enfermidades (SOUSA et al., 2018).

Em seu trabalho, Tizei (2008) relata que o cerrado brasileiro exibe grande biodiversidade, contendo mais de 12000 espécies de plantas. Na literatura há muitos estudos que têm demonstrado o elevado potencial fitoquímico das plantas oriundas do Cerrado, as quais frequentemente exibem atividades fitotóxica, antifúngica, inseticida e antibacteriana.

Essa variedade de espécie pode ser usada de várias maneiras, possibilitando estudos que permitam finalidades variadas (produção alimentícia, desenvolvimento de fármacos, uso na área de cosméticos, dentre outros), evitando o desperdício e incrementando a economia. As plantas nativas, especificamente no estado de Goiás, estão sendo direcionadas a processos, como a produção de fármacos que poderão propiciar a obtenção de produtos de valor comercial atrativo e serão melhor aproveitadas, de forma que nenhum resíduo será descartado sem antes passar por processos de extração de nutrientes (MELO, 2013). Com inúmeras aplicações vêm sendo realizadas sínteses verdes com plantas oriundas do bioma Cerrado, a fim de conter o vetor da esquistossomose o *Biomphalaria glabrata*.

2.2.3 Aplicações de Nanopartículas de prata

Na produção de nanomateriais, o desenvolvimento e o uso de nanopartículas de prata (AgNPs) aumentou rapidamente, por suas propriedades óticas, químicas, eletrônicas, fotoeletroquímicas, catalíticas, magnéticas, antibacterianas e biológicas (SHARMA et al., 2009). AgNPs têm atraído grande interesse por suas aplicações não apenas em biomedicina (CHALOUPKA et al., 2010), entrega de medicamentos (PROW et al., 2011), indústrias de alimentos (CHAUDHRY & CASTLE, 2011), agricultura (NAIR et al., 2010), indústrias têxteis (KELLY&JOHNSTON, 2011), tratamento de água (DANKOVICH& GRAY, 2011) como agente antimicrobiano e antifúngico, mas também por suas aplicações em catálise e espalhamento Raman de superfície aumentada (SHARMA et al., 2009).

2.3 Toxicidade das AgNPs

Com o avanço da nanotecnologia, sem dúvidas já temos AgNPs fazendo parte de nossa vida diária. Elas são incorporadas em produtos de consumo, como máquinas de lavar roupa, em produtos médicos na luta contra a resistência bacteriana aos antibióticos. Os AgNPs também foram incorporados em dispositivos médicos, como biomateriais para cicatrização de feridas (KUMAR et al., 2018) e odontologia (BAPAT et al., 2018) e como

desinfetantes (DESHMUKH et al., 2019). Os efeitos sinérgicos demonstrados permitiram que os AgNPs fossem usados para melhorar a eficácia de antibióticos contra patógenos humanos e animais bactérias (SMEKALOVA et al., 2016; SINGH et al., 2018; KAUR et al., 2019).

Essas e outras aplicações benéficas dos AgNPs foram demonstradas. No entanto, os resíduos são gerados ao longo do processo a partir de fabricação para descarte, que pode ser liberado e acumulado no meio ambiente. Depois que os AgNPs são descarregados em ambientes terrestres ou aquáticos suas transformação ou interação com outros componentes do ambiente pode aumentar a probabilidade de ecotoxicidade (KHAN et al., 2017; DURÁN et al., 2017; MAURER-JONES et al., 2013). Diversas questões ambientais e parâmetros, como teor de matéria orgânica, ácido húmico ou fúlvico, pH e força iônica, foram identificados como interagindo com AgNPs e influenciar sua toxicidade (AKAIGHE et al., 2012; CHAMBERS et al., 2013; DELAY et al., 2011; YANG et al., 2018).

O uso de prata como tal não é novo; tem sido amplamente empregado para muitos fins médicos na saúde humana (ALEXANDER, 2009) sem efeitos deletérios óbvios. O uso extensivo e crescente de nanomateriais fabricados à base de prata é motivo de preocupação pelos efeitos negativos que podem ser produzidos no ambiente ou para seres humanos. Os efeitos adversos produzidos pelos AgNPs ainda não estão claros. É necessária uma pesquisa exaustiva sobre sua toxicidade em organismos vivos e também seu comportamento ambiental e destino (BAUN et al., 2017).

2.3.1 Moluscidas

Como medida profilática, a Organização Mundial da Saúde (OMS) estabelece o controle da população do hospedeiro como estratégia para reduzir a transmissão da doença. Para o controle da fauna planorbídica, é recomendado o uso da niclosamida, pois a mesma é a única autorizada pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA).

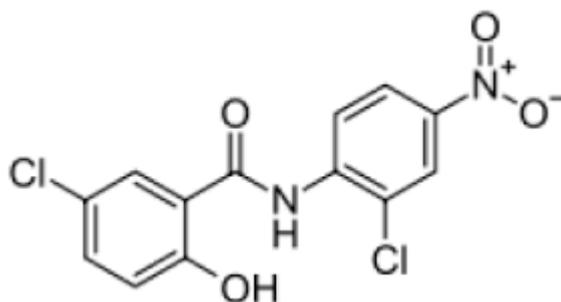


Figura 3 - Estrutura química da niclosamida.

Contudo, além do seu alto valor de compra, essa droga possui efeito tóxico ao ecossistema, sendo impedindo sua vasta utilização. Nesse contexto, a busca por moluscidas naturais aumentou, provenientes de fontes verdes, buscando menor impacto ambiental e melhor relação custo benefício (RIBEIRO et al.,2016) A abordagem utilizada para diminuir a população do molusco hospedeiro do *S. mansoni* é o controle químico (SILVA, 2013).

A OMS recomenda atualmente o uso da niclosamida, por obter resultados mais efetivos que outros agentes sintéticos. Contudo, outras preocupações surgiram, como possível desenvolvimento de resistência dos caramujos frente a essas substâncias sintéticas, bem como sua baixa seletividade e consequentemente efeito nocivo ao meio ambiente, induzindo a procura por substâncias seguras e acessíveis, aumentando, assim, o interesse pela busca de moluscidas de origem vegetal (LEYTON et al.,2005; ROCHA et al., 2013).

Os primeiros relatos de estudo sobre produtos de origem vegetal no Brasil que obtiveram efeitos moluscidas foram descritos da atividade dos extratos aquosos do caule de *Sejania sp* (cimpó-timbo) e pelos frutos de *Sapindus saponaria* L. (saboneteira), frente aos caramujos de *B. glabrata*. A toxicidade atribuída às respectivas plantas tem íntima relação com seus metabólitos secundários, sendo as saponinas e taninos os de maior interesse (RIBEIRO, 2016). Uma alternativa para substituir as substâncias sintéticas nocivas seria a utilização de plantas com atividade moluscida, uma vez que evita poluição ambiental, pelo fato de possuírem maior potencial biodegradável. Diversas plantas foram testadas com o intuito de verificar sua possível ação moluscida. Contudo, muitas ainda não tiveram qualquer avaliação científica de seu uso em moluscos, que é imprescindível para que possam ser utilizadas com segurança (ROCHA et al., 2013).

O Brasil é um país rico em diversidade genética de espécies vegetais, as pesquisas

sobre sua flora ainda é relativamente escassa. Sabendo que menos de 10% de toda vegetação brasileira já foi estudada em relação a seus constituintes fitoquímicos. Por conta disso, a pesquisa de plantas com atividade moluscicida tem recebido atenção nas últimas décadas (CATANHEDE et al., 2010).

2.3.2 Plantas utilizadas como moluscicidas

Para a obtenção das sínteses foram selecionadas previamente três plantas nativas do bioma Cerrado, a Sangra d'água (*Croton Urucurana*), Caju (*Anacardium occidentale*) e Baru (*Dipteryx alata* Vogel).

Croton urucurana Baill. (Euphorbiaceae) é uma árvore comumente encontrada na região de Dourados, MS, Brasil. Sua casca, quando cortada, libera uma seiva vermelho-sangue e, por essa razão, *C. urucurana* e outras espécies do gênero *Croton* (*C. lechleri*, *C. draconoides*), também são conhecidas como “Sangre de Grado”, Sangue de Dragão (ou Sangra d'água no Brasil). Esta planta é amplamente utilizada na medicina tradicional para tratar a infecção de feridas e acelerar a cicatrização de feridas e para reumatismo, câncer e outras doenças (BETTOLO & SCARPATI, 1979). As atividades biológicas mostradas por vários compostos isolados do gênero *Croton* são bem conhecidas, como alguns ésteres diterpenos cocarcinogênicos (KUPCHAN et al., 1976), cajucarinolide e isocajucarinolide com atividade anti-inflamatória (ICHIHARA et al., 1992), sonderianin com atividade específica contra *Mycobacterium smegmatis* e *Staphylococcus aureus* (CRAVEIRO et al., 1981; CRAVEIRO E SILVEIRA, 1982), korberina A e B com atividade antibacteriana contra *Bacillus subtilis* e *Escherichia coli* (CAI et al., 1993), um diterpeno inseticida neurotóxico (ALEXANDER et al., 1991) e um dihidrobenzofurano lignan que é um inibidor da proliferação celular (PIETERS et al., 1993).

O gênero *Anacardium* é representado por onze (11) espécies nas quais *Anacardium occidentale* é amplamente conhecido por seus valores nutricionais e econômicos. *A. microcarpum* (família: Anacardiaceae), conhecida como Caju é uma das espécies de plantas deste gênero. A planta é nativa do Brasil, especialmente na região Nordeste. Seus frutos contêm alto nível de vitamina C, açúcares, compostos fenólicos e minerais (cálcio, ferro e fósforo).

Baru (*Dipteryx alata* Vogel, Fabaceae) é uma espécie vegetal do cerrado cujas sementes (nozes) apresentam grande valor nutricional (TAKEMOTO et al., 2001), um

conteúdo considerável de compostos fenólicos e atividade antioxidante (LEMOS et al., 2012), efeito preventivo no estresse oxidativo induzido por ferro em ratos (SIQUEIRA et al., 2012) e capacidade de reduzir colesterol, triacilglicerídeos e peroxidação lipídica em ratos (FERNANDES et al., 2012).

2.4 *Biomphalaria glabrata*

Biomphalaria glabrata (Gastropoda, Planorbidae) é um caramujo encontrado em córregos, lagos e zonas úmidas nas Américas do Sul e Central, bem como na África. É hospedeiro intermediário do verme do trematódeo *Schistosoma mansoni*, que provoca a esquistossomose (bilharziasis) (GRYSEEL et al., 2006; WHO, 2007).

Os moluscos hospedeiros são considerados hermafroditas aquáticos, com intensa atividade reprodutiva, habitando uma variedade hídrica, como valas, poças e rios. Seus focos de transmissão possuem características ecológicas semelhantes, sendo localizados no peridomicílio de comunidades urbanas ou rurais, desprovidas de saneamento básico. Esses criadouros podem abrigar populações permanentes de moluscos hospedeiros, alimentados por nascentes ou água doméstica (BRASIL, 2008). Dentre os gêneros descritos, *Biomphalaria glabrata* é o hospedeiro intermediário de maior importância nas Américas, sendo sempre associado à esquistossomose no Brasil, por altos índices de infecção pelo *S. mansoni* (BRASIL, 2014). Um único indivíduo é capaz de gerar a cerca de 10 milhões de descendentes em período de três meses (DUARTE, 2014).

2.5 Esquistossomose

A esquistossomose, também conhecida como bilharziose é uma Doença Tropical Negligenciada (DTN) considerada pela Organização Mundial da Saúde (OMS) como a segunda doença parasitária generalizada em mais de 70 países nas Américas, África e Ásia. Estima-se que entre 390 e 600 milhões de pessoas estejam infectadas em todo o mundo, enquanto 800 milhões permanecem em áreas com risco de infecção. No Brasil, estima-se que mais de 25 milhões de pessoas vivem em áreas de risco para contrair esta doença (HOTEZ et al., 2014; GRIMES et al., 2015). A doença reflete problemas socioeconômicos em países endêmicos, e a principal abordagem para combater a transmissão de doenças está relacionada com o tratamento periódico de pessoas que vivem em áreas de risco

(SILVA et al., 2010; GRIMES et al.2015; HOTEZ et al., 2014).

Caramujos de água doce do gênero *Biomphalaria glabrata* agem como hospedeiros intermediários de *Schistosoma mansoni*. Entre as três espécies de caracóis de água doce naturalmente infectada por *Schistosoma mansoni*, o *Biomphalaria glabrata* é o de maior incidência no Brasil, como mostra a Figura 4, por sua ampla distribuição geográfica, maior susceptibilidade à infecção e eficácia na transmissão da esquistossomose. (COSTEAU et al., 2015; SCHOLTE et al., 2014).

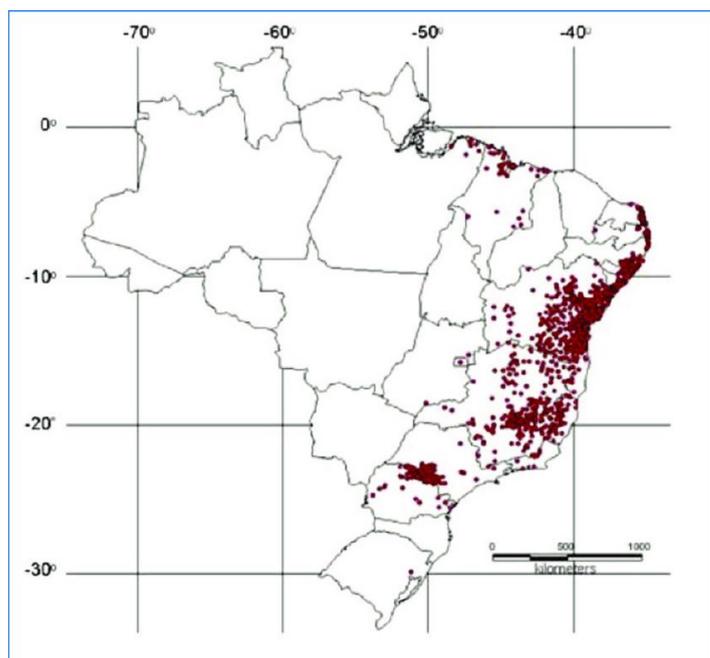


Figura 4 - Mapa de incidência do *Biomphalaria glabrata* no Brasil (CARVALHO et al., 2008).

A situação econômica da população, sistemas de saneamento básico disponível para apenas 50,3% da população e baixo nível de educação em saúde, agravam ainda mais a esquistossomose no Brasil. Medidas profiláticas de saúde pública em regiões endêmicas para esquistossomose consistem em tratamento de pessoas infectadas, saneamento básico, educação sanitária e controle de caracóis. Entretanto, reconhece-se que o método de controle da esquistossomose mais eficaz para interromper o ciclo de eliminar ou reduzir o número de intermediários (PILE et al., 2002; BRASIL, 2008; BRUUN & AAGAARD-HANSEN, 2008; OMS, 2013; SOKOLOW et al., 2016).

3 Referências Bibliográficas

ABBASI, S; SERVATKHAH, M; KESHTKAR, M. M. Advantages of using gold hollow nanoshells in cancer photothermal therapy. **Chinese Physics B**, v. 25, n. 8, p. 087301, 2016.

ABDEL-RAOUF, N., ALHARBI, R. M., AL-ENAZI, N. M., ALKHULAIFI, M. M., & IBRAHEEM, I. B. MRapid biosynthesis of silver nanoparticles using the marine red alga *Laurencia catarinensis* and their characterization. **Beni-Suef University Journal of Basic and Applied Sciences**, v. 7, n. 1, p. 150-157, 2018.

AHMAD, F; RATHER, M. A; SIDDIQUI, M. A. Nematicidal activity of leaf extracts from *Lantana camara* L. against *Meloidogyne incognita* (kofoid and white) chitwood and its use to manage roots infection of *Solanum melongena* L. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 53, n. 3, p. 543-548, 2010.

AKAIGHE, N; DEPNER, S. W; BANERJEE, S; SHARMA, V. K; SOHN, M. The effects of monovalent and divalent cations on the stability of silver nanoparticles formed from direct reduction of silver ions by Suwannee River humic acid/natural organic matter. **Science of the total environment**, v. 441, p. 277-289, 2012.

ALEXANDER JR, J; COVICH, A. P. Predation risk and avoidance behavior in two freshwater snails. **The Biological Bulletin**, v. 180, n. 3, p. 387-393, 1991.

AMANY, A.; EL-RAB, S. F. G; GAD, F. Effect of reducing and protecting agents on size of silver nanoparticles and their anti-bacterial activity. **Der Pharma Chemica**, v. 4, n. 1, p. 53-65, 2012.

BANKAR, A; JOSHI, B; KUMAR, A; ZINJARDE, S. Nova rota mediada por extrato de casca de banana para a síntese de nanopartículas de prata. **Colóides e superfícies A: Aspectos físico-químicos e de engenharia**, v. 368, n. 1-3, p. 58-63, 2010.

BAPAT, R. A; CHAUBAL, T. V.; OSHI, C. P; BAPAT, P. R; CHOUDHURY, H; PANDEY, M; GORAIN, B; KESHARWANI, P. An overview of application of silver nanoparticles for biomaterials in dentistry. **Materials Science and Engineering: C**, v. 91, p. 881-898, 2018.

BAUN, A., SAYRE, P., STEINHÄUSER, K. G.; ROSE, J. Regulatory relevant and reliable methods and data for determining the environmental fate of manufactured nanomaterials. **NanoImpact**, v. 8, p. 1-10, 2017.

BETTOLO, R. M; SCARPATI, M. L. Alkaloids of *Croton draconoides*. **Phytochemistry**, 1979.

BRASIL. Ministério da Saúde. *Vigilância e controle de moluscos de importância epidemiológica: diretrizes técnicas: Programa de Vigilância e Controle da Esquistossomose (PCE)*. 2º edição. – Brasília: Editora do Ministério da Saúde, 2008.

BRUUN, B; AAGAARD-HANSEN, J. **The social context of schistosomiasis and its**

control: an introduction and annotated bibliography. World Health Organization, 2008.;

CALDERÓN-JIMÉNEZ, B; JOHNSON, M. E; MONTORO BUSTOS, A. R; MURPHY, K. E; WINCHESTER, M. R; VEGA BAUDRIT, J. R. Silver nanoparticles: technological advances, societal impacts, and metrological challenges. **Frontiers in chemistry**, v. 5, p. 6, 2017.

CAMPOS, N. A. **Ação quimiopreventiva do tucum (Bactris setosa) no desenvolvimento de câncer de cólon**, Tese (Doutorado)- Universidade de Brasília, DF, Brasília, DF, 2017.

CHALOUPKA, K; M, Y; SEIFALIAN, A. M. Nanosilver as a new generation of nanoparticle in biomedical applications. **Trends in biotechnology**, v. 28, n. 11, p. 580-588, 2010.

CHANDHRU, M; LOGESH, R; RANI, S. K; AHMED, N; VASIMALAI, N. One-pot green route synthesis of silver nanoparticles from jack fruit seeds and their antibacterial activities with escherichia coli and salmonella bacteria. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, v. 20, p. 101241, 2019.

CHANG, T. H; CHANG, Y. C; CHEN, C. M; CHUANG, K. W. Optimizing pyramidal silicon substrates through the electroless deposition of Ag nanoparticles for high-performance surface-enhanced Raman scattering. **Thin Solid Films**, v. 676, p. 108-112, 2019.

CHAUDHRY, Q; CASTLE, L. Food applications of nanotechnologies: an overview of opportunities and challenges for developing countries. **Trends in Food Science & Technology**, v. 22, n. 11, p. 595-603, 2011

CANTANHEDE, S. P. D; MARQUES, A. D. M; SILVA-SOUZA, N; VALVERDE, A. L. Atividade moluscicida de plantas: uma alternativa profilática. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 20, n. 2, p. 282-288, 2010

BETTOLO, RINALDO MARINI; SCARPATI, M. LUISA. Alkaloids of Croton draconoides. **Phytochemistry**, 1979.

DE ARAGAO, A. P; DE OLIVEIRA, T. M., QUELEMES, P. V; PERFEITO, M. L. G; ARAUJO, M. C; SANTIAGO, J. D. A. S; CARDOSO, V. S; QUARESMA, P; DA SILVA, D. A.. Green synthesis of silver nanoparticles using the seaweed Gracilaria birdiae and their antibacterial activity. **Arabian Journal of Chemistry**, 2016.

DESHMUKH, S. P. et al. Silver nanoparticles as an effective disinfectant: A review. **Materials Science and Engineering: C**, v. 97, p. 954-965, 2019.

KUPCHAN, S. Morris et al. Antileukemic principles isolated from Euphorbiaceae plants. **Science**, v. 191, n. 4227, p. 571-572, 1976.

ICHIHARA, Yoshitatsu et al. Cajucarinolide and isocajucarinolide: anti-inflammatory diterpenes from *Croton cajucara*. **Planta medica**, v. 58, n. 06, p. 549-551, 1992.

CRAVEIRO, Afrânio A.; SILVEIRA, Edilberto R. Two cleistanthane type diterpenes from *Croton sonderianus*. **Phytochemistry**, v. 21, n. 10, p. 2571-2574, 1982.

PIETERS, L. et al. In vivo wound healing activity of Dragon's Blood (*Croton* spp.), a traditional South American drug, and its constituents. **Phytomedicine**, v. 2, n. 1, p. 17-22, 1995.

TAKEMOTO, E; OKADA, I. A; GARBELOTTI, M. L; TAVARES, M; AUED-PIMENTEL, S. Composição química da semente e do óleo de baru (*Dipteryx alata* Vog.) nativo do Município de Pirenópolis, Estado de Goiás. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, v. 60, n. 2, p. 113-117, 2001.

LEMOS, Miriam Rejane Bonilla et al. The effect of roasting on the phenolic compounds and antioxidant potential of baru nuts [*Dipteryx alata* Vog.]. **Food Research International**, v. 48, n. 2, p. 592-597, 2012.

LEMOS, Miriam Rejane Bonilla et al. The effect of roasting on the phenolic compounds and antioxidant potential of baru nuts [*Dipteryx alata* Vog.]. **Food Research International**, v. 48, n. 2, p. 592-597, 2012.

GRYSEELS, Bruno et al. Human schistosomiasis. **The Lancet**, v. 368, n. 9541, p. 1106-1118, 2006.

HOTEZ, P. J; ALVARADO, M; BASÁÑEZ, M. G; BOLLIGER, I; BOURNE, R; BOUSSINESQ, M; CARABIN, H. The global burden of disease study 2010: interpretation and implications for the neglected tropical diseases. **PLoS neglected tropical diseases**, v. 8, n. 7, 2014.

SOUSA, IANJHEMESOLIVEIRA et al. A diversidade da flora brasileira no desenvolvimento de recursos de saúde. **REVISTA UNINGÁREVIEW**, [S.l.], v. 31, n. 1, jan. 2018. ISSN 2178-2571. Disponível em: <<http://revista.uninga.br/index.php/uningareviews/article/view/2048>>. Acesso em: 30 Abril. 2018.

PILE, E. A. M; PASTOR, N; SANTOS, J. A. D; BARROS, J. S. D. Aspectos histopatológicos de *Biomphalaria glabrata* Say, 1817, hospedeiro intermediário de *Schistosoma mansoni*, submetida à Niclosamida. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 39, n. 4, p. 218-219, 2002.

DAN, A; BASU, B., ROYCHOWDHURY, S; BISWAS, K; RAJ, B. 14 Nanotechnology and energy conversion: A solution using spectrally selective solar absorbers and thermoelectrics. **Nanoscience and Nanotechnology: Advances and Developments in Nano-sized Materials**, p. 234, 2018

DANKOVICH, Theresa A.; GRAY, Derek G. Bactericidal paper impregnated with silver nanoparticles for point-of-use water treatment. **Environmental science & technology**, v. 45, n. 5, p. 1992-1998, 2011.

KUMAR, S. S. D; RAJENDRAN, N. K; HOURELD, N. N; ABRAHAMSE, H. Recent advances on silver nanoparticle and biopolymer-based biomaterials for wound healing applications. **International journal of biological macromolecules**, v. 115, p. 165-175, 2018.

BAPAT, Ranjeet A. et al. An overview of application of silver nanoparticles for biomaterials in dentistry. **Materials Science and Engineering: C**, v. 91, p. 881-898, 2018.

DESHMUKH, S. P. et al. Silver nanoparticles as an effective disinfectant: A review. **Materials Science and Engineering: C**, v. 97, p. 954-965, 2019.

SMEKALOVA, M; ARAGON, V; PANACEK, A; PRUCEK, R; ZBORIL, R; KVITEK, L. Enhanced antibacterial effect of antibiotics in combination with silver nanoparticles against animal pathogens. **The Veterinary Journal**, v. 209, p. 174-179, 2016.

DURÁN, Marcela et al. Silver Nanoparticles for Treatment of Neglected Diseases. **Metal Nanoparticles in Pharma**, p. 39-51, 2017.

MAURER-JONES, Melissa A. et al. Toxicidade de nanopartículas projetadas no ambiente. **Química analítica**, v. 85, n. 6, pág. 3036-3049, 2013.

SINGH, Hina et al. Extracellular synthesis of silver nanoparticles by *Pseudomonas* sp. THG-LS1. 4 and their antimicrobial application. **Journal of pharmaceutical analysis**, v. 8, n. 4, p. 258-264, 2018.

KAUR, Amritpal et al. Synergetic effect of vancomycin loaded silver nanoparticles for enhanced antibacterial activity. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 176, p. 62-69, 2019.

LEYTON, Vilma et al. Atividade moluscicida de princípios ativos de folhas de *Lycopersicon esculentum* (Solanales, Solanaceae) em *Biomphalaria glabrata* (Gastropoda, Planorbidae). **Iheringia. Série Zoologia**, v. 95, n. 2, p. 213-216, 2005.

AKAIGHE, Nelson et al. The effects of monovalent and divalent cations on the stability of silver nanoparticles formed from direct reduction of silver ions by Suwannee River humic acid/natural organic matter. **Science of the total environment**, v. 441, p. 277-289, 2012.

ROCHA-FILHO, Cláudio AA et al. Assessment of toxicity of *Moringa oleifera* flower extract to *Biomphalaria glabrata*, *Schistosoma mansoni* and *Artemia salina*. **Chemosphere**, v. 132, p. 188-192, 2015.

FLORES-ROJAS, G. G; LÓPEZ-SAUCEDO, F; BUCIO, E. Gamma-irradiation applied in the synthesis of metallic and organic nanoparticles: a short review. **Radiation Physics and Chemistry**, v. 169, 2020.

GUPTA, ASHISH KUMAR; GANJEWALA, DEEPAK. Synthesis of silver nanoparticles from *Cymbopogon flexuosus* leaves extract and their antibacterial properties. **Int J Plant Sci Ecol**, v. 1, p. 225-30, 2015.

GRASSIAN, Vicki H. When size really matters: size-dependent properties and surface chemistry of metal and metal oxide nanoparticles in gas and liquid phase environments. **The Journal of Physical Chemistry C**, v. 112, n. 47, p. 18303-18313, 2008.

HARUTA, Masatake. Gold as a novel catalyst in the 21st century: Preparation, working mechanism and applications. **Gold bulletin**, v. 37, n. 1-2, p. 27-36, 2004.

HE, X; DENG, H; HWANG, HUEY-MIN. The current application of nanotechnology in food and agriculture. **Journal of food and drug analysis**, 2018.

CHIHARA, Y; TAKEYA, K; HITOTSUYANAGI, Y; MORITA, H; OKUYAMA, S; SUGANUMA, M; ITOKAWA, H. Cajucarinolide and isocajucarinolide: anti-inflammatory diterpenes from *Croton cajucara*. **Planta medica**, v. 58, n. 06, p. 549-551, 1992.

IRAVANI, SIAVASH. Green synthesis of metal nanoparticles using plants. **Green Chemistry**, v. 13, n. 10, p. 2638-2650, 2011.

JU-NAM, YON; LEAD, JAMIE R. Manufactured nanoparticles: an overview of their chemistry, interactions and potential environmental implications. **Science of the total environment**, v. 400, n. 1-3, p. 396-414, 2008

KAMALI, M; PERSSON, K. M; COSTA, M. E; CAPELA, I. Sustainability criteria for assessing nanotechnology applicability in industrial wastewater treatment: Current status and future outlook. **Environment international**, v. 125, p. 261-276, 2019.

KARGOZAR, S; MOZAFARI, M. Nanotechnology and Nanomedicine: Start small, think big. **Materials Today: Proceedings**, v. 5, n. 7, p. 15492-15500, 2018.

KELLY, F. M; JOHNSTON, J. H. Colored and functional silver nanoparticle- wool fiber composites. **ACS applied materials & interfaces**, v. 3, n. 4, p. 1083-1092, 2011.

KHAN, Z. H., KERMANY, A. R., ÖCHSNER, A., & IACOPI, F. Mechanical and electromechanical properties of graphene and their potential application in MEMS. **Journal of Physics D: Applied Physics**, v. 50, n. 5, p.053003, 2017.

KOWSHIK, M; ASHTAPUTRE, S; KHARRAZI, S; VOGEL, W; URBAN, J; KULKARNI, S. K; PAKNIKAR, K. M. Extracellular synthesis of silver nanoparticles by a silver-tolerant yeast strain MKY3. **Nanotechnology**, v. 14, n. 1, p. 95, 2002.

KHODASHENAS, B.; GHORBANI, H. R. Evaluation of the effective factors on size and anti-bacterial properties of biosynthesized silver nanoparticles. **International Journal of Nano Dimension**, v. 6, n. 2, p. 111-127, 2015.

KRUTYAKOV, Y. A; KUDRINSKIY, A.A; OLENIN, A. Y; LISICHKIN, G. V. Synthesis and properties of silver nanoparticles: advances and prospects. **Russian Chemical Reviews**, v. 77, n. 3, p. 233, 2008.

LIZ-MARZÁN, Luis M. Nanometals: formation and color. **Materials today**, v. 7, n. 2, p. 26-31, 2004.

MANDAL, D; BOLANDER, M. E; MUKHOPADHYAY, D; SARKAR, G; MUKHERJEE, P. The use of microorganisms for the formation of metal nanoparticles and their application. **Applied microbiology and biotechnology**, v. 69, n. 5, p. 485-492, 2006.

MARUTHUPANDI, M; CHANDHRU, M; RANI, S. K; VASIMALAI, N. Highly Selective Detection of Iodide in Biological, Food, and Environmental Samples Using Polymer-Capped Silver Nanoparticles: Preparation of a Paper-Based Testing Kit for On-Site Monitoring. **ACS omega**, v. 4, n. 7, p. 11372-11379, 2019

MENG, A. C; TANG, K; BRAUN, M. R; ZHANG, L; MCINTYRE, P. C. Electrochemical impedance spectroscopy for quantitative interface state characterization of planar and nanostructured semiconductor-dielectric interfaces. **Nanotechnology**, v. 28, n. 41, p. 415704, 2017.

MENG, A. C; TANG, K; BRAUN, M. R; ZHANG, L; MCINTYRE, P. C. Plant extract mediated synthesis of silver and gold nanoparticles and its antibacterial activity against clinically isolated pathogens. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 85, n. 2, p. 360-365, 2011

MUBARAKALI, D. et al. Plant extract mediated synthesis of silver and gold nanoparticles and its antibacterial activity against clinically isolated pathogens. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 85, n. 2, p. 360-365, 2011.

MULVIHILL, Martin J. et al. Green chemistry and green engineering: a framework for sustainable technology development. **Annual review of environment and resources**, v. 36, p. 271-293, 2011.

NABIKHAN, A; KANDASAMY, K; RAJ, A; ALIKUNHI, N. M. Synthesis of antimicrobial silver nanoparticles by callus and leaf extracts from saltmarsh plant, *Sesuvium portulacastrum* L. **Colloids and surfaces B: Biointerfaces**, v. 79, n. 2, p. 488-493, 2010

NASRETDINOVA, Gulnaz R. et al. Electrochemical synthesis of silver nanoparticles in solution. **Electrochemistry Communications**, v. 50, p. 69-72, 2015.

OLAWOYIN, RICHARD. Nanotechnology: The future of fire safety. **Safety science**, v. 110, p. 214-221, 2018.

PROW, T. W; GRICE, J. E; LIN, L. L; FAYE, R; BUTLER, M., BECKER, W; ROBERTS, M. S. Nanoparticles and microparticles for skin drug delivery. **Advanced drug delivery reviews**, v. 63, n. 6, p. 470-491, 2011.

PULIT-PROCIAK, JOLANTA; BANACH, MARCIN. Silver nanoparticles—a material of the future...?. **Open Chemistry**, v. 14, n. 1, p. 76-91, 2016.

OLAWOYIN, Richard. Nanotechnology: The future of fire safety. **Safety science**, v. 110, p. 214-221, 2018.

RAU, J. V.; DE SANTIS, R; CIOFANI, G. Exploring challenges

ahead of nanotechnology for biomedicine. **Bioactive materials**, v. 2, n. 3, p. 119, 2017.

RAFIQUE, M; SADAF, I; RAFIQUE, M. S; TAHIR, M. B. A review on green synthesis of silver nanoparticles and their applications. **Artificial cells, nanomedicine, and biotechnology**, v. 45, n. 7, p. 1272-1291, 2017.

RIVERA-RANGEL, Ruben Dario et al. Green synthesis of silver nanoparticles in oil-in-water microemulsion and nano-emulsion using geranium leaf aqueous extract as a reducing agent. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v. 536, p. 60-67, 2018.

SOLIVERI, G; ARDIZZONE, S; YÜKSEL, S; CIALLA-MAY, D; POPP, J; SCHUBERT, U. S; HOEPPENER, S. Microwave-assisted silver nanoparticle film formation for SERS applications. **The Journal of Physical Chemistry C**, v. 120, n. 2, p. 1237-1244, 2016.

SHANKAR, S; RHIM, JONG-WHAN. Tocopherol-mediated synthesis of silver nanoparticles and preparation of antimicrobial PBAT/silver nanoparticles composite films. **LWT-Food Science and Technology**, v. 72, p. 149-156, 2016.

SHARMA, Deepali; KANCHI, Suvardhan; BISETTY, Krishna. Biogenic synthesis of nanoparticles: A review. **Arabian journal of chemistry**, v. 12, n. 8, p. 3576-3600, 2019.

SOLIMAN, M. G; DEL PINO, P; PARAK, W. J; PELAZ, B. Synthesis and Surface Engineering of Gold Nanoparticles, and Their Potential Applications in Bionanotechnology. 2017.

SYAFIYUDDIN, A; SALIM, M. R; BENG HONG KUEH, A; HADIBARATA, T; NUR, H. A review of silver nanoparticles: Research trends, global consumption, synthesis, properties, and future challenges. **Journal of the Chinese Chemical Society**, v. 64, n. 7, p. 732-756, 2017.

TIPPAYAWAT, P; PHROMVIYO, N; BOUEROY, P; CHOMPOOSOR, A. Green synthesis of silver nanoparticles in aloe vera plant extract prepared by a hydrothermal method and their synergistic antibacterial activity. **PeerJ**, v. 4, p. e2589, 2016.

VAN VAERENBERGH, Beau et al. Nanotechnology in catalysis: the force awakens. In: **18th FEA Research Symposium**. 2018.

VELUSAMY, Palaniyandi et al. Greener approach for synthesis of antibacterial silver nanoparticles using aqueous solution of neem gum (*Azadirachta indica* L.). **Industrial crops and products**, v. 66, p. 103-109, 2015.

VIRKUTYTE, J; VARMA, R. S. Green synthesis of metal nanoparticles: biodegradable polymers and enzymes in stabilization and surface functionalization. **Chemical Science**, v. 2, n. 5, p. 837-846, 2011.

WANG, J; GAO, X; SUN, H; SU, B; GAO, C. Monodispersed graphene quantum dots

encapsulated Ag nanoparticles for surface-enhanced Raman scattering. **Materials Letters**, v. 162, p. 142-145, 2016.

WERKNEH, Adhena Ayaliew; RENE, Eldon R. Applications of Nanotechnology and Biotechnology for Sustainable Water and Wastewater Treatment. **Water and Wastewater Treatment Technologies**, p. 405-430, 2019.

YADAV, Sanjeev Kumar et al. Nanomelatonin triggers superior anticancer functionality in a human malignant glioblastoma cell line. **Nanotechnology**, v. 28, n. 36, p. 365102, 2017.

ZARRINTAJ, Payam et al. Can regenerative medicine and nanotechnology combine to heal wounds? The search for the ideal wound dressing. **Nanomedicine**, v. 12, n. 19, p. 2403-2422, 2017.

4 OBJETIVOS

4.1 Objetivo geral

O objetivo geral deste projeto foi em preparar AgNPs, por síntese química e por síntese verde, combinados com extrato de plantas do Cerrado, além de avaliar sua viabilidade no controle de caramujos.

4.2 Objetivos específicos

- Sintetizar nanopartículas de prata por síntese química;
- Sintetizar nanopartículas de prata pela via síntese verde, empregando extratos de diferentes espécies de plantas nativas do cerrado como redutor e agente estabilizador;
- Caracterizar as dispersões obtidas quanto à composição química e estabilidade;
- Avaliar a toxicidade dos coloides das AgNPs contra caramujo.

Biomphalaria glabrata.

CAPÍTULO I

Síntese de Nanopartículas de prata e avaliação da toxicidade em caramujos

(Normas de acordo com a Revista Materials Research)

Resumo

Dentro das áreas crescentes da Ciência, a nanotecnologia ganhou papel de destaque e começou a ser explorada por sua contribuição em diversos segmentos, e por sua diversidade de aplicações, pelas propriedades das nanopartículas e a capacidade de melhoramento de matérias. No entanto, ainda pouco se sabe sobre os efeitos tóxicos que o emprego dessas NPs, e quais propriedades nocivas que podem exercer sobre os seres vivos. As NPs de prata apresentam, dentre suas propriedades, os efeitos bactericida, fungicida, ovicida, larvicida e há relatos de propriedades moluscicidas. As NPs de prata vêm sendo utilizadas para diversas aplicações como em roupas, cateteres, recheios de filtros, dentre outros. Este trabalho teve como objetivo obter AgNPs por três vias químicas diferentes variando o redutor, além de escalonar as sínteses obtidas. As AgNPs obtidas foram caracterizadas através das técnicas de espectroscopia de absorção no UV-vis, espectroscopia de infravermelho (FTIR), microscopia eletrônica de transmissão (MET), e pela técnica de espalhamento de luz dinâmico (DLS). Além disso, as nanopartículas foram testadas quanto à toxicidade contra moluscos recém-eclodidos da espécie *Biomphalaria glabrata*. As AgNPs mostraram diferentes morfologias e tamanhos nas três sínteses obtidas. As cargas superficiais variaram entre -54,7 mV a -29,4 mV. Apenas a amostra de nanopartículas de prata com o redutor borohidreto promoveu mortalidade de 100% dos moluscos, com concentração de 100 mgL⁻¹. Nesse contexto, as sínteses propostas alcançaram o escalonamento desejado, o teste de toxicidade mostrou que a síntese AgNPBH pode ser utilizada como um moluscicida, apresentando 100% da mortalidade dos caramujos expostos.

Palavras-chave: Nanopartículas, ácido ascórbico, borohidreto de sódio.

Abstract

Within the growing areas of Science, nanotechnology gained a prominent role and began to be explored for its contribution in several segments, and for its diversity of applications, due to the properties of nanoparticles and its ability to improve materials. However, little is known about the toxic effects that the use of these NPs, and what harmful properties they can have on living beings. Silver NPs have, among their properties, the bactericidal, fungicidal, ovicidal, larvicidal effects, and there are reports of molluscicide properties. Silver NPs have been used for several applications such as clothing, catheters, filter fillings, among others. This work aimed to obtain AgNPs by three different chemical routes, varying the reducer, in addition to staggering the syntheses obtained. The obtained AgNPs were characterized by the techniques of UV-vis absorption spectroscopy, infrared spectroscopy (FTIR, transmission electron microscopy (MET), and by the dynamic light scattering (DLS) technique. In addition, the nanoparticles were tested for toxicity against newly hatched mollusks of the species *Biomphalaria glabrata*. The AgNPs showed different morphologies and sizes in the three syntheses obtained. Surface loads ranged from -54.7 mV to -29.4 mV. Only the sample of silver nanoparticles with the borohydride reducer promoted mortality of 100% of the mollusks, with a concentration of 100 mg L⁻¹. In this context, the proposed syntheses reached the desired scale, the toxicity test showed that the AgNPBH synthesis can be used as a molluscicide, presenting 100% of the mortality of the exposed snails.

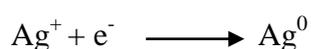
Keywords: Nanoparticles, ascorbic acid, sodium borohydride

INTRODUÇÃO

O interesse científico em NPs de pratas é por suas propriedades que podem ser incorporadas em diversas aplicações como materiais antimicrobianos, biossensores, fibras compostas, materiais supercondutores criogênicos, produtos cosméticos e componentes eletrônicos.¹

Com essa diversidade de aplicações, vários métodos físicos e químicos têm sido usados para sintetizar e estabilizar AgNPs. As abordagens químicas mais populares, incluindo redução química usando variedade de agentes redutores orgânicos e inorgânicos, técnicas eletroquímicas e redução físico-química são amplamente utilizadas para a síntese de AgNPs. A maioria desses métodos ainda está em fase de desenvolvimento e os problemas experimentados são a estabilidade e agregação de NPs, morfologia, tamanho e distribuição de tamanho. Além disso, a extração e purificação de NPs produzidas para outras aplicações ainda são questões importantes².

A abordagem mais comum para a síntese de NPs de prata é a redução química por agentes redutores orgânicos e inorgânicos. Em geral, diferentes agentes redutores como citrato de sódio, borohidreto de sódio (NaBH₄), hidrogênio elementar, processo de poliálcool, reagente de Tollens, N, N-dimetilformamida (DMF) e copolímeros de poli (etileno glicol) são usados para redução de íons de prata (Ag⁺) em soluções aquosas ou não aquosas. Esses agentes redutores reduzem o Ag⁺ e levam à formação de prata metálica (Ag⁰), que é seguida pela aglomeração em aglomerados oligoméricos. Esses aglomerados acabam levando à formação de partículas metálicas de prata coloidal³.



É importante usar agentes estabilizantes para NPs durante o curso da preparação de nanopartículas metálicas e proteger as NPs que podem se ligar a superfícies de nanopartículas, evitando sua aglomeração. A presença desses agentes estabilizadores compreendendo funcionalidades para interações com as superfícies de partículas podem estabilizar o crescimento e proteger as NPs da sedimentação, aglomeração ou perda das suas propriedades superficiais⁴.

Estudos mostraram que o tamanho, a morfologia, a estabilidade e as propriedades químicas e físicas das nanopartículas metálicas são fortemente influenciadas pelas condições experimentais, pela cinética de interação de íons metálicos com agentes redutores e pelos processos de adsorção do agente estabilizador com as NPs metálicas⁵.

Geralmente, o controle específico da forma, tamanho e distribuição das nanopartículas produzidas é alcançado alterando os métodos de síntese, reduzindo e estabilizando fatores⁶.

Investigando a forma de nanopartículas de prata sintetizadas, as propriedades dos nanomateriais dependem fortemente do tamanho e da forma das NPs, das suas interações com os estabilizadores e também do seu método de preparação. Assim, a síntese controlada é um desafio fundamental para alcançar suas características e melhor aplicá-las⁷. Com o intuito de realizar a síntese das AgNPs foram realizadas três sínteses variando somente os redutores. Ácido ascórbico, borohidreto de sódio e ácido tânico.

EXPERIMENTAL

Materials

Nos procedimentos realizados foram utilizados os seguintes reagentes: ácido ascórbico (synth P.A.) ácido cítrico monohidratado (P.A sigma aldrich). Ácido tânico (P.A Vetec) borohidreto de sódio. Nitrato de prata (P.A plat lab). Em todos os experimentos, usou-se água deionizada.

Síntese de AgNP

Foram preparadas três sínteses diferentes alterando o agente redutor. Síntese com ácido ascórbico, com Borohidreto de sódio e com ácido tânico. Baseando-se nas concentrações da literatura.⁸

Primeiramente foram preparadas as soluções para a obtenção das nanopartículas de prata. Preparou-se a solução $0,0378 \text{ mol L}^{-1}$ g de ácido cítrico, e diluiu em 500 ml de água destilada. Para a preparação da solução $7,56 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ g de ácido ascórbico, foi diluída no volume de 500 ml, ajustou-se o pH para aproximadamente 10,5 ~ 11,0 com NaOH sólido. Preparou-se a solução $0,0126 \text{ mol L}^{-1}$ de nitrato de prata e se dilui em 25 ml de água destilada.

Com as soluções de ácido ascórbico e ácido cítrico previamente preparadas, misturou-se e se levou ao agitador magnético sob agitação constante a solução de AgNO_3 foi adicionada lentamente. Foi deixado sob agitação durante 15 minutos (Figura 5). Em seguida, transferiu-se para um tubo falcom de 50 ml e centrifugada por 5 minutos a 4000 rpm. Repetiu-se a centrifugação por 3 vezes (com exceção da AgNPTA que não se

separaram com a centrifugação).



Figura 5 - Síntese de AgNP com ácido ascórbico.

Para as AgNPBH, primeiramente foram preparadas as soluções de borohidreto de sódio $7,4 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$, ácido cítrico $0,0378 \text{ mol L}^{-1}$ e nitrato de prata $0,0126 \text{ mol L}^{-1}$. A solução de ácido cítrico e borohidreto de sódio foram misturadas e levadas ao agitador magnético, em seguida, adicionou-se lentamente a solução de nitrato de prata observando a mudança de coloração.

Para a obtenção das nanopartículas de prata com ácido tânico, preparou-se uma solução $1,2 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ de Ácido Cítrico. Para isso, pesou-se 0,505g e diluiu com 7 ml de água destilada. Para a preparação da solução $2,4 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ de ácido tânico, pesou-se 0,0409g e diluiu no volume de 20ml.

Ajustou-se o pH para aproximadamente 10,5, com NaOH sólido, e completou-se o volume para 40ml. Preparou-se a solução de nitrato de prata. Para isso, pesou-se 0,1698g e diluiu-se em 3 ml de água destilada. Com as soluções previamente preparadas, as soluções de ácido tânico e ácido cítrico foram levadas ao agitador magnético. Sob agitação constante, adicionou-se a solução de AgNO_3 e verificou-se a modificação de cor da solução, que previamente era amarelo claro e passou para uma coloração vermelho-sangue. Foi deixado sob agitação durante 15 minutos.

Para a purificação das AgNPs foi realizado o processo de lavagem por 3 vezes e

levada a centrífuga. Todas as siglas e concentrações utilizadas estão na tabela 1.

Para as AgNPAs foi utilizado o processo de diálise através de uma membrana trocando a água três vezes durante o dia. As NPs foram dispersas em 40 ml de ácido cítrico a $5 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ e deixada agitando por tombamento durante 12 horas.

Tabela 1–Condições utilizadas nas sínteses das AgNPs

Amostra	Redutor	Estabilizante	[Red.] / mol L ⁻¹	[Est] / mol L ⁻¹	[AgNO ₃] / mol L ⁻¹
AgNPAA	Ácido Ascórbico	Ácido cítrico	$7,56 \times 10^{-3}$	0,0378	0,0126
AgNPBH	Borohidreto de sódio	Ácido cítrico	$7,4 \times 10^{-2}$	0,0378	0,0126
AgNPAs	Ácido Tânico	Ácido cítrico	$6,0 \times 10^{-4}$	$1,2 \times 10^{-4}$	$9,6 \times 10^{-4}$

Caracterização

As AgNPs sintetizadas foram caracterizadas pelas técnicas de espectroscopia de UV-visível (UV-vis). A espectroscopia na região do UV-vis utilizada para monitoramento da formação das AgNPs, através da formação de bandas plasmônica características da prata. A análise foi feita utilizando espectrofotômetro Perkin Elmer Lambda 750 utilizando a varredura de 250 a 800 nm em cubetas de quartzo em diluição de 100 microlitros para 3 mililitros de água destilada.

Para verificar a funcionalização das AgNPs com os componentes utilizados para reduzir e estabilizar as mesmas, foram obtidos espectros de infravermelho no espectrômetro de varredura de infravermelho, modelo Spotlight 400 da Perkin Elmer, na Central Multiusuário de Análises do Campus Rio Verde IF-Goiano. As amostras foram previamente secas em estufa com circulação de ar a 70°C.

A fim de visualizar a morfologia, tamanho e dispersibilidade da superfície das nanopartículas foi utilizada a Microscopia eletrônica de Transmissão (JEOL, modelo JEM-2100) e microscopia eletrônica de varredura (MEV) (JEOL, modelo JEM-2100), equipado com EDS, Thermo scientific disponível no Labmic/ UFG para essas análises as amostras foram

trituras no almofariz de ágata e pulverizadas em uma tela de carbono. A amostra se manteve em condições inertes até o momento da análise.

A carga potencial Zeta e o índice de polidispersividade foram analisados em aparelho Zeta Sizer Nano Z-S da central analítica da UNESP- Araraquara. Para as análises, as amostras preparadas foram diluídas em água destilada e água milliQ, e utilizadas puras sem nenhuma diluição. Com as amostras previamente diluídas em dois solventes diferentes, água reconstituída e água miliQ. O diâmetro das partículas (DP) em suspensão foi determinado por medidas de espalhamento de luz hidrodinâmico (DLS) no mesmo equipamento que foram realizadas as medidas de potencial Zeta.

Avaliação da toxicidade

A avaliação do potencial uso dos coloides de AgNPs combinadas com extrato, AgNPs isoladas e extratos puros no controle do caramujo *Biophalaria glabrata* ocorreu através de testes de toxicidade. Os ensaios foram realizados no laboratório de biotecnologia ambiental e ecotoxicologia em colaboração com a Universidade Federal de Goiás (UFG). Os caramujos recém-eclodidos foram mantidos em incubadora BOD em condições como temperatura, tempo de iluminação e dieta previamente controladas.

Os efeitos tóxicos foram analisados em recém-eclodidos da espécie *B. glabrata* que foram mantidos no Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública da Universidade Federal Universidade de Goiás. A massa ovígera dos caramujos foi mantida em incubadora BOD com fotoperíodo em ciclos claro / escuro de 12 em 12 h, temperatura ($25 \pm 1^\circ\text{C}$) e pH ($7,0 \pm 1$).

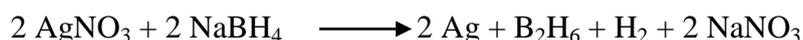
A toxicidade do NPs foi analisada sobre *B. glabrata* recém-eclodidos de acordo com a literatura⁹. A cerca de 30 foram colocados em placas de cultura de 12 poços e foram expostos a concentrações diferentes durante 96h, junto com um grupo controle negativo mantido em água reconstituída e um controle positivo exposto à niclosamida (Baylucida®). Todos os procedimentos experimentais foram conduzidos em (5 mL de poço) e um desenho triplicado (9 placas com 5 embreagens de recém-eclodidos) em ciclos de 12:12h claro / escuro e temperatura ambiente de $25 \pm 1^\circ\text{C}$. Nas concentrações 6,25 mg/L, 12,5 mg/L, 25,0 mg/L, 50 mg/L, 100 mg/L. Durante o período de exposição (96h), a frequência (%) de recém-eclodidos viáveis e inviáveis foi analisada usando um

microscópio (Leica DM 750) associado com o LEICA ICC50 câmera HD e o software LAS EZ.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Síntese e caracterização das AgNP

Para síntese de nanopartículas de prata, utilizou-se o tradicional método de redução de íons Ag com borohidreto de sódio. Neste processo, após a dissolução do sal, ocorre a adição de NaBH₄ na solução que reduz os íons de prata para o estado metálico⁷ (Equação 1).



Obteve-se nanopartículas de AgNP com morfologias distintas, sendo elas com morfologia esférica, em forma achatadas e cilíndricas arredondadas.

Utilizou-se o ácido cítrico como dispersante a fim de estabilizar e evitar a agregação das AgNP, para melhor dispersão, a solução foi deixada agitando por tombamento por 12 h em temperatura ambiente.

Os aspectos da morfologia das nanoestruturas foram avaliados por microscopia eletrônica de transmissão (MET). A Figura 6 mostra a imagem de MET da AgNPAA em escala de 100 e 5 nm.

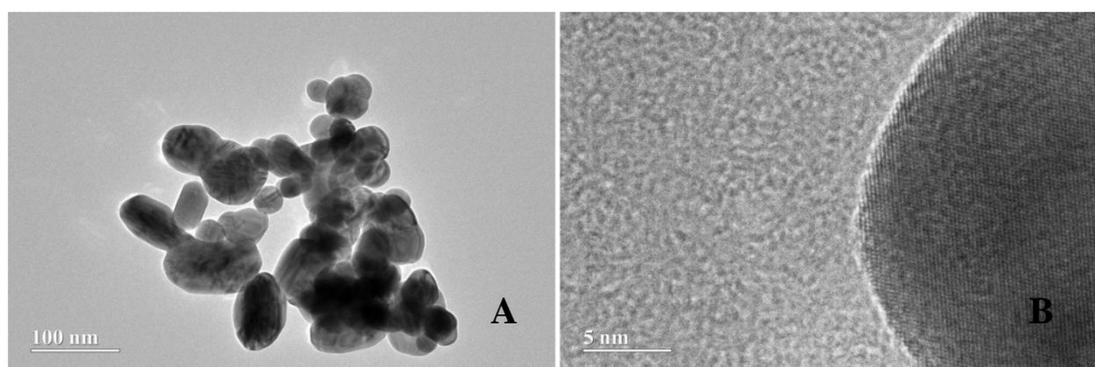


Figura 6 - Imagens de microscopia eletrônica de transmissão (A) das nas nanopartículas de prata usando como redutor o ácido ascórbico (AgNPAA); (B) Imagem ampliada da AgNPAA na ordem de 5 nm.

As nanopartículas apresentaram diversas morfologias: esférica, alongadas com

bordas arredondadas e no formato de grão de arroz. Apresentaram tamanho médio de 138 ± 2 nm, sugerindo alta polidispersão em tamanhos de partículas. Também foi observado que houve a formação de aglomerados, que segundo a literatura podem ocorrer por interações dipolo magnéticas¹⁰.

A formação desses aglomerados nanoestruturados foi observada para todas as partículas preparadas (Figura 7). Frequentemente se aglomeram para formar partículas secundárias a fim de minimizar a área total e com isso baixar a tensão de superfície do sistema, e essas aglomerações de partículas são causadas por forças de Van der Waals e/ou forças que tendem a diminuir a energia de superfície do sistema.

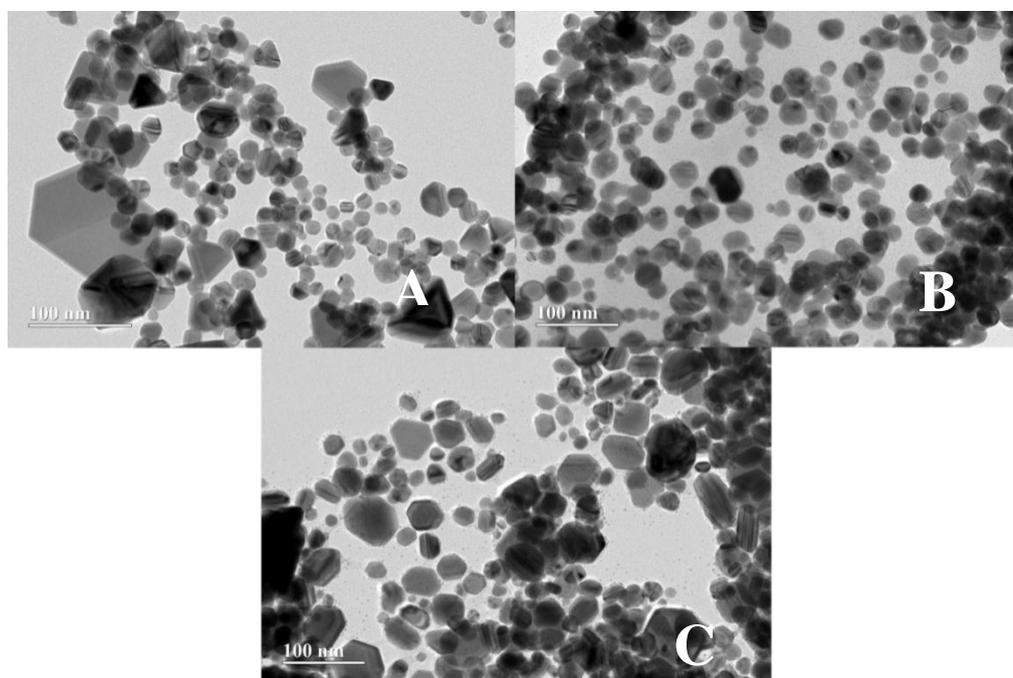


Figura 7 - Imagens ampliada das sínteses mostrando as diferentes morfologias. A) Nanopartículas de prata com ácido ascórbico AgNPAA. B) Nanopartículas de prata com borohidreto de sódio AgNPBH. C) Nanopartículas de prata com ácido tânico AgNPPTA.

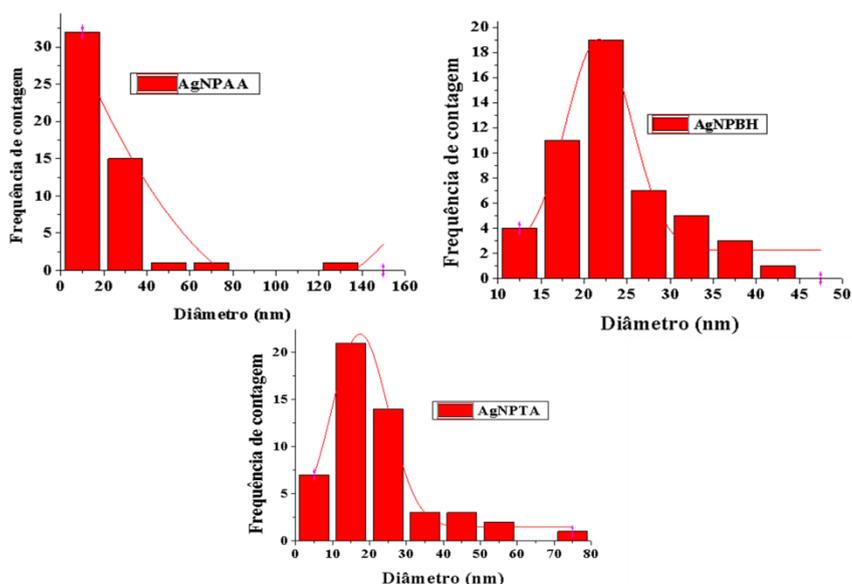


Figura 8 - Histogramas de tamanhos das sínteses de Nanopartículas de prata com ácido ascórbico AgNPAA, Nanopartículas de prata com borohidreto de sódio AgNPBH e Nanopartículas de prata com ácido tânico AgNPTA.

As AgNP foram sintetizadas utilizando redutores diferentes e apresentaram na imagem de MET (Figura 9) morfologias diferentes na mesma síntese, em que se pode observar as AgNPe estavam dispersas nas sínteses AgNPBH e com evidências de aglomeração nas sínteses AgNPAA e AgNPTA.

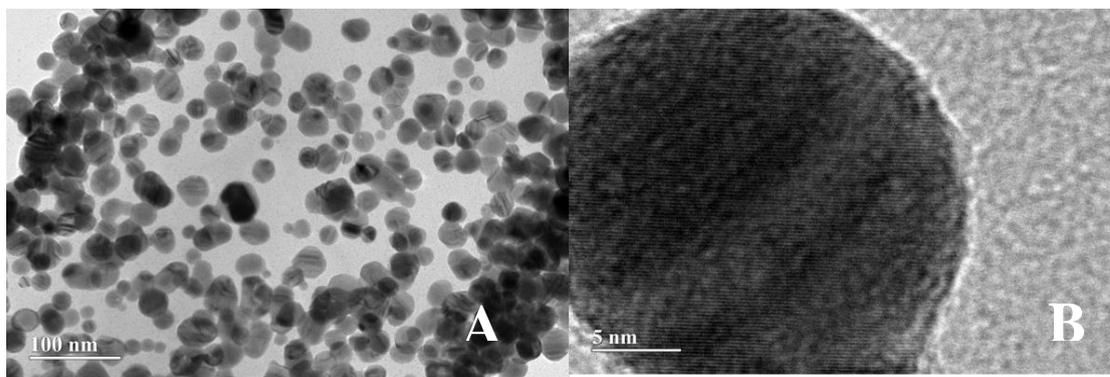


Figura 9 - Imagens de microscopia de transmissão (A) da Nanopartícula de prata usando borohidreto como redutor (AgNPBH) (B) e imagem aproximada na ordem de 5 nm

As partículas de AgNPBH apresentaram morfologias mais homogêneas, apesar de ter sido observada a formação de aglomerados (Figura 10). O tamanho médio das partículas foi de 28 nm.

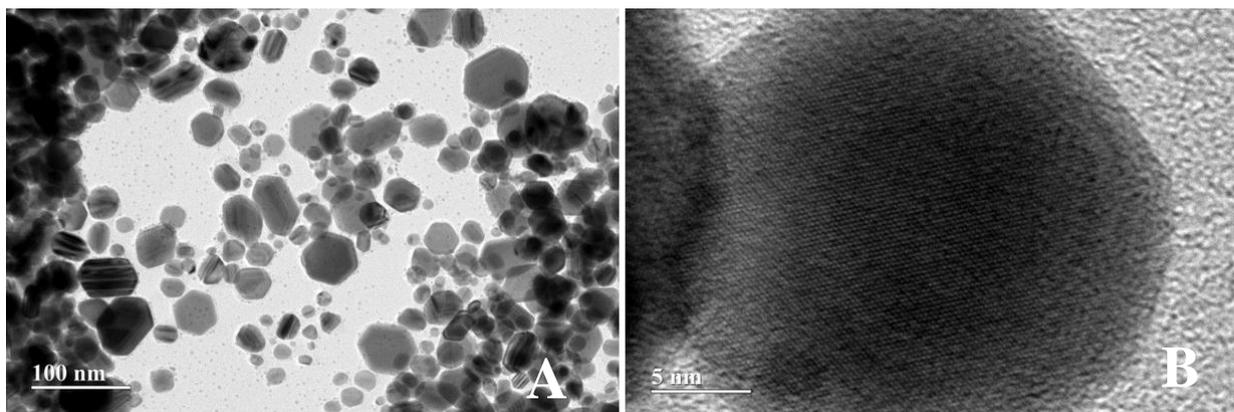


Figura 10 - Imagens de microscopia de transmissão (A) da AgNPTA (B) e imagem aproximada na ordem de 5 nm.

Percebeu-se também que as AgNPTA possuem morfologias diversas com faixa de tamanho a cerca de 20 nm. Dentre as morfologias encontradas, verificou-se os formatos esféricos, a circulares, formato de grão de arroz e hexagonais que foi facilmente observado pela imagem de MET.

As diversas morfologias encontradas nas sínteses pode ser atribuída à rápida adição dos agentes redutores o que impediu a nucleação e organização, ou tempo de armazenamento até o momento da análise.

O monitoramento das amostras foi realizado através das bandas características emitidas e observadas no espectrofotômetro de Uv-Visível. Os espectros de absorção UV-vis das sínteses de AgNP exibiram bandas com intensidades diferentes e em posições entre 355-476 nm. Estas bandas correspondem à ressonância de plasma de superfície localizada (Localized Surface Plasmon Resonance–LSPR) ou ressonância plasmon, como pode ser observado na Figura 11.

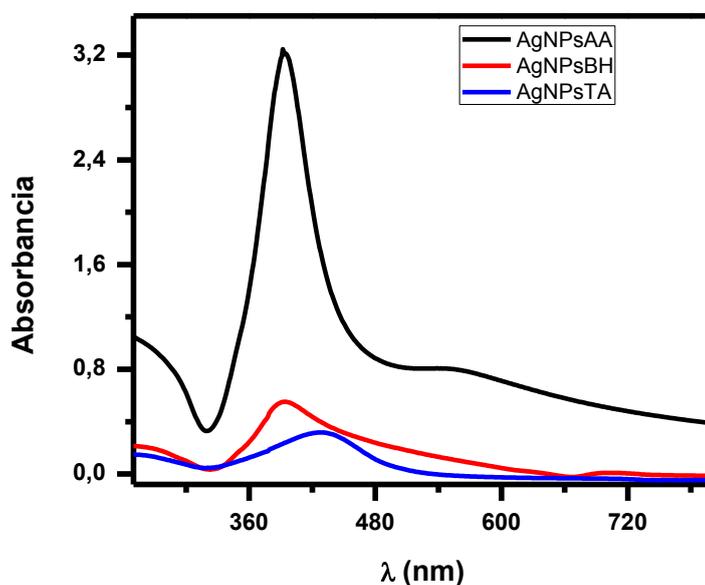


Figura 11 - Espectros de UV-visível das NPs sintetizadas de ácido ascórbico, borohidreto e ácido tânico.

A intensidade da banda de LSPR e sua posição são dependentes das condições experimentais utilizadas para a síntese, assim como os redutores utilizados. Este resultado sugere que as soluções obtidas AgNPAA, AgNPBH e a AgNPATA utilizando diferentes redutores são parâmetros fundamentais na síntese, que é observado obtenção de nanopartículas com diferentes intensidade e larguras de banda e apresentando diferentes morfologias, em que as mesmas podem interferir na largura da banda. A banda de LSPR aumenta significativamente a sua intensidade para a síntese de AgNPAA, como pode ser observado na figura 11.

A análise da forma e posição das bandas LSPR, leva à conclusão que elas apresentam diferentes morfologias com predominância em formas esféricas semelhantes às estruturas das nanopartículas de prata reportadas na literatura, sugerindo a formação deste tipo de nanoestrutura.

A banda em 429 nm, com a formação de um ombro no espectro UV-visível da figura 11, pode ser atribuída ao redutor ou as morfologias encontradas como se pode observar na imagem e também no tamanho das partículas que variaram entre 3 a 138 nm, normalmente observado para nanopartículas de prata assimétricas. Pode-se concluir que a diálise realizada na AgNPATA contribuiu para a média de tamanhos encontradas de 1 a 78 nm, podendo observar na imagem de MET.

Para melhor compreensão das interações entre as nanopartículas de prata e o agente

estabilizantes utilizados foi utilizada Espectroscopia no Infra Vermelho por Transformada de Fourier (FTIR), em que os espectros são mostrados na Figura 12. As AgNPs apresentaram bandas bem definidas na faixa de 3660 cm^{-1} , referente ao estiramento do grupo OH, e bandas na faixa de 1550 cm^{-1} pode ser atribuído aos grupos carboxílicos.

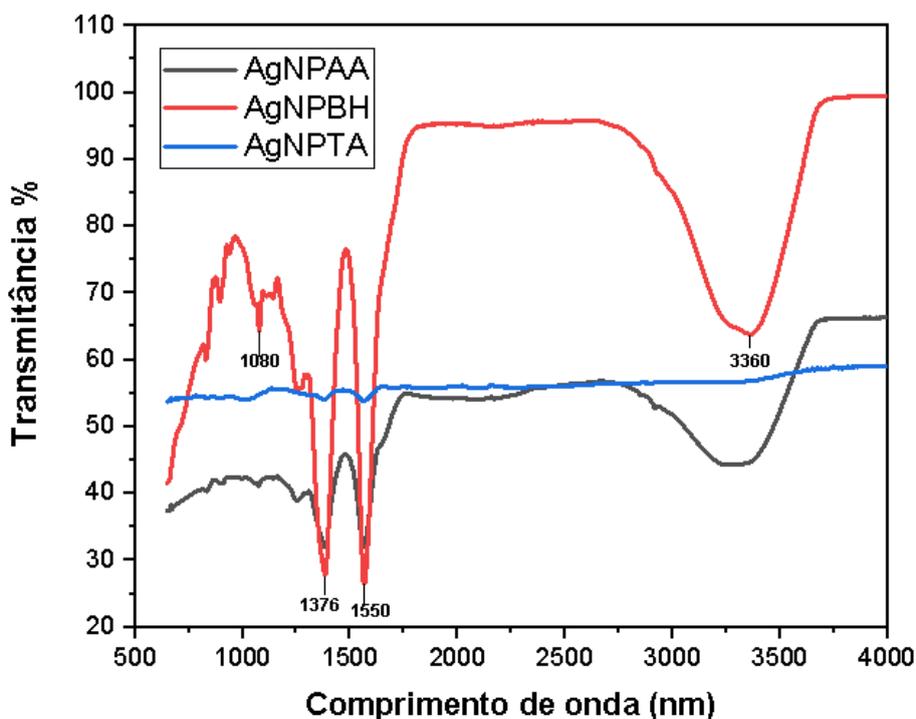


Figura 82 - Espectros de infravermelho das amostras (AgNPAA) Nanopartículas de prata com ácido ascórbico. (AgNPBH) Nanopartículas de prata com borohidreto de sódio. (AgNPTA) Nanopartículas de prata com ácido tânico.

A banda em 1376 cm^{-1} é referente ao acoplamento entre os grupos OH e a banda em 1080 cm^{-1} corresponde à vibração de CN alifáticos. O deslocamento da banda de 3360 cm^{-1} sugere a interação das partículas de prata com o grupo OH⁹. O desaparecimento das assinaturas das vibrações referentes ao grupo CH é pela interação OH/Ag, que inibe as mesmas.

A caracterização das AgNPs foi efetuada também através de medidas de DLSe Potencial Zeta. O tamanho das AgNPs sintetizadas foi determinado por Espalhamento de Luz Dinâmico (Dynamic Light Scattering–DLS). Em métodos baseados na dispersão de luz, o tamanho é calculado com base na dispersão da luz pelas partículas. O DLS é amplamente utilizado na avaliação do tamanho hidrodinâmico e no comportamento de nanopartículas (aglomeração e dissolução) em solvente. Os resultados de Diâmetro Hidrodinâmico, Índice de Polidispersidade e Potencial Zeta das soluções aquosas de AgNPAA, AgNPBH e AgNPTA são mostrados na Tabela 2.

Tabela 2 – Valores médios de DLS, Pdi e Potencial Zeta.

Amostras	Z-avege	Pdi	Zeta
AgNPAA	108,16(d.nm)	0,458	-33,16 (mV)
AgNPBH	100,43(d.nm)	0,435	-29,4 (mV)
AgNPATA	93,56(d.nm)	0,480	-54,7 (mV)

Z-avege: é um tamanho médio geral baseado na intensidade (d.nm); Pdi: Índice de polidispersidade. Zeta: Potencial Zeta (mV); AgNPAA: Nanopartículas de prata com o redutor ácido ascórbico; AgNPBH: Nanopartículas de prata com o redutor borohidreto de sódio; e AgNPATA: nanopartículas de prata com o redutor ácido tânico.

Os dados de diâmetro hidrodinâmico (DH) mostrados na Tabela 2 foram significativamente dependentes não apenas dos agentes redutores (ácido ascórbico, boro hidreto de sódio e ácido tânico), utilizados nas sínteses das nanopartículas, mas também do agente estabilizante. Os resultados mostram que o valor de DH para as AgNPAA (108,16 nm) é maior dentre as três amostras, indicando que as nanopartículas de prata foram formadas, mostrando também que estruturas maiores, como aglomerados formados, corroborando com a imagem do MET mostrado na figura 9.

Os diâmetros hidrodinâmicos foram afetados pelas condições das sínteses que envolveram a formação das nanopartículas. Portanto, esses dados representam o diâmetro da partícula e não o tamanho real da partícula que deve ser determinado por outras técnicas, por exemplo, Microscopia Eletrônica de Transmissão de (Transmission Electron Microscopy – MET).

O resultado de DLS fornece também informações a respeito da distribuição de tamanho das nanopartículas e o índice de polidispersidade. O índice de polidispersidade (Pdi) é um parâmetro utilizado na avaliação da distribuição de tamanho das nanopartículas. Um valor de Pdi no qual se aproxima de zero significa alta distribuição de tamanho de partícula. Para as AgNPs obtidas a polidispersidade foi relativamente baixa, indicando que as nanopartículas são homogêneas. O menor Pdi foi para AgNPBH (Pdi = 0,435 ± 0,025),

que apresentou nanopartículas mais homogêneas, corroborando com a imagem do MET que indicou maior e melhor dispersão com superfícies regulares e distribuição de tamanho de partícula dentro de uma faixa estreita de valores.

O Potencial Zeta (ζ) foi utilizado para avaliar a estabilidade das nanopartículas. As medidas de Potencial Zeta (Zeta Potencial–ZP) foram efetuadas por espalhamento de luz eletroforético (Electrophoretic Light Scattering– ELS). A maioria das partículas, quando em contato com um líquido, adquire carga elétrica na sua superfície e esse potencial é denominado de Potencial Zeta.

A “carga” da partícula coloidal é na verdade uma carga efetiva, resultante do balanço carga de íons e contra íons. O Potencial Zeta se correlaciona com a repulsão eletrostática entre as partículas e com a estabilidade dos sistemas coloidais. Quando o valor do Potencial Zeta for menor que -30 mV ou maior igual a $+30$ mV, a suspensão coloidal ser estável⁸.

A amostra de AgNPBH apresentou o menor valor de Potencial Zeta ($-29,4 \pm 1,46$ mV). Isso pode estar relacionado com o meio, que ao adicionar o borohidreto aumenta a basicidade da solução e pode ter provocado a diminuição do Potencial Zeta, abaixo do denominado ponto crítico. A velocidade de formação dos agregados aumenta à medida que mais próximo de zero esteja o Potencial Zeta. Essa diminuição deveria promover a agregação das partículas.

Isso está de acordo com a Teoria de Derjaguin, Landau, Verweye Overbeek (Teoria DLVO), quanto maior o Potencial Zeta, mais provável que a dispersão coloidal seja estável, pois as partículas carregadas se repelem e essa força supera as forças intermoleculares (Forças de van der Waals), as quais são responsáveis pela agregação.

As AgNPPTA apresentaram o valor de Potencial Zeta mais negativo ($-54,7 \pm 0,81$ mV) e, portanto, é o sistema mais estável. A nanopartícula metálica tem potencial eletrostático muito pequeno e, de acordo com a Teoria DLVO, proporcionaria a agregação das partículas. A adição do ácido cítrico como agente estabilizante protegeu as AgNPs (estabilização estérica) e aumentou a sua estabilidade em água. A estabilidade das NpsAg em solução aquosa ocorre porque a macromolécula adsorve sobre a superfície das nanopartículas formadas e proporciona a repulsão estérica.

Os dados de diâmetro hidrodinâmico das AgNPAA mostrados na tabela 2 foram significativamente dependentes do solvente. Isso pode ser resultado da atração eletrostática (aglomeração das nanopartículas) em decorrência da grande força iônica do meio. A carga

líquida na superfície da nanopartícula afeta a distribuição de íons ao seu redor, aumentando a concentração de contra íons junto à superfície. Desta forma, ocorre a formação de dupla camada elétrica na interface da nanopartícula/solvente, que facilita a agregação.

Avaliação da toxicidade

Os resultados foram expressos em termos de proporção de mortalidade - PM (%). Os testes de toxicidade foram realizados com os três produtos obtidos AgNPAA, AgNPBH e AgNPTA. Nas concentrações de 100 mgL⁻¹, 50 mg L⁻¹, 25 mg L⁻¹, 12,5 mg L⁻¹ e 6,25mg L⁻¹. Após exposição a mortalidade e respostas anormais (retração, liberação de muco, perda de hemolinfa) foram observadas uma vez ao dia pelo período de até 96 h. Dentre as AgNPs analisadas a amostra de AgNPBH apresentou mortalidade significativa, chegando a 100% na concentração de 100 mg L⁻¹.

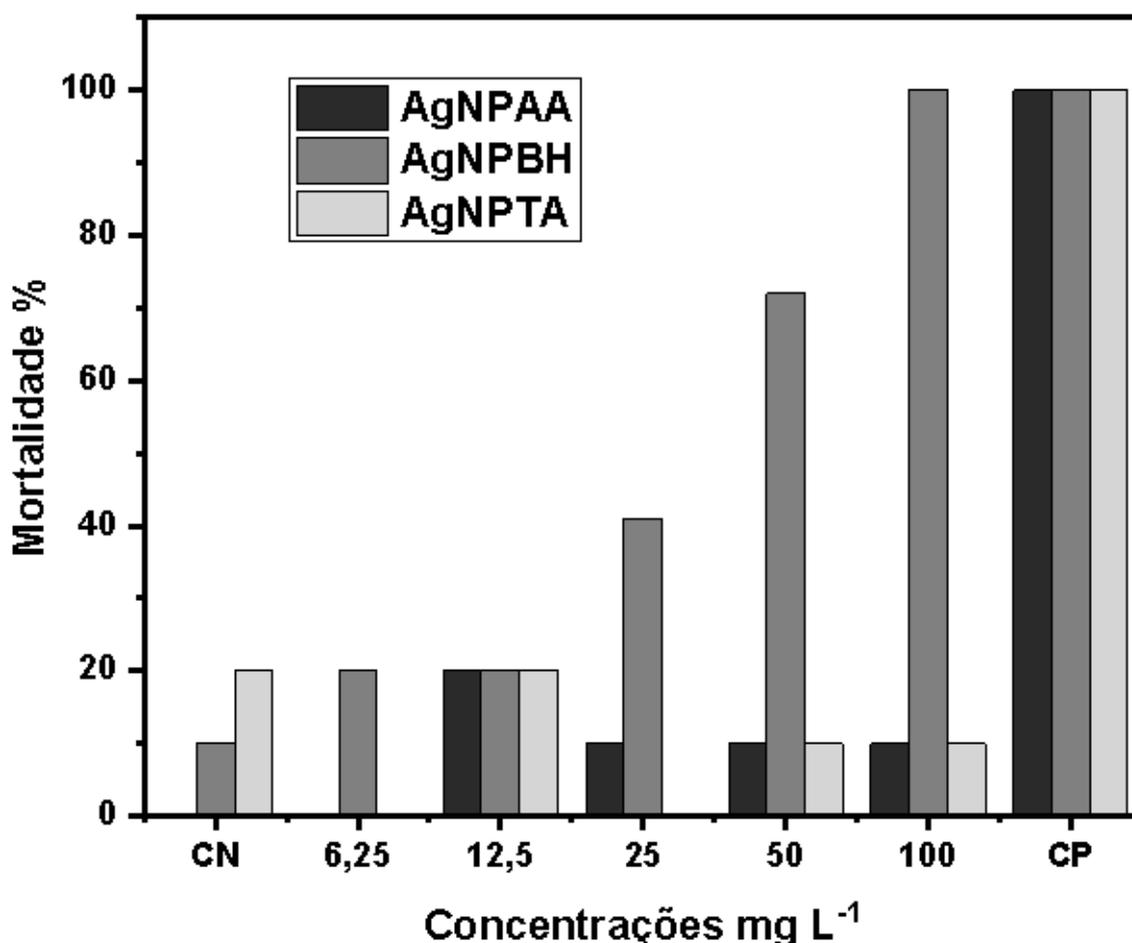


Figura 3—Resultado da exposição dos moluscos *B. Glabrata* com diferentes redutores, ácido ascórbico (AgNPAA), borohidreto de sódio (AgNPBH) e ácido tânico (AgNPTA).

Sendo esta a amostra que apresentou o melhor resultado para controle do

hospedeiro intermediário, para ser considerado um moluscicida ideal de acordo com os critérios estabelecidos pela OMS (1983), em que a solução ideal é aquela que apresenta DL90 igual ou menor a 100 mg. mL^{-1} . Isto mostra que a síntese AgNPBH se destaca, sendo considerado um moluscicida ideal, uma vez que, apresenta atividade moluscicida em concentrações bem abaixo do estabelecido pela OMS, minimizando a ocorrência de danos ao ecossistema aquático.

CONCLUSÃO

Nanopartículas de prata foram obtidas por meio de uma rota simples, na qual o ácido cítrico funcionou como estabilizante. A síntese das nanopartículas de prata foi confirmada por espectroscopia UV-vis, e análises de FTIR mostraram a interação das nanopartículas com os grupos funcionais dos agentes estabilizantes. As nanopartículas mostraram-se estáveis para todas as amostras, mostrando diâmetros de tamanhos diferentes, podendo alguns destes ocasionar aglomeração e perda da estabilidade. As imagens obtidas de MET mostraram diferentes morfologias e tamanhos, podendo ser atribuídas ao alargamento e deslocamento da banda plasmon característica da prata observada no UV-Vis. Os testes biológicos mostraram que as AgNPBH são eficientes contra o hospedeiro intermediário *Biomphalaria glabrata*, causando mortalidade de 100% nos caramujos recém-eclodidos para a concentração de 100 mg L^{-1} . Mostrando que o trabalho com AgNP é promissor em diversas áreas, incluindo controle de pragas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ABBASI, Elham et al. Silver nanoparticles: synthesis methods, bio-applications and properties. **Critical reviews in microbiology**, v. 42, n. 2, p. 173-180, 2016.
2. KORBEKANDI, HASSAN; IRAVANI, SIAVASH; ABBASI, SAJJAD. Production of nanoparticles using organisms. **Critical reviews in biotechnology**, v. 29, n. 4, p. 279-306, 2009.
3. PULIT-PROCIAK, JOLANTA; BANACH, MARCIN. Silver nanoparticles—a material of the future...?. **Open Chemistry**, v. 14, n. 1, p. 76-91, 2016.
4. IRAVANI, SIAVASH. Green synthesis of metal nanoparticles using plants. **Green Chemistry**, v. 13, n. 10, p. 2638-2650, 2011.
5. JU-NAM, YON; LEAD, JAMIE R. Manufactured nanoparticles: an overview of their chemistry, interactions and potential environmental implications. **Science of the total environment**, v. 400, n. 1-3, p. 396-414, 2008
6. GRASSIAN, Vicki H. When size really matters: size-dependent properties and surface chemistry of metal and metal oxide nanoparticles in gas and liquid phase environments. **The Journal of Physical Chemistry C**, v. 112, n. 47, p. 18303-18313, 2008.
7. YANG, T; ZHAO, Y. L; TONG, Y; JIAO, Z. B; WEI, J; CAI, J. X; LU, K. Nanopartículas intermetálicas multicomponentes e excelentes comportamentos mecânicos de ligas complexas. **Ciência**, v. 362, n. 6417, p. 933-937, 2018.
8. DAN, A; BASU, B., ROYCHOWDHURY, S; BISWAS, K; RAJ, B. 14 Nanotechnology and energy conversion: A solution using spectrally selective solar absorbers and thermoelectrics. **Nanoscience and Nanotechnology: Advances and Developments in Nano-sized Materials**, p. 234, 2018.
9. ROCHA-FILHO, Cláudio AA et al. Assessment of toxicity of Moringa oleifera flower extract to Biomphalaria glabrata, Schistosoma mansoni and Artemia salina. **Chemosphere**, v. 132, p. 188-192, 2015.
10. SONG, J. Y; KIM, Beom S. Rapid biological synthesis of silver nanoparticles using plant leaf extracts. **Bioprocess and biosystems engineering**, v. 32, n. 1, p. 79, 2009.
11. KAMALI, M; PERSSON, K. M; COSTA, M. E; CAPELA, I. Sustainability criteria for assessing nanotechnology applicability in industrial wastewater treatment: Current status and future outlook. **Environment international**, v. 125, p. 261-276, 2019.
12. CHALOUPKA, KARLA; MALAM, YOGESHKUMAR; SEIFALIAN, ALEXANDER M. Nanosilver as a new generation of nanoprodukt in biomedical applications. **Trends in biotechnology**, v. 28, n. 11, p. 580-588, 2010.
13. CHANG, T. H; CHANG, Y. C; CHEN, C. M; CHUANG, K. W. Optimizing pyramidal silicon substrates through the electroless deposition of Ag nanoparticles

- for high-performance surface-enhanced Raman scattering. **Thin Solid Films**, v. 676, p. 108-112, 2019.
14. SOLIVERI, G; ARDIZZONE, S; YÜKSEL, S; CIALLA-MAY, D; POPP, J; SCHUBERT, U. S; HOEPPENER, S. Microwave-assisted silver nanoparticle film formation for SERS applications. **The Journal of Physical Chemistry C**, v. 120, n. 2, p. 1237-1244, 2016.
 15. FLORES-ROJAS, G. G; LÓPEZ-SAUCEDO, F; BUCIO, E. Gamma-irradiation applied in the synthesis of metallic and organic nanoparticles: a short review. **Radiation Physics and Chemistry**, v. 169, 2020.
 16. HOTEZ, P. J; ALVARADO, M; BASÁÑEZ, M. G; BOLLIGER, I; BOURNE, R; BOUSSINESQ, M; CARABIN, H. The global burden of disease study 2010: interpretation and implications for the neglected tropical diseases. **PLoS neglected tropical diseases**, v. 8, n. 7, 2014.
 17. PILE, E. A. M; PASTOR, N; SANTOS, J. A. D; BARROS, J. S. D. Aspectos histopatológicos de *Biomphalaria glabrata* Say, 1817, hospedeiro intermediário de *Schistosoma mansoni*, submetida à Niclosamida. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 39, n. 4, p. 218-219, 2002.
 18. GRYSEELS, Bruno et al. Human schistosomiasis. **The Lancet**, v. 368, n. 9541, p. 1106-1118, 2006.
 19. SOKOLOW, S. H; WOOD, C. L; JONES, I. J; SWARTZ, S. J; LOPEZ, M; HSIEH, M. H; DE LEO, G. A. Global assessment of schistosomiasis control over the past century shows targeting the snail intermediate host works best. **PLoS neglected tropical diseases**, v. 10, n. 7, 2016.

CAPÍTULO II

Síntese verde de Nanopartículas de prata e avaliação da toxicidade em caramujos

(Normas de acordo com a Revista Materials Research)

Resumo

Nas últimas décadas houve aumento no interesse da comunidade científica pela nanotecnologia e nanociência. Parte desse interesse se dá a partir das inúmeras aplicações das nanopartículas metálicas, como construção de sensores, microeletrônica, catálise, ação bactericida, medicamentos, entre outras, e ocorre por suas propriedades ópticas, eletrônicas, magnéticas e catalíticas. Com este trabalho, objetivou-se uma síntese verde de Nanopartículas de prata (AgNPs), em condições previamente otimizadas com extratos de plantas do Cerrado e testou-se sua toxicidade em caramujos da espécie *Biomphalaria glabrata*, vetor do parasita *Schistosoma mansoni*, que provoca a esquistossomose. A cerca de 0,5 g de extratos secos de caju, baru e seiva da sangra d'água foram diluídos em 50 mL de água, o pH ajustado para próximo de 10 e adicionou-se solução de AgNO_3 . A caracterização das AgNPs combinadas com os extratos foi realizada por espectroscopia de UV-Visível, os grupos funcionais foram analisados por Espectroscopia no Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR), o tamanho das partículas foi observado por microscopia eletrônica de transmissão (MET) e a carga superficial das nanopartículas foi analisada em aparelho Zeta Sizer Nano Z-S. As AgNPs apresentaram absorvância máxima a cerca de 400 nm. A condutividade elétrica teve influência direta da concentração dos extratos. A formação eficiente de AgNPs foi dependente de parâmetros do processo, como extrato, pH e concentração da solução de prata. O extrato da Sangra d'água apresentou isoladamente os melhores resultados, desde o extrato puro, como combinado com as nanopartículas, apresentando mortalidade de 100% com os moluscos recém-eclodidos. O processo de síntese apresentou alta reprodutibilidade e está de acordo com os princípios da química verde, podendo ser uma alternativa sustentável, ecoamigável, de baixo custo e biocompatível para sínteses de AgNP.

Palavras - chave: Nanotecnologia, Bioma Cerrado, Moluscicida Vegetal.

Abstract

In the last decades there has been an increase in the interest of the scientific community in nanotechnology and nanoscience. Part of this interest comes from the numerous applications of metallic nanoparticles, such as sensor construction, microelectronics, catalysis, bactericidal action, medications, among others, which occur due to their optical, electronic, magnetic and catalytic properties. Nanoparticles, due to their small size, can have a greater permeability through the skin, mucous membranes and cell membranes, thus having a great applicability. This work aims a green synthesis of silver nanoparticles (AgNPs) in previously optimized conditions with plant extracts from the Cerrado Biome and to test their toxicity in snails of the species *Biomphalaria glabrata*, vector of the parasite *Schistosoma mansoni*, which causes schistosomiasis. The syntheses were performed using 0.5 grams of extracts of cashew and baru and sap of water bleed and diluted in 50 mL of water, adjusting the pH to ~ 10, the AgNO₃ solution was added. The characterization of AgNPs combined with extracts were performed by UV-Visible spectroscopy; the functional groups were analyzed by Infrared Spectroscopy with Fourier Transform (FTIR); particle size was observed by transmission electron microscopy (MET); the surface charge of the nanoparticles was analyzed in a Zeta Sizer Nano Z-S device. The toxicity assessment of NPsAg with plant extract from cerrado plants was carried out in partnership with the Institute of Tropical Pathology and Public Health - IPTSP. After optimizing the synthesis conditions, after formed, the AgNPs showed maximum absorbance around 414 nm for AgNPSD, 420 nm AgNPCA and 416 for AgNPBA. There was also a wide variation in the hydrodynamic diameters and polydispersity indices (PdI) of the obtained AgNPs. The electrical conductivity had a direct influence on extracts concentration. In the synthesis, using the Caju extract, it was obtained expressively low values of PdI 0.269 e. It should be noted that such PdI values are always desired, and are hardly reached even by conventional chemical synthesis routes. The surface load of these AgNPs reached about -29.5 mV for AgNPSD, -28.4 mV for AgNPCA and -52.88 mV for AgNPBA, AgNPs with a size of approximately 25 nm for AgNPSD, from 8 to 15 nm for AgNPCA and between 5 to 10 for AgNPBA. The efficient formation of AgNPs was dependent on process parameters, such as extract, pH and concentration of the silver solution. The Sangra d'água extract alone presented the best results, from the pure extract, as combined with the nanoparticles, thus presenting toxicity tests with 100% mortality with the newly hatched mollusks. The synthesis

process showed high reproducibility and is in accordance with the principles of green chemistry, presenting itself as a sustainable, eco-friendly, low cost and biocompatible alternative in the synthesis of AgNP.

Keywords: Nanotechnology, Cerrado Biome, Vegetable Molluscicide

INTRODUÇÃO

Nas últimas décadas, as nanopartículas de prata (AgNPs) têm sido consideradas materiais de vanguarda, por suas propriedades promissoras que parecem diferir do seu homólogo em massa. A principal característica dos AgNPs é a alta área de superfície em relação ao volume, permitindo a nanoestrutura a ser extensivamente explorada em diversas áreas como biotecnologia, eletrônica, medicina, remediação ambiental, biossensores, agricultura e indústria de alimentos. O uso extensivo de AgNPs se reflete na quantidade de fornecedores mundiais e no consumo global dessas nanopartículas em produtos elétricos, de saúde, alimentícios e produtos têxteis.^{1,2}

Com a busca crescente por novos métodos de obtenção de nanopartículas metálicas, que minimizem o impacto ambiental, vários países estão reduzindo os resíduos perigosos gerados, em que a química verde e os processos químicos estão progressivamente se integrando ao desenvolvimento da ciência e da indústria³.

A síntese verde de nanopartículas atraiu atenção considerável nos últimos anos, nisso o uso de recursos naturais como microrganismos, enzimas e extratos de plantas foram considerados bons reagentes alternativos como mostra o esquema da síntese na Figura 13. Vendo que a utilização desses reagentes possui várias vantagens, incluindo baixo consumo de energia e moderadas condições de operação como; temperatura e pressão e além de tudo sem usar produtos químicos tóxicos⁴. Portanto, uma ação viável e ambientalmente amigável para a obtenção de AgNPs.

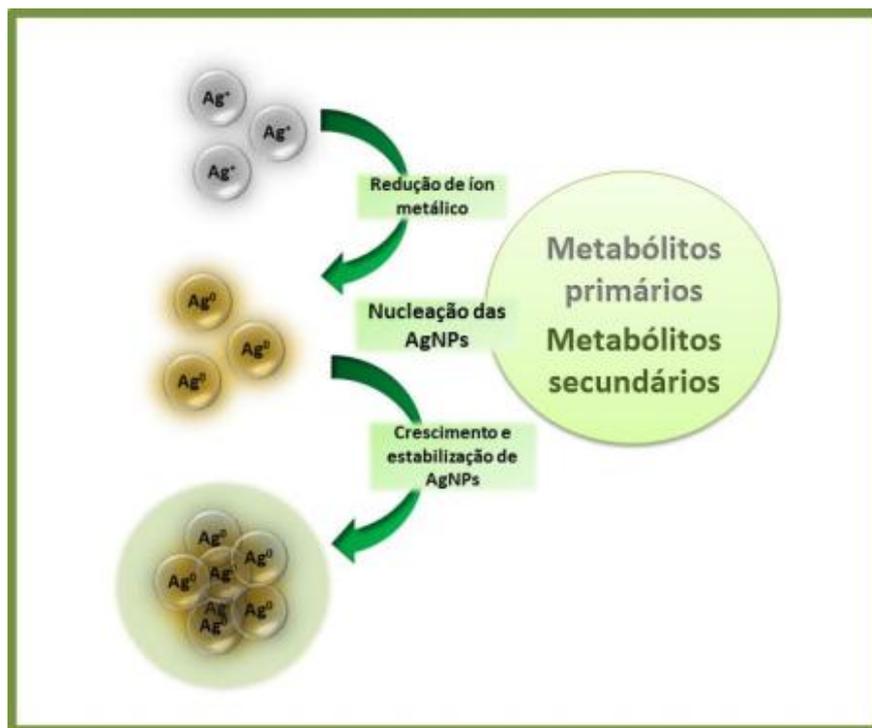


Figura 9 - Esquema ilustrativo do princípio da síntese verde de NPMs utilizando plantas (SILVA, 2014).

Em todos os métodos de síntese, algumas características devem ser consideradas e obedecidas: maior reprodutibilidade; controle do tamanho de partícula, distribuição de tamanho, forma, estrutura cristalina e distribuição de composição química; melhoria da pureza das nanopartículas (menores impurezas); controle de agregação; estabilização de propriedades físicas, estruturas e reagentes. Em que diversos métodos para a obtenção de AgNPs têm sido descritos na literatura⁵.

O Brasil possui grande biodiversidade e vem desenvolvendo novas rotas de síntese verde. Algumas plantas medicinais e seus metabólitos secundários podem representar a oportunidade de elaboração de tratamentos eficazes e de baixo custo para muitas enfermidades⁶.

O Cerrado é rico em plantas que podem ser utilizadas como agentes biorredutores nas rotas de síntese de nanopartículas. No entanto, ainda é pouco explorado para esse fim. Além disso, já foi demonstrado na literatura que essas nanoestruturas metálicas podem ser obtidas por biorredução realizada por compostos encontrados em inúmeros organismos, alguns dos quais também presentes em vegetais.⁷

A Organização Mundial da Saúde (OMS) recomenda o uso de moluscidas

sintéticos, como a niclosamida (Bayluscide®), para o combate à esquistossomose no mundo (OMS, 2002). No entanto, a niclosamida tem alto valor de produção e pode induzir a vários efeitos secundários, como bioacumulação e alta toxicidade em animais não visados. Além disso, a recolonização de populações de caracóis é observada após alguns meses de aplicação da niclosamida, demonstrando as populações de caracóis resistentes à niclosamida depois de repetidos e extensos usos deste moluscicida⁸. Nesse contexto, alguns trabalhos^{9,10, 11, 12,13}, mostraram a descoberta de novos moluscicidas que poderiam ser mais seletivos para *Biomphalaria* e menos prejudiciais ao meio aquático.

O controle do hospedeiro intermediário é uma estratégia amplamente discutida para o controle da esquistossomose em países endêmicos. Embora tenha havido aumento nos estudos sobre a busca de moluscicidas potentes nos últimos anos, o uso de agentes nanoparticulados como moluscicidas ainda está em processo de crescimento¹⁴. Esse interesse pode ser atribuído ao tamanho ultrapequeno das NPs, a grande proporção entre área superficial e massa e a alta reatividade aumentam seus benefícios¹⁵.

Partindo desse pressuposto, há algumas pesquisas que mostram a eficácia das AgNPs como ovicidas, larvicidas, pupicidas, adulticidas e impedimentos de oviposição contra espécies de mosquitos de importância médica e veterinária^{16, 17, 18, 19,20}.

As NPs têm efeitos antiparasitários potentes, atuando como um veículo de drogas convencionalmente usadas, como o praziquantel, no tratamento da esquistossomose²¹ e doxiciclina e ivermectina no tratamento da filariose²².

Além disso, os próprios NPs podem ter ação antiparasitária, pois os AgNPs, quitosana e curcumina têm efeito anti-giardia²³ e há trabalhos que relatam que NPs tem efeito antineurossomicossômico em camundongos infectados com *Schistosoma mansoni*²⁴.

Sabendo da potencialidade e das diversas aplicabilidades das AgNPs utilizando da biodiversidade e do extenso potencial farmacológico das plantas nativas do Cerrado, surgiu o interesse em realizar a síntese de AgNPs combinadas com extratos a fim de observar se há efeito toxicológico em caramujos da espécie *B. Glabrata*. Segundo²⁵. Os extratos de plantas ricos em taninos condensados são os mais promissores como agentes moluscicidas.

Na década de 1930 foi relatado o uso do primeiro moluscicida de origem vegetal, no controle da esquistossomose. O plantio de *Balanites aegyptiaca* L., *Balanitaceae*, uma árvore típica do deserto, foi sugerido nas margens dos focos de transmissão, no Sudão, pois os frutos ao caírem das árvores, inibiam a densidade populacional de caramujos²⁶.

As primeiras pesquisas com moluscidas naturais no Brasil demonstraram atividade de extratos aquosos do caule de *Sejania sp.* (cipó-timbó) e *Sapindus saponaria L.* (saboneteira) em *B. Glabrata*²⁷.

Com a finalidade de adquirir produtos com alto teor moluscida a partir de extratos vegetais, muitos autores se dedicaram a pesquisar plantas regionais, das quais ainda não haviam estudos aprofundados²⁸. Esses autores buscaram espécies ornamentais, tóxicas e medicinais que foram avaliadas quanto a possível ação moluscida.

Dentro deste contexto, algumas espécies vegetais do Cerrado brasileiro (Figura 14) foram selecionadas baseando-se em literaturas anteriores, por possuírem compostos bioativos que são capazes de reduzir e estabilizar as NPs para serem testadas a fim de avaliar a possibilidade de atividade moluscida, contra moluscos da espécie *B. Glabrata*.



Figura 10 - imagens das árvores utilizadas com suas respectivas partes casca, fruto e seiva para a obtenção dos extratos. A) barueiro; b) cajueiro c) sangra d'água.

O baru ou barueiro (*Dipteryx alata Vogel*) é uma espécie arbórea que ocorre no Brasil central, principalmente em Minas Gerais, Goiás, Distrito Federal, Mato Grosso e Mato Grosso do Sul e é valorizada por suas diversas utilizações.²⁹

Cróton urucurana Baill. (Euphorbiaceae) é uma árvore comumente encontrada no bioma Cerrado. Sua casca quando cortada libera uma seiva sangue-vermelha e por esta razão *C. urucurana*, e outras espécies do gênero *Cróton* (*C. lechleri*, *C. draconoides*), também são conhecidas como “sangue de gado”, sangue de dragão (ou sangra d'água no Brasil)³¹.

Anacardium occidentale conhecido popularmente como cajueiro é uma planta da família Anacardiaceae, encontrada em boa parte do território nacional. Seu fruto é a castanha do caju, que apresenta um formato de rim. Possui um pseudofruto. Um

pedúnculo, maior e comestível.

Nesse contexto, o presente estudo propõe a síntese, caracterização, e avaliação da atividade toxicida de AgNPs em caramujos da espécie *Biomphalaria glabrata*.

EXPERIMENTAL

Materiais

Nos procedimentos realizados foram utilizados os seguintes reagentes: Nitrato de prata P.A (plat lab.), Hidroxido de sódio (Êxodo científica) e extratos de baru, caju e sangra d'água. Em todos os experimentos usou-se água deionizada

Coleta e Preparação dos Extratos

Inicialmente foi realiza do um levantamento da literatura sobre espécies de plantas nativas o Cerrado que exibem atividade inseticida e moluscicida, sua sazonalidade, biodistribuição e disponibilidade. Após serem definidas as espécies de trabalho, foi realizada a coleta do material vegetal, separação, limpeza e condicionamento.

A Sangra d'água foi coletada no campus do IF-goiano no município de Rio verde nas 17°48'06.0"S 50°54'24.0"W altitude 17°48'44.6"S 50°53'46.7"W. A parte coletada foi a seiva que foi retirada através de corte em diagonal a fim de não causar danos às plantas.

Para o caju foi utilizado o pseudofruto da árvore presentes nas coordenadas 16 ° 06 ' 12,7 " S, 051 ° 15 ' 55,8 " W, altitude 391 a 16 ° 08 ' 13,7 "S, 051 ° 17 ' 36,8 " W em montes claros de Goias (Goias Brasil). Os frutos foram coletados entre setembro e outubro de 2018.

O caju foi seco em estufa sob temperatura de 70°C, triturado em moinho de facas para rompimento das células e empregado para extração. Utilizando a casca do baru da árvore localizada nas coordenadas 17°48'06.0"S 50°54'24.0"W altitude 17°48'44.6"S 50°53'46.7"W e, foi seco em estufa sob temperatura de 70°C, triturado em moinho de facas para rompimento das células e empregado para extração.

Os extratos foram obtidos em meio aquoso 100 g do material para 200 de água por 24 horas sob agitação constante. Foram acondicionados em freezer, liofilizados e empregados nas etapas posteriores. As sínteses das nanopartículas de prata foram conduzidas no escuro misturando soluções de íons Ag⁺ aos extratos preparados variando se a razão Ag/extrato.

Síntese das AgNPs combinadas com extrato aquoso

Foram otimizados alguns parâmetros para a preparação das NPs, a fim de verificar quais as melhores condições para a formação das mesmas: o pH, a concentração do extrato e concentração da solução de AgNO₃. A taxa de formação de AgNP foi monitorada por espectroscopia na região do UV-Vis.

Os testes de otimizações realizados, predisseram as condições favoráveis para a obtenção das nanopartículas de prata combinadas com extratos de baru, caju e sangra d'água, todos na mesma concentração de 10g L⁻¹. Os parâmetros selecionados para os testes foram de pH partindo de um mais ácido (pH= 5) um intermediário (pH= 7) e um meio mais alcalino (pH= 10). As concentrações de AgNO₃ da solução estoque variaram entre 2 mM, 4 mM e 8 mM e os volumes de extrato de 1 mL, 2 mL, 4 mL e 8 mL.

As leituras no Uv-visível foram realizadas a fim de verificar a formação da banda plasmon característica da prata que aparece entre 380 e 400nm. Essas medidas foram realizadas em diferentes tempos, que variaram de tempo 0 (zero) T0, tempo 30 (trinta) minutos T30, tempo 1 (uma) hora T1, tempo 2 (duas) horas T2, tempo 3 (três) horas T3 e tempo 24 (vinte e quatro) horas T24.

As condições ideais selecionadas para síntese estão na Tabela 3. Os espectros das absorvâncias obtidas foram plotados no Origin 8.0 para a obtenção dos gráficos a fim de visualizar a absorvância máxima de cada teste e assim gerar um gráfico das melhores condições para cada planta.

Tabela 3 - Condições ótimas para a produção das nanopartículas de prata combinadas com extratos de plantas.

Plantas	Ph	[Ag] / mM	V extrato/ Ml
Sangra d'água	10	4	2
Baru	10	4	8
Caju	10	4	4

Caracterização

As AgNP sintetizadas foram caracterizadas quanto ao tamanho e morfologia por microscopia eletrônica de transmissão (MET) e espalhamento de luz dinâmico. A

ocorrência de ressonância plasmon de superfície foi investigada por espectroscopia eletrônica UV-visível.

A funcionalização de superfície foi investigada por espectroscopia no infravermelho. A estabilidade dos coloides obtidos foi investigada em função do tempo de estocagem através do Uv-vis. mensalmente.

Avaliação da toxicidade

O teste de toxicidade foi realizado no período de 96 h em contato com as nanopartículas combinadas com extratos de sangra D'água (AgNPSD), Caju (AgNPCA) e Baru (AgNPBA) nas concentrações 100 mg L^{-1} , 50 mg L^{-1} , 25 mg L^{-1} , $12,5 \text{ mg L}^{-1}$ e $6,25 \text{ mg L}^{-1}$. Foram usados os moluscos recém-eclodidos e o mesmo teste foi realizado com os extratos puros. A avaliação do potencial uso dos coloides de AgNPs combinadas com extrato, AgNPs isoladas e extratos puros no controle do caramujo *Biophalaria glabrata* foram realizadas em parceria com a UFG/ IPTSP no laboratório de biotecnologia e ecotoxicologia Labae.

-

RESULTADOS E DISCUSSÃO (discutir e comparar seu dados com os relatados na literatura)

A análise estrutural das AgNPs foi realizada utilizando MET com o objetivo de determinar o diâmetro e a forma das AgNPs. Com as imagens obtidas (Figura 15), foi notada a presença de AgNPs de formas diversificadas, de aproximadamente 25 nm para AgNPSD em que a maior população se deteve entre 8 a 15nm, para AgNPCA por volta de 81nm e também, a formação de agregados contendo partículas de 900nm foi detectada.

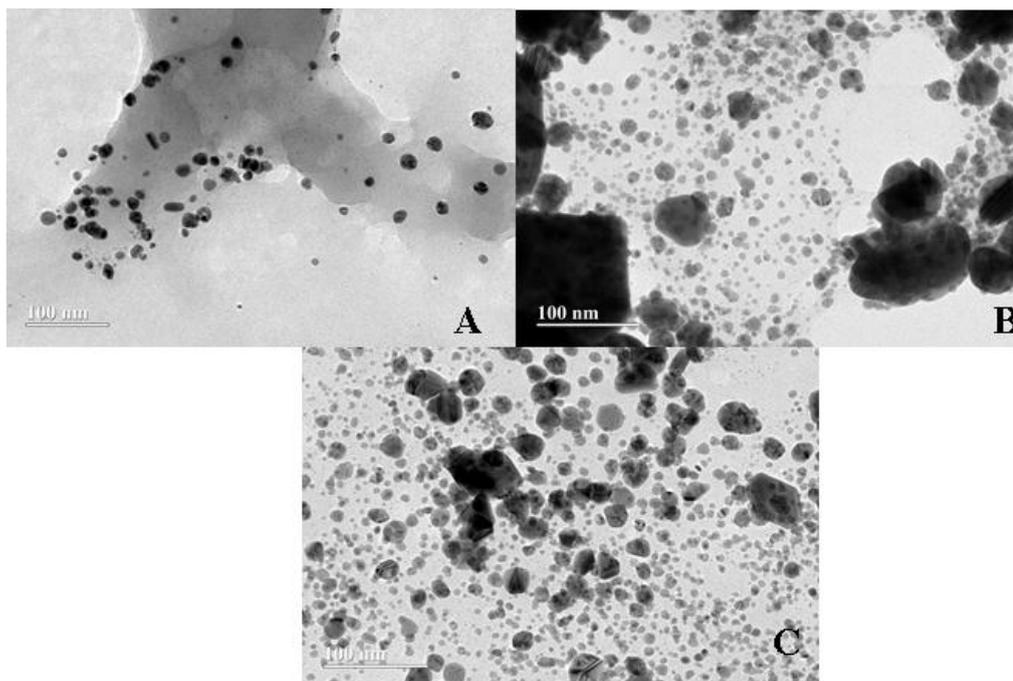


Figura 11 - Imagens de MET das nanopartículas de prata combinadas com diferentes extratos A) Nanopartículas de prata com extrato de Sangra d'água (AgNPSD); B) Nanopartículas de prata com extrato de Caju (AgNPCA); C) Nanopartículas de prata com extrato de Baru (AgNPBA).

As AgNPBA apresentaram tamanho médio de 45 nm e maior população entre 5 e 10 nm. Foi observado que as AgNPs combinadas com extratos sintetizadas por MET e os diâmetros obtidos variam, pois esse fator é dependente das condições da reação e do extrato da planta. Além disso, houve diferença entre o diâmetro hidrodinâmico (DH) e o diâmetro seco avaliado por MET. Amostras de AgNPs analisadas em estudo por MET obtiveram diâmetro médio de 25 a 30 nm e, em análise por DLS em dispersão aquosa apresentaram o *Z-average* de 128 nm³². Isso se deve ao raio hidrodinâmico de DLS ser maior em relação ao MET. (TOMASZEWSKA et al 2013)

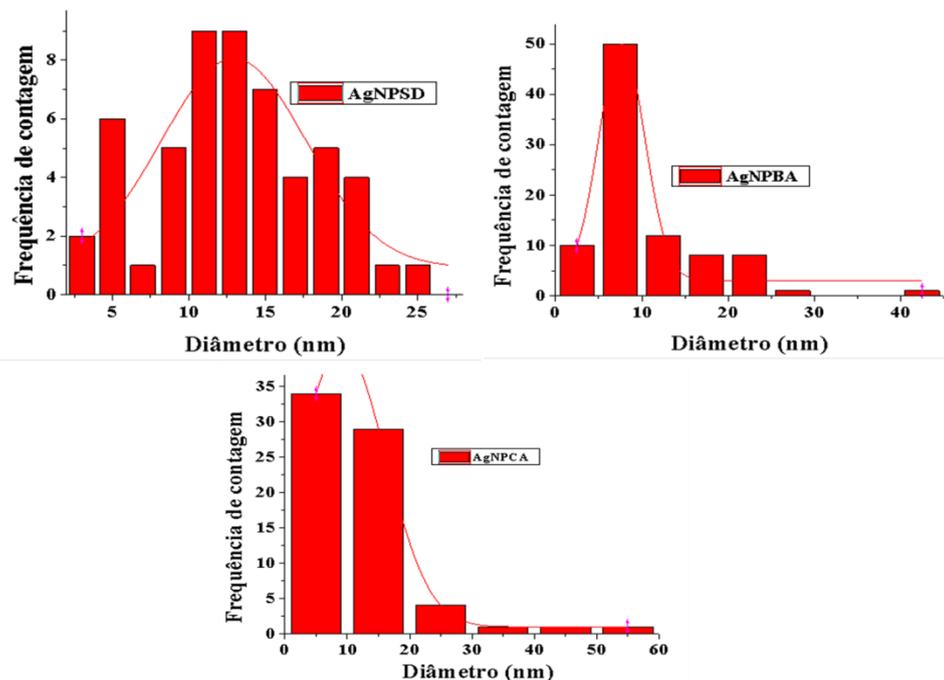


Figura 16 - Imagens dos Histogramas de tamanho das sínteses das nanopartículas de prata combinadas com diferentes extratos. Nanopartículas de prata com extrato de Sangra d'água (AgNPSD); Nanopartículas de prata com extrato de Caju (AgNPCA); Nanopartículas de prata com extrato de Baru (AgNPBA).

As AgNPs que apresentaram melhor resultado no teste de otimização, foram analisadas por DLS (AgNPSD, AgNPCA e AgNPBA). Essas amostras foram selecionadas por apresentarem melhores resultados nos testes de otimização. De acordo com a Tabela 4, pode-se observar que o Z-avarege que é o tamanho médio das partículas, resultou em tendência de redução dos valores e conseqüentemente do diâmetro hidrodinâmico.

Tabela 4 - Medidas de estabilidade DLS epotencial Zeta.

Amostras	Z-averege	Pdi	Zeta
AgNPSD	539,08	0,736	-29,5 mV
AgNPCA	127,01	0,269	-28,4 mV
AgNPBA	52,88	0,361	-52,88 mV

Z-averege: é um tamanho médio geral baseado na intensidade (d.nm);

Pdi: Índice de polidispersidade e Zeta: Potencial Zeta (mV); AgNPSD:

nanopartículas de prata combinadas com extrato de sangra d'água;

AgNPCA: nanopartículas de prata combinadas com extrato de caju; e

AgNPBA: nanopartículas de prata combinadas com extrato de baru.

O índice de polidispersão é um parâmetro que fornece informações sobre a homogeneidade da distribuição dos tamanhos, sendo que dispersões que apresentam valores que se aproximam de 0 (zero) mostra boa homogeneidade para a solução. Todas as dispersões obtidas, indicando a formação de sistemas monodispersos. Foi verificado, em relação aos resultados apresentados para o parâmetro índice de polidispersividade (PdI), que se relaciona com a homogeneidade de dimensão das partículas obtidas, que a amostra AgNPSD apresentou o índice mais alto seguido das amostras AgNPBA e AgNPCA.

A amostra de AgNPBA apresentou carga de superfície mais negativa com aproximadamente -52,88 mV, sendo a mais negativa dentre todas as amostras de AgNPs, conferindo a elas maior estabilidade coloidal com relação às outras amostras. Além disso, os perfis das cargas superficiais das demais AgNPs foram, e expressivamente diferente nas AgNPBA em que variaram somente o volume de extrato.

Esse evento pode ser novamente relacionado com a possibilidade de diferenças fitoquímicas entre partes do fruto, conforme descrito para outras espécies de plantas.³⁰ A caracterização das AgNPs por espalhamento de luz dinâmico, em relação ao número de partículas, forneceu o diâmetro hidrodinâmico das AgNPs com variação entre 26,5 nm e 265,6 nm para AgNPSD, de 50 nm a 166,2 nm para AgNPCA e 36,9 nm a 95,74 nm para AgNPBA. Pode-se observar que existem populações de diferentes tamanhos nas amostras de AgNPs. Além disso, nota-se que amostras com partículas abaixo de 100 nm apresentam boa estabilidade.

Os espectros obtidos no UV-visível mostraram que houve formação da banda plasmônica característica da prata em 414 nm para as AgNPSD, 420 nm para a AgNPCA e 416 nm AgNPBA. Em que esta absorve entre 380 a 400 nm. Foram feitas, também, leituras com os extratos puros para verificar se havia alguma banda plasmon na região de absorção da prata. Para que esta não interfira no resultado causando falso positivo, confirmando, assim a formação das AgNPs combinadas com extrato vegetal.

Os espectros obtidos dos extratos puros (figura: 16) mostrou que nenhum dos extratos possui banda na região em que a prata absorve. Mostrando, assim que houve formação das AgNPs.

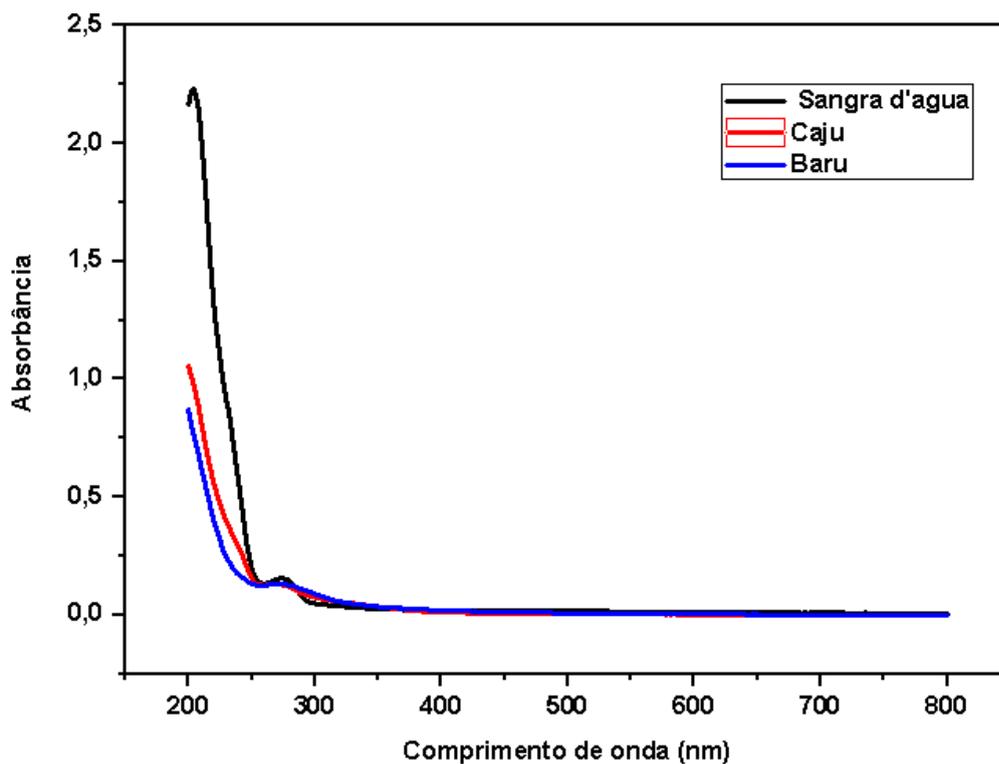


Figura 12 - Espectros de UV-vis dos extratos de sangra d'água na cor preta, caju na cor vermelha e baru na cor azul.

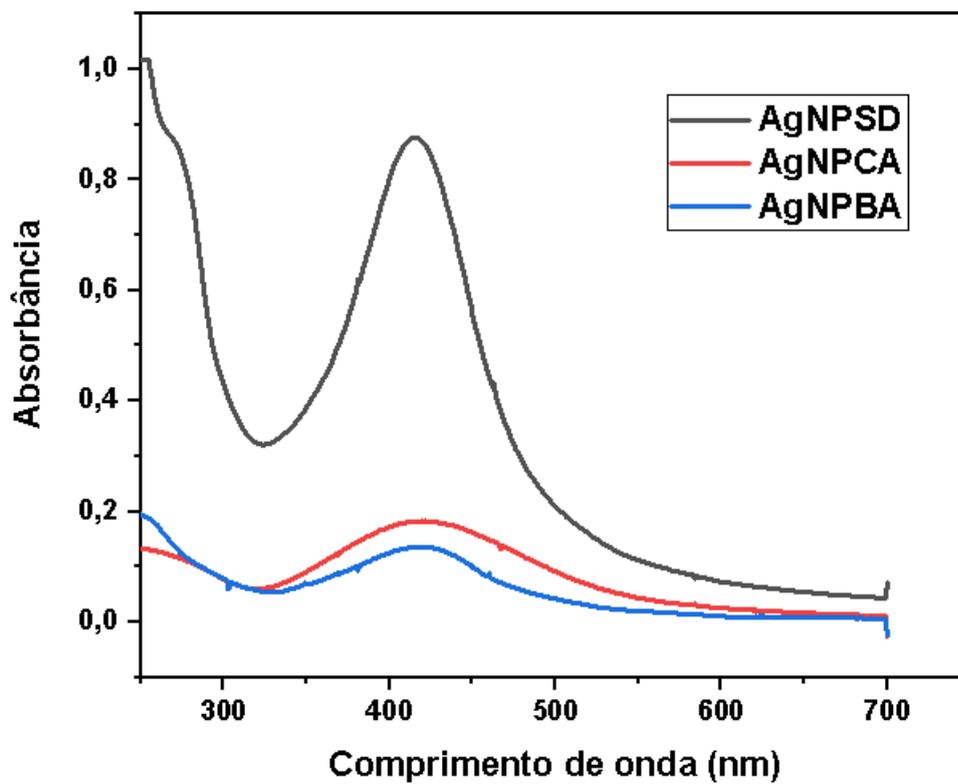


Figura 13 - Espectros de UV-vis das AgNPs combinados com extratos de sangra d'água na cor preta, caju na cor vermelha e baru na cor azul.

As possíveis interações AgNPs combinados com extrato podem ser observadas com o deslocamento das bandas características. Podendo também ser atribuídas as diferentes morfologias encontradas como mostra a figura 14 que apresenta formas alongadas e de circunferências arredondadas.

Obtiveram-se os espectros dos extratos puros a fim de verificar se algum deles exibía banda que a prata absorve, e se assim ocorresse poderia ocorrer sobreposição das bandas. A banda plasmônica da prata corresponde a 380 a 400 nm e como visto no gráfico acima as bandas correspondentes aos extratos utilizados, mostrando que ficam fora da faixa de absorção da prata.

Para a obtenção das AgNPs a síntese ocorre em uma única etapa, sendo assim um processo relativamente simples. Contudo, o uso de extratos vegetais torna esse processo mais complexo, pois os extratos vegetais apresentam diversas biomoléculas como flavonoides, polissacarídeos, compostos fenólicos, ácidos orgânicos, e proteínas, como relatado na literatura³³. Sendo assim, foram realizadas análises das AgNPs por Espectroscopia de Infravermelho para investigar a possível presença/ausência de diferentes grupos funcionais. Os resultados dessa análise por FTIR estão ilustrados na figura 18. A interpretação dos espectros foi realizada de modo a comparar os espectros obtidos entre si.

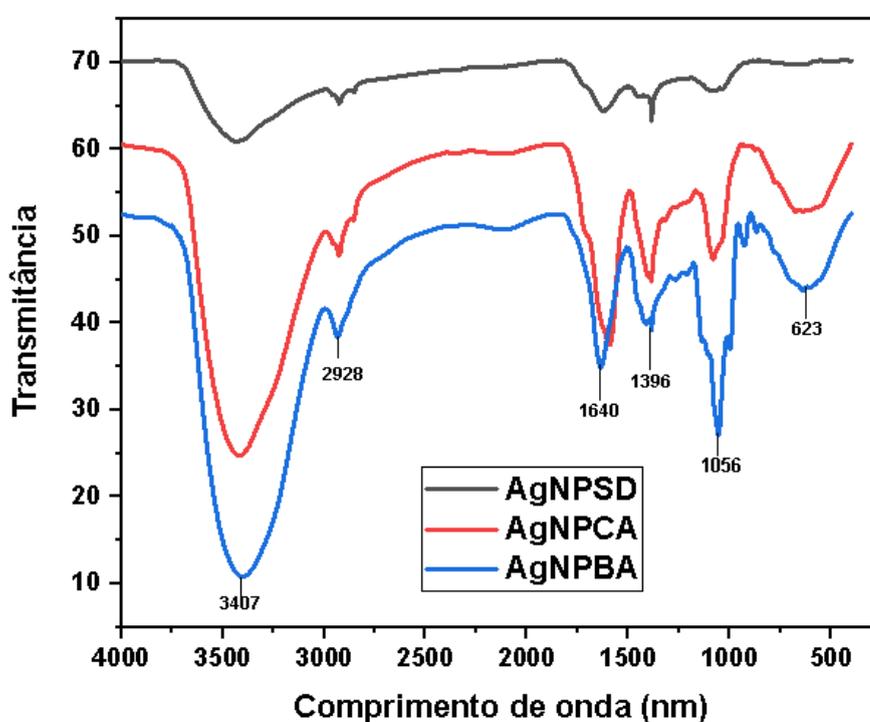


Figura 14 - Espectros de infravermelho das amostras AgNPSD nanopartículas de prata combinadas com extrato de sangra d'água; AgNPCA: nanopartículas de prata combinadas com extrato de caju e AgNPBA. Nanopartículas de prata combinadas com extrato de baru.

Os gráficos mostraram que os extratos são bastante semelhantes, apresentando bandas de absorção com pequenas diferenças entre as intensidades. Ao observar os espectros das AgNPs, percebe-se a presença das bandas 3407, 2998, 1640 e 1056 com maior intensidade de absorção. A banda larga em 3407 cm^{-1} é característica do grupo funcional hidróxi, presente em água, álcoois e compostos fenólicos. A região entre 550 cm^{-1} e 750 cm^{-1} são correspondentes à assinatura de vibração fora do plano do grupo OH³⁴.

A banda 1640 cm^{-1} se refere a grupamentos carbonila, possivelmente de polifenóis ou carboidratos³⁵. Já as bandas em 1056 cm^{-1} podem ser atribuídas ao estiramento vibracional de C-O-C e C-O em compostos fenólicos, como já relatado para AgNPs obtidas em síntese verde³⁶.

No espectro correspondente à AgNPSD notou-se a ocorrência de uma diminuição notável na intensidade das bandas, quando comparados aos espectros dos respectivos extratos AgNPCA e AgNPBA. Essas diferenças de intensidade podem ser diretamente responsáveis pela redução do íon metálico, contudo não há precisão de quais moléculas são responsáveis por esse fato, necessitando, assim de averiguação mais detalhada. De qualquer modo, essas bandas são menos expressivas no espectro da AgNPSD do que nas AgNPCA e AgNPBA, podendo ser um sinal da presença desses grupamentos em menor quantidade na AgNPSD, ainda que não foram feitas análises quantitativas dessas substâncias. Esse fato corrobora com a presunção de que metabólitos presentes nos extratos aquosos das plantas selecionadas são responsáveis pela redução da prata.

Para o teste com as nanopartículas verdes os caramujos apresentaram morte gradual na exposição de 96 horas como mostra a Figura 19.

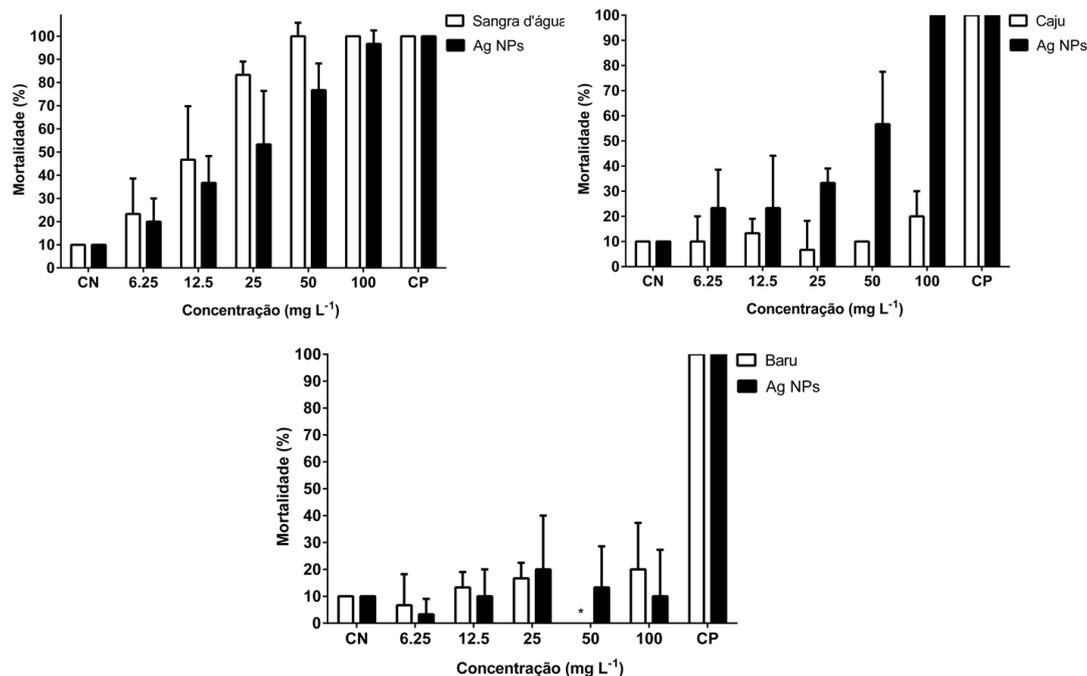


Figura 15 - Resultado da comparação da exposição dos moluscos *B. Glabrata* com extratos puros e combinados com nanopartículas de prata. A) AgNPSD nanopartículas de prata combinadas com extrato de sangra d'água; B) AgNPCA: nanopartículas de prata combinadas com extrato de caju e C) AgNPBA. nanopartículas de prata combinadas com extrato de baru, em 5 concentrações distintas, e tempo de exposição de 96 horas e controle negativo (água reconstituída).

Eles apresentavam retração em sua concha e liberam excretas e hemolinhas. Na concentração de 6,25 mg mL⁻¹ a NP foi letal a 90% dos caramujos nas 96 horas, demonstrando seu efeito tóxico em baixas concentrações. O controle negativo (água reconstituída) não provocou efeitos tóxicos aos moluscos. Dentre os resultados obtidos as AgNPSD obtiveram os melhores resultados, tanto nos extratos puros, quanto combinados com as nanopartículas de prata, seguido da AgNPCA e AgNPBA.

Essas características foram mantidas ao longo dos dias, sendo este comportamento referência para determinar características como a perda de hemolinha, contração na concha e batimentos cardíacos daqueles expostos ao extrato vegetal. Os gráficos da Figura 20 demonstram estes resultados.

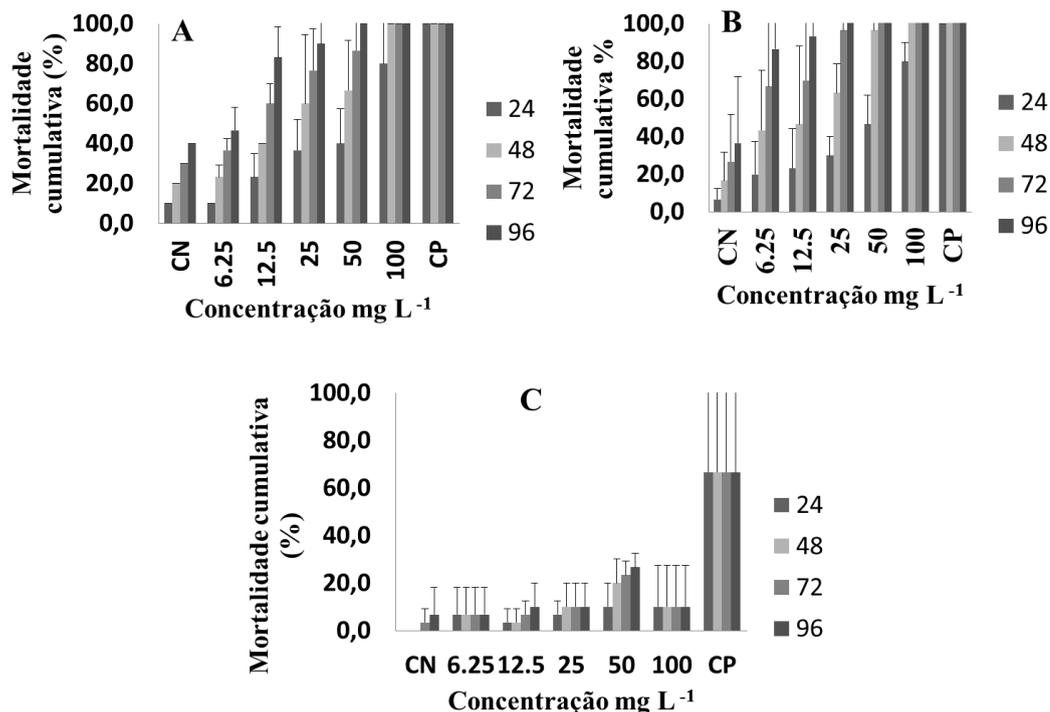


Figura 16—Índices de mortalidade de moluscos expostos a diferentes concentrações: A) AgNPSD nanopartículas de prata combinadas com extrato de sangra d'água; B) AgNPCA: nanopartículas de prata combinadas com extrato de caju e C) AgNPBA nanopartículas de prata combinadas com extrato de baru e controle negativo com água reconstituída em variados tempos de exposição.

Os bioensaios com os três extratos das plantas selecionadas foram iniciados a partir de soluções a 100 mg mL^{-1} , sendo este um valor que sugere limite para que os efeitos nocivos ao ecossistema causados pelo extrato sejam os menores possíveis³⁷. Diz que dessa forma, quanto menor for a concentração na dose letal (100% de letalidade dos caramujos), melhores serão as condições de uso do extrato no meio ambiente, uma vez que o impacto causado por este será reduzido e menor quantidade do material será utilizado. Dentre os três extratos, o extrato de Sangra d'água e caju obtiveram 100% de mortalidade durante o tempo de exposição na concentração de 50 mg mL^{-1} e 100 mg mL^{-1} e O Baru não obteve resultado satisfatório.

CONCLUSÃO

O trabalho obteve êxito nos pré-testes realizados, como foi possível observar no espectro de UV-vis, em que se observou a formação da banda característica da prata. As biomoléculas presentes no extrato de *Sangra d'água, Caju e Baruforam* responsáveis pela redução e possivelmente pelo revestimento e estabilização das AgNPs. A atividade moluscicida se mostrou positiva para o extrato puro de Sangra d'água. E, para os extratos combinados com a Ag o resultado foi significativo para sangra d'água e Caju.

REFERÊNCIAS (desatualizadas...21 de 37 são de 5 ou mais anos!!)

1. CALDERÓN-JIMÉNEZ, B; JOHNSON, M. E; MONTORO BUSTOS, A. R; MURPHY, K. E; WINCHESTER, M. R; VEGA BAUDRIT, J. R. Silver nanoparticles: technological advances, societal impacts, and metrological challenges. **Frontiers in chemistry**, v. 5, p. 6, 2017.
2. LENARDÃO, E.J.; FREITAG, R.A.; DABDOUB, M.J.; BATISTA, A.C.F.; SILVEIRA, C.C. "Green Chemistry" – Os 12 princípios da química verde e sua inserção nas atividades de ensino e pesquisa. *Química Nova*, v. 26 (1), p. 123-129, 2003
3. HORIKOSHI, SATOSHI; SERPONE, NICK (Ed.). **Microwaves in nanoparticle synthesis: fundamentals and applications**. John Wiley & Sons, 2013
4. MURDOCK, R. C; BRAYDICH-STOLLE, L; SCHRAND, A. M; SCHLAGER, J. J; HUSSAIN, S. M. Characterization of nanomaterial dispersion in solution prior to in vitro exposure using dynamic light scattering technique. **Toxicological sciences**, v. 101, n. 2, p. 239-253, 2008.
5. SOUSA, IANJHEMESOLIVEIRA A et al. A diversidade da flora brasileira no desenvolvimento de recursos de saúde. *REVISTA UNINGÁ REVIEW*, [S.l.], v. 31, n. 1, jan. 2018. ISSN 2178-2571. Disponível em: <<http://revista.uninga.br/index.php/uningareviews/article/view/2048>>. Acesso em: 30 Abril. 2018.
6. KING, CHARLES H.; BERTSCH, DAVID. Historical perspective: snail control to prevent schistosomiasis. **PLoS neglected tropical diseases**, v. 9, n. 4, 2015.
7. COURA FILHO, P; ROCHA, R. S; LIMA E COSTA, M. F. F. D; KATZ, N. A municipal level approach to the management of schistosomiasis control in Peri-Peri, MG, Brazil. **Rev. Inst. Med. trop. S. Paulo**, p. 543-548, 1992.
8. COELHO, P. M Z; CALDEIRA, R. L. Critical analysis of molluscicide application in schistosomiasis control programs in Brazil. **Infectious diseases of poverty**, v. 5, n. 1, p. 57, 2016.
9. ROCHA-FILHO, C. A; ALBUQUERQUE, L. P; SILVA, L. R; SILVA, P. C; COELHO, L. C; NAVARRO, D. M; PAIVA, P. M. Assessment of toxicity of Moringa oleifera flower extract to *Biomphalaria glabrata*, *Schistosoma mansoni* and *Artemia salina*. **Chemosphere**, v. 132, p. 188-192, 2015.
10. ZHANG, Q; HUANG, J. Q; QIAN, W. Z; ZHANG, Y. Y; WEI, F. The road for nanomaterials industry: a review of carbon nanotube production, post-treatment, and bulk applications for composites and energy storage. **Small**, v. 9, n. 8, p. 1237-1265, 2013.
11. PROW, T. W; GRICE, J. E; LIN, L. L; FAYE, R; BUTLER, M., BECKER, W; ROBERTS, M. S. Nanoparticles and microparticles for skin drug

- delivery. **Advanced drug delivery reviews**, v. 63, n. 6, p. 470-491, 2011.
12. SMEKALOVA, M; ARAGON, V; PANACEK, A; PRUCEK, R; ZBORIL, R; KVITEK, L. Enhanced antibacterial effect of antibiotics in combination with silver nanoparticles against animal pathogens. **The Veterinary Journal**, v. 209, p. 174-179, 2016.
 13. SYAFIYUDDIN, A; SALIM, M. R; BENG HONG KUEH, A; HADIBARATA, T; NUR, H. A review of silver nanoparticles: Research trends, global consumption, synthesis, properties, and future challenges. **Journal of the Chinese Chemical Society**, v. 64, n. 7, p. 732-756, 2017.
 14. TIPPAYAWAT, P; PHROMVIYO, N; BOUEROY, P; CHOMPOOSOR, A. Green synthesis of silver nanoparticles in aloe vera plant extract prepared by a hydrothermal method and their synergistic antibacterial activity. **PeerJ**, v. 4, p. e2589, 2016.
 15. RAFIQUE, M; SADAF, I; RAFIQUE, M. S; TAHIR, M. B. A review on green synthesis of silver nanoparticles and their applications. **Artificial cells, nanomedicine, and biotechnology**, v. 45, n. 7, p. 1272-1291, 2017.
 16. JAYASEELAN, C; RAHUMAN, A. A; RAJAKUMAR, G; KIRTHI, A. V; SANTHOSHKUMAR, T; MARIMUTHU, S; ELANGO, G. Synthesis of pediculocidal and larvicidal silver nanoparticles by leaf extract from heartleaf moonseed plant, *Tinospora cordifolia* Miers. **Parasitology research**, v. 109, n. 1, p. 185-194, 2011.
 17. JAYASEELAN, P; AKILA, E., RANI, M. U; RAJAVEL, R. Synthesis, spectral characterization, electrochemical, anti-microbial, DNA binding and cleavage studies of new binuclear Schiff base metal (II) complexes derived from o-hydroxyacetophenone. **Journal of Saudi Chemical Society**, v. 20, n. 6, p. 625-634, 2016.
 18. HALDAR, K. M; HALDAR, B; CHANDRA, G. Fabrication, characterization and mosquito larvicidal bioassay of silver nanoparticles synthesized from aqueous fruit extract of putranjiva, *Drypetes roxburghii* (Wall.). **Parasitology research**, v. 112, n. 4, p. 1451-1459, 2013.
 19. GOVINDARAJAN, MARIMUTHU; BENELLI, GIOVANNI. Facile biosynthesis of silver nanoparticles using *Barleria cristata*: mosquitocidal potential and biotoxicity on three non-target aquatic organisms. **Parasitology research**, v. 115, n. 3, p. 925-935, 2016.
 20. CHITRA, M; UTHAYARANI, K; RAJASEKARAN, N; NEELAKANDESWARI, N; GIRIJA, E. K; PADIYAN, D. P.. Rice husk templated mesoporous ZnO nanostructures for ethanol sensing at room temperature. **Chinese Physics Letters**, v. 32, n. 7, p. 078101, 2015.

21. BENELLI, GIOVANNI. Plant-mediated biosynthesis of nanoparticles as an emerging tool against mosquitoes of medical and veterinary importance: a review. **Parasitology research**, v. 115, n. 1, p. 23-34, 2016.
22. BENELLI, GIOVANNI; MEHLHORN, HEINZ. Declining malaria, rising of dengue and Zika virus: insights for mosquito vector control. **Parasitology research**, v. 115, n. 5, p. 1747-1754, 2016.
23. KOLENYAK-SANTOS, F; GARNERO, C; DE OLIVEIRA, R. N; DE SOUZA, A. L; CHORILLI, C; ALLEGRETTI, S. M; GREMIÃO, M. P. Nanostructured lipid carriers as a strategy to improve the in vitro schistosomiasis activity of praziquantel. **Journal of Nanoscience and Nanotechnology**, v. 14, n. 1, p. 1-12, 2014.
24. GUPTA, ASHISH KUMAR; GANJEWALA, DEEPAK. Synthesis of silver nanoparticles from *Cymbopogon flexuosus* leaves extract and their antibacterial properties. **Int J Plant Sci Ecol**, v. 1, p. 225-30, 2015.
25. CANTANHEDE, S. P. D; MARQUES, A. D. M; SILVA-SOUZA, N; VALVERDE, A. L. Atividade moluscicida de plantas: uma alternativa profilática. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 20, n. 2, p. 282-288, 2010.
26. DKHIL, M. A; BAUOMY, A. A; DIAB, M. S; AL-QURAI SHY, S. Antioxidant and hepatoprotective role of gold nanoparticles against murine hepatic schistosomiasis. **International journal of nanomedicine**, v. 10, p. 7467, 2015.
27. MARTINS, M. C; SILVA, M. C; SILVA, L. R; LIMA, V. L; PEREIRA, E. C; FALCAO, E. P; DA SILVA, N. H. Usnic acid potassium salt: an alternative for the control of *Biomphalaria glabrata* (Say, 1818). **PloS one**, v. 9, n. 11, 2014.
28. LEYTON, V; HENDERSON, T. O; MASCARA, D; KAWANO, T. Atividade moluscicida de princípios ativos de folhas de *Lycopersicon esculentum* (Solanales, Solanaceae) em *Biomphalaria glabrata* (Gastropoda, Planorbidae). **Iheringia. Série Zoologia**, v. 95, n. 2, p. 213-216, 2005.
29. ARCHIBALD, ROBERT GEORGE. The Use of the Fruit of the Tree *Balanites aegyptiaca* in the Control of Schistosomiasis in the Sudan. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 27, n. 2, 1933.
30. PINTO, R. M; NORONHA, D; ALMEIDA, M. S; KATZ, N; TENDLER, M. Migration of *Schistosoma mansoni* sambon (Trematoda, Schistosomatidae) from skin to lungs in immunized NZ rabbits (Lagomorpha, Leporidae) by autoradiographic analysis. **Revista Brasileira de Zoologia**, v. 11, n. 4, p. 629-634, 1994.
31. DA COSTA LOPES, T; GONÇALVES, J. D. R. S; SOUZA, N. S; MORAES, D. F. C; DO AMARAL, F. M. M; ROSA, I. G. Avaliação moluscicida e perfil fitoquímico das folhas de *caryocar brasiliense* CAMB. **Cadernos de Pesquisa**, v. 18, n. 3, 2011.

32. TAKEMOTO, E; OKADA, I. A; GARBELOTTI, M. L; TAVARES, M; AUED-PIMENTEL, S. Composição química da semente e do óleo de baru (*Dipteryx alata* Vog.) nativo do Município de Pirenópolis, Estado de Goiás. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, v. 60, n. 2, p. 113-117, 2001.
33. BETTOLO, RINALDO MARINI; SCARPATI, M. LUISA. Alkaloids of *Croton draconoides*. **Phytochemistry**, 1979.
34. JAYASEELAN, C; RAHUMAN, A. A; RAJAKUMAR, G; KIRTHI, A. V; SANTHOSHKUMAR, T; MARIMUTHU, S; ELANGO, G. Synthesis of pediculocidal and larvicidal silver nanoparticles by leaf extract from heartleaf moonseed plant, *Tinospora cordifolia* Miers. **Parasitology research**, v. 109, n. 1, p. 185-194, 2011.
35. KUMAR, S. S. D; RAJENDRAN, N. K; HOURELD, N. N; ABRAHAMSE, H. Recent advances on silver nanoparticle and biopolymer-based biomaterials for wound healing applications. **International journal of biological macromolecules**, v. 115, p. 165-175, 2018.
36. NABIKHAN, A; KANDASAMY, K; RAJ, A; ALIKUNHI, N. M. Synthesis of antimicrobial silver nanoparticles by callus and leaf extracts from saltmarsh plant, *Sesuvium portulacastrum* L. **Colloids and surfaces B: Biointerfaces**, v. 79, n. 2, p. 488-493, 2010.
37. MBHELE, Z. H; SALEMANE, M. G; VAN SITTERT, C. G. C. E; NEDELJKOVIĆ, J. M; DJOKOVIĆ, V; LUYT, A. S. Fabrication and characterization of silver– polyvinyl alcohol nanocomposites. **Chemistry of Materials**, v. 15, n. 26, p. 5019-5024, 2003.