



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA  
CENTRO DE CIÊNCIAS FÍSICAS E MATEMÁTICAS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

Morgana Lurdes da Rocha

**Caracterização e aplicação de nanopartículas de prata preparadas a partir  
do extrato de *Schinus terebinthifolius* como sensor colorimétrico para  
determinação de  $\text{Hg}^{2+}$  em amostras de interesse ambiental**

Florianópolis

2023

Morgana Lurdes da Rocha

**Caracterização e aplicação de nanopartículas de prata preparadas a partir do extrato de *Schinus terebinthifolius* como sensor colorimétrico para determinação de  $\text{Hg}^{2+}$  em amostras de interesse ambiental**

Dissertação submetida ao Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal de Santa Catarina como requisito parcial para a obtenção do título de Mestra em Química Analítica

Orientador: Prof. Dr. Eduardo Sidinei Chaves  
Coorientador: Prof. Dr. Ricardo Ferreira Affeldt

Florianópolis

2023

Rocha, Morgana Lurdes da

Caracterização e aplicação de nanopartículas de prata preparadas a partir do extrato de *Schinus terebinthifolius* como sensor colorimétrico para determinação de  $Hg^{2+}$  em amostras de interesse ambiental / Morgana Lurdes da Rocha ; orientador, Eduardo Sidinei Chaves, coorientador, Ricardo Ferreira Affeldt, 2023.

81 p.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências Físicas e Matemáticas, Programa de Pós-Graduação em Química, Florianópolis, 2023.

Inclui referências.

1. Química. 2. Nanopartículas de prata. 3. *Schinus terebinthifolius*. 4. Mercúrio. 5. Sensor Colorimétrico. I. Chaves, Eduardo Sidinei. II. Affeldt, Ricardo Ferreira. III. Universidade Federal de Santa Catarina. Programa de Pós-Graduação em Química. IV. Título.

Morgana Lurdes da Rocha

**Caracterização e aplicação de nanopartículas de prata preparadas a partir do extrato de *Schinus terebinthifolius* como sensor colorimétrico para determinação de Hg<sup>2+</sup> em amostras de interesse ambiental**

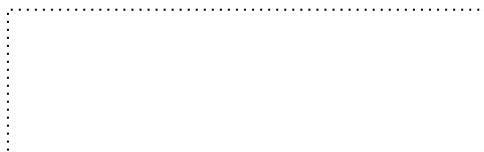
O presente trabalho em nível de Mestrado foi avaliado e aprovado, em 31 de julho de 2023, pela banca examinadora composta pelos seguintes membros:

Prof.(a) Cristiane Luisa Jost, Dr.(a)  
Universidade Federal de Santa Catarina

Prof. Watson Beck Júnior, Dr.  
Instituto Federal de Santa Catarina

Prof. Eduardo Carasek da Rocha Dr.  
Universidade Federal de Santa Catarina

Certificamos que esta é a versão original e final do trabalho de conclusão que foi julgado adequado para obtenção do título de Mestre em Química.



Coordenação do Programa de Pós-Graduação



Prof. Dr. Eduardo Sidinei Chaves  
Orientador



Prof. Dr. Ricardo Ferreira Affeldt  
Coorientador

Florianópolis, 2023.

Dedico esse trabalho a todos que ainda acreditam na ciência.

## AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a meus familiares que de alguma forma contribuíram e me apoiaram nessa maratona que foi o mestrado. Mãe, Samira, Arthur, Gabriela e Osvaldo sem o apoio de vocês, as conversas, os jogos e os filmes ruins eu não sei nem se teria conseguido concluir a graduação. Quero agradecer a meu companheiro Victor que está comigo desde o ensino médio, minha vida seria mais sem graça que suas piadinhas se eu não te tivesse por perto. Não posso esquecer dos meus irmãos de laboratório, em especial Elenice que sempre sabe das coisas, Bruno e seus infinitos “agora não chamo mais”, Renatinha com suas “bolas-fora”, Amauri com seus comentários precisos e Guilherme que nunca negou uma ajuda, mesmo quando estava na semana de provas. Aos que se tornaram os “peixinhos” da minha vida, Carol, Du e Renan, vocês estiveram do meu lado em todos os momentos, desde os experimentos falhos até as conversas de mesa de bar que resultam em pizza as 2h30 da manhã, muito obrigada. Aos meus inorgânicos preferidos Ana e Samuel, muito obrigada pelo apoio, pelas ideias, dicas e informações que vocês sempre têm, sem vocês o departamento não teria cor.

Gostaria de agradecer quem, de alguma forma, possibilitou que esse trabalho fosse realizado, Juliana, Thebny, prof. Maríllia, Marcel, Thalita, prof. Vivian, Maiara e prof. Vitali vocês sempre foram atenciosos e empáticos, estando disponíveis para ajudar. Quero agradecer também a CAPES pelo auxílio financeiro e ao Departamento de Química, minha segunda casa. Agradeço também ao Flaticon (<https://www.flaticon.com>) e ao Canva (<https://www.canva.com>) pelos ícones utilizados nas figuras. Por fim, gostaria de agradecer ao meu coorientador, professor Ricardo F. Affeldt por ajudar sempre que possível, fazer perguntas que eu não tinha parado para pensar a respeito e ter uma calma e paciência que parecem infinita. E ao meu orientador, professor Eduardo S. Chaves. Seus “só sucesso?”, apesar de normalmente serem respondidos com um “não” triste, me motivaram a chegar aqui. Sua dedicação aos estudantes, sempre disponível para tirar dúvidas, se desdobrando para ajudar seus muitos alunos me inspira a continuar na carreira acadêmica. Muito obrigada a todos que, seja de longe ou de perto, contribuíram para que esse trabalho fosse concluído.

Na vida, não existe nada a temer, mas a entender (CURIE. Marie, 1905).

## RESUMO

O aumento da industrialização tem impacto na geração de resíduos com compostos potencialmente tóxicos, podendo ocasionar contaminações, especialmente em corpos hídricos. Destinar adequadamente os resíduos produzidos, bem como monitorar áreas passíveis de contaminações é de importância econômica, ambiental e de saúde pública. A determinação de metais potencialmente tóxicos, como o mercúrio, pode ser realizada por diferentes métodos, muitos dos quais utilizam técnicas espectrométricas. Em geral, tais técnicas são consideradas de alto custo, além de requererem tratamentos prévios complexos para as amostras. Dessa forma, métodos alternativos, de baixo custo e simples para determinação de metais potencialmente tóxicos são importantes. A utilização de sensores colorimétricos baseados em nanopartículas de prata se mostrou um método que atende a essas demandas, com potencial para determinação de íons  $\text{Hg}^{2+}$ . Visando a produção ambientalmente amigável e simples de nanopartículas de prata (AgNPs), foi utilizada a abordagem biológica de preparo do material, onde foi utilizado extrato aquoso de folhas de *Schinus terebinthifolius* para a obtenção das AgNPs. Dessa forma, o objetivo do presente trabalho foi o preparo, caracterização e desenvolvimento de sensor colorimétrico baseados em nanopartículas de prata, produzidos com extrato de folhas de *S. terebinthifolius* (ST-AgNPs), para a determinação de mercúrio, em amostras ambientais. As ST-AgNPs se mostraram sensores colorimétricos seletivos a  $\text{Hg}^{2+}$  e  $\text{Fe}^{2+}$ , contudo, utilizando  $\text{H}_2\text{O}_2$  e 1,10-fenantrolina como agentes oxidante e mascarante, foi possível mascarar a presença  $\text{Fe}^{2+}$  de maneira simples, permitindo a minimização da interferência deste na quantificação de  $\text{Hg}^{2+}$ . Assim, foi possível construir uma curva de calibração para  $\text{Hg}^{2+}$ , com  $r^2$  de 0,9982 e limites de detecção ( $0,03 \text{ mg L}^{-1}$ ) e quantificação ( $0,10 \text{ mg L}^{-1}$ ). Foi possível utilizar o sensor desenvolvido para determinação de  $\text{Hg}^{2+}$  mesmo em matrizes complexas como fluido de perfuração, indicando que o uso das nanopartículas de prata é promissor.

**Palavras-chave:** Metais potencialmente tóxicos; Resíduos; Extrato biológico.

## ABSTRACT

The increase in industrialization has impact in the generation of wastes with potentially toxic compounds, which can cause contamination, especially in water bodies. The adequate disposal of the waste produced, as well as the monitoring of areas susceptible to contamination is of economic, environmental, and public health importance. The determination of potentially toxic metals, such as mercury, can be performed by different methods, which mainly include spectrometric techniques. In general, these techniques are considered expensive and require complex sample pretreatment. Thus, alternative, low-cost and simple methods for the determination of potentially toxic metals are of interest. The use of colorimetric sensors based on silver nanoparticles has shown to be a method that meets these demands, with potential for the determination of  $\text{Hg}^{2+}$  ions. Aiming at the environmentally friendly and simple production of silver nanoparticles, the biological approach of material preparation was used, where aqueous extract of *Schinus terebinthifolius* leaves was used to obtain them. Therefore, the objective of this work was the preparation, characterization and development of silver nanoparticle based colorimetric sensor, produced with extract of *S. terebinthifolius* leaves (ST-AgNPs), for the determination of mercury in environmental samples. The ST-AgNPs obtained proved to be colorimetric sensors selective to  $\text{Hg}^{2+}$  and  $\text{Fe}^{2+}$ , however, using  $\text{H}_2\text{O}_2$  and 1,10-phenanthroline as oxidizing and masking agents, it was possible to mask the presence of the interfering ion in a simple way. Thus, it was possible to construct a calibration curve for  $\text{Hg}^{2+}$ , with  $r^2$  of 0.9982 and limit of detection ( $0,03 \text{ mg L}^{-1}$ ) and quantification ( $0,10 \text{ mg L}^{-1}$ ). With prior sample preparation, it was possible to use the developed sensor for  $\text{Hg}^{2+}$  determination even in complex matrices such as drilling fluid, indicating that the use of silver nanoparticles is promising.

**Keywords:** Heavy metals; Waste; Biological extract

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Representação esquemática do ciclo do mercúrio em um sistema hídrico. ....	21
Figura 2 – Ilustração do processo de bioacumulação de íons $Hg^{2+}$ na cadeia alimentar.....	22
Figura 3 - Abordagens <i>Top-down</i> e <i>Bottom-up</i> utilizando métodos físicos, químicos e biológicos. ....	28
Figura 4 – Representação do processo para obtenção do extrato de folhas de <i>S. terebinthifolius</i> .....	32
Figura 5 – Representação da preparação das ST-AgNPs .....	34
Figura 6 - Cromatogramas de amostras de folhas frescas de <i>Schinus terebinthifolius</i> onde (a) folhas não hidrolisadas e (b) folhas hidrolisadas.....	41
Figura 7 - Espectro na região do visível do extrato de <i>S. terebinthifolius</i> , nitrato de prata ( $0,01 \text{ mol L}^{-1}$ ) e das ST-AgNPs .....	43
Figura 8 - Superfícies de resposta obtidas a partir do Box-Behnken para determinar condições ótimas de preparo de ST-AgNPs onde (a) Volume de extrato vs. Volume de NaOH, (b) Tempo vs. Volume de extrato, (c) Tempo vs. Volume NaOH.....	45
Figura 10 - Diâmetro médio e polidispersão de ST-AgNPs obtidas com diferentes modos de preparo.....	48
Figura 11 - Influência do pH na da banda de absorção das ST-AgNPs .....	50
Figura 12 - Respostas dos microrganismos a presença de extrato aquoso de folhas de <i>S. terebinthifolius</i> e ST-AgNPs. ....	51
Figura 13 - Mudanças de coloração do sistema com ST-AgNPs na presença de diferentes íons metálicos.....	54
Figura 14 - Variação da absorvância da banda de absorção das ST-AgNPs na presença de diferentes íons metálicos de mesma concentração ( $1,0 \text{ mg L}^{-1}$ ).....	55
Figura 15 - Variação de absorvância da banda de absorção das ST-AgNPs na presença de íons $Hg^{2+}$ e sua respectiva curva de calibração onde (a) Variação da absorvância máxima das ST-AgNPs em função da concentração de íons $Hg^{2+}$ ; (b) curva de calibração para $Hg^{2+}$ . ....	56
Figura 16 - Variação de absorvância máxima da banda plasmônica na presença de íons $Fe^{2+}$ e seu curva de calibração onde (a) Variação da absorvância máxima da banda plasmônica na presença de diferentes concentrações de $Fe^{2+}$ ; (b) Curva de calibração obtida pela variação da absorvância em função das concentrações de $Fe^{2+}$ .....	58
Figura 17 - Comparação entre espectros FTIR de amostras contendo extrato de folhas, nanopartículas e $Hg^{2+}$ .....	60

Figura 18 – Estabilidade das ST-AgNPs (a) absorvâncias entre 375 e 700 nm; (b) absorvância 411 nm de cada medição. ....	61
Figura 19 – Resposta do sensor colorimétrico de ST-AgNPs para detecção de Hg <sup>2+</sup> em função do tempo de armazenamento das ST-AgNPs .....	62
Figura 20 - Influência da temperatura de preparo na variação da banda de absorção na presença de Hg <sup>2+</sup> .....	63
Figura 21 - Gráfico de DLS para diâmetro médio de ST-AgNPs na presença e ausência de Hg <sup>2+</sup> . ....	65
Figura 23 - Imagens de TEM de ST-AgNPs na presença e ausência de íons Hg <sup>2+</sup> (1,0 mg L <sup>-1</sup> ) onde (a) e (b) sistema contendo somente 100 µL nanopartículas de prata, (c) e (d) sistema contendo 1 mg L <sup>-1</sup> de Hg <sup>2+</sup> e 100 µL nanopartículas de prata. ....	66
Figura 22 - Histograma de distribuição do diâmetro médio de nanopartículas de prata. ....	67
Figura 24 - Proposta de mecanismo do sensor colorimétrico baseado em ST-AgNPs para de determinação de Hg <sup>2+</sup> .....	68
Figura 25 – Influência de Fe <sup>2+</sup> e Fe <sup>3+</sup> na variação de absorvância da banda das ST-AgNPs e efeito da 1,10- fenantrolina como agente mascarante. ....	70
Figura 26 – Influência da fenantrolina na banda de absorção das ST-AgNPs onde (a) variação da absorvância da banda absorção e (b) curva de calibração para determinação de Hg <sup>2+</sup> na presença de 1,10-fenantrolina como mascarante para íons ferro.....	71

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Variáveis e níveis para otimização da preparação das nanopartículas de prata por meio da metodologia de superfície de resposta Box-Behnken.....	35
Tabela 2 - Microrganismos avaliados.....	36
Tabela 3 - Concentração de diferentes compostos em amostras de extrato de folhas de <i>S. terebinthifolius</i> .....	40
Tabela 4 - Variáveis codificadas e reais para otimização do preparo das nanopartículas de prata utilizando metodologia de superfície de resposta Box-Behnken .....	44
Tabela 5 - Pontos críticos gerados pelas superfícies de resposta .....	46
Tabela 6 - Resultados da ANOVA das superfícies de respostas geradas ( $r^2 = 0,94537$ ) .....	47
Tabela 7 – Influência dos modos de preparo das nanopartículas de prata na sua polidispersão e diâmetro hidratado, onde (a) diferença significativa e (b) diferença não significativa de acordo com ANOVA unifatorial .....	49
Tabela 8 - Relação microrganismos e halo de inibição para extrato de folhas de <i>S. terebinthifolius</i> e ST-AgNPs obtidas a partir deste extrato. ....	52
Tabela 9 - Relação entre redução do crescimento bacteriano proporcionado pelo extrato aquoso e as nanopartículas de prata. ....	53
Tabela 10 - Relação entre sensor colorimétrico, modificadores, analito e limites de detecção.....	57
Tabela 11 – Recuperação para determinação de $Hg^{2+}$ em amostras ambientais utilizando sensor colorimétrico baseado em ST-AgNPs. ....	69
Tabela 12 - Recuperação de $Hg^{2+}$ em amostras de água ultrapura na presença de diferentes concentrações de $Fe^{2+}$ após tratamento de amostra com 1,10-fenantrolina .....	72

## LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E ACRÔNIMOS

- AAS – Espectrometria de absorção atômica (do inglês *Atomic Absorption Spectrometry*)
- AgNP – Nanopartículas de Prata
- ANOVA – Análise de Variância (do inglês *Analysis of Variance*)
- ATCC – *American Type Culture Collection*
- CONAMA – Conselho Nacional do Meio Ambiente
- DLS – Espalhamento dinâmico de luz (do inglês *Dynamic Light Scattering*)
- DPPH – 2,2-difenil-1-picrilhidrazil
- FAAS - Espectrometria de absorção atômica com chama (do inglês *Flame atomic absorption spectrometry*)
- FTIR – Infravermelho por transformada de Fourier (do inglês *Fourier transform infrared*)
- GFAAS – Espectrometria de absorção atômica em forno de grafite (do inglês *Graphite furnace atomic absorption spectrometry*)
- HPLC-MS/MS – Cromatografia líquida de alta eficiência acoplada a espectrometria de massas (do inglês *High Performance Liquid Chromatography – Mass Spectrometry*)
- ICP – Plasma indutivamente acoplado (do inglês *Inductively Coupled Plasma*)
- ICP-AES - Espectroscopia de emissão atômica com plasma indutivamente acoplado (do inglês *Inductively Coupled Plasma Atomic Emission Spectroscopy*)
- ICP-MS – Espectroscopia de massas com plasma indutivamente acoplado (do inglês *Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry*)
- ICP-OES – Espectroscopia de emissão ótica com plasma indutivamente acoplado (do inglês *Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectroscopy*)
- LOD – Limite de detecção (do inglês *Limit of Detection*)
- LOQ – Limite de quantificação (do inglês *Limit of Quantification*)
- LSPR - Superfície localizada de ressonância de plasmon (do inglês *Localized surface plasmon resonance*)
- RSD – Desvio padrão relativo (do inglês *Relative Standard Deviation*)
- ST-AgNP – Nanopartículas de prata produzidas a partir de extrato de *S. terebinthifolius*
- TEM – Microscopia de transmissão eletrônica (do inglês *Transmission Electron Microscopy*)

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	<b>16</b>
<b>2</b>	<b>REVISÃO BIBLIOGRÁFICA</b> .....	<b>18</b>
2.1	METAIS POTENCIALMENTE TÓXICOS .....	18
2.2	MERCÚRIO .....	20
2.3	DETERMINAÇÃO DE METAIS .....	23
<b>2.3.1</b>	<b>Sensores colorimétricos</b> .....	<b>24</b>
2.4	NANOPARTÍCULAS .....	26
<b>2.4.1</b>	<b>Extrato de <i>Shinus terebinthifolius</i></b> .....	<b>28</b>
<b>3</b>	<b>OBJETIVOS</b> .....	<b>30</b>
3.1	OBJETIVO GERAL .....	30
3.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	30
<b>4</b>	<b>MATERIAIS E MÉTODOS</b> .....	<b>31</b>
4.1	INSTRUMENTAÇÃO .....	31
4.2	SOLUÇÕES E REAGENTES .....	31
4.3	PREPARO DO EXTRATO DE <i>SCHINUS TEREBINTHIFOLIUS</i> .....	32
4.4	CARACTERIZAÇÃO DO EXTRATO DE <i>SCHINUS TEREBINTHIFOLIUS</i> .....	32
<b>4.4.1</b>	<b>DPPH e Fenólicos Totais</b> .....	<b>32</b>
<b>4.4.2</b>	<b>Caracterização da composição das folhas via HPLC-MS</b> .....	<b>33</b>
4.5	CARACTERIZAÇÃO E PREPARO DE NANOPARTÍCULAS DE PRATA .....	34
<b>4.5.1</b>	<b>Preparo de nanopartículas de prata</b> .....	<b>34</b>
<b>4.5.2</b>	<b>Otimização das condições para preparação das nanopartículas de prata</b> .....	<b>34</b>
<b>4.5.3</b>	<b>Características físicas e químicas</b> .....	<b>35</b>
<b>4.5.4</b>	<b>Atividade Biológica</b> .....	<b>35</b>
4.6	SENSORES COLORIMÉTRICOS .....	37
<b>4.6.1</b>	<b>Sensibilidade e seletividade das de ST-AgNPs ao Hg<sup>2+</sup></b> .....	<b>37</b>
<b>4.6.2</b>	<b>Aplicação do sensor em amostras ambientais</b> .....	<b>37</b>
<b>5</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	<b>38</b>
5.1	CARACTERIZAÇÃO DO EXTRATO .....	38
<b>5.1.1</b>	<b>Atividade antioxidante e compostos fenólicos</b> .....	<b>38</b>
<b>5.1.2</b>	<b>Determinação de compostos fenólicos via HPLC-MS/MS</b> .....	<b>39</b>
5.2	CARACTERIZAÇÃO DAS NANOPARTÍCULAS DE PRATA .....	42
<b>5.2.1</b>	<b>Espectrofotometria na região do ultravioleta-visível</b> .....	<b>42</b>

5.2.2	Otimização do preparo de nanopartículas .....	44
5.2.3	Influência do preparo das nanopartículas: diâmetro hidratado e polidispersão. .....	47
5.2.4	Influência do pH .....	50
5.2.5	Atividade antibacteriana.....	51
5.3	SENSOR COLORIMÉTRICO .....	54
5.3.1	Variação de absorvância da banda de absorção.....	54
5.3.2	Caracterização por FTIR.....	59
5.3.3	Estabilidade das ST-AgNPs e da resposta como sensor colorimétrico .....	61
5.3.4	Influência da temperatura de preparo das ST-AgNPs.....	63
5.3.5	Potencial-Zeta .....	64
5.3.6	Influência do Hg <sup>2+</sup> no diâmetro hidratado ST-AgNPs .....	64
5.3.7	Microscopia de Transmissão eletrônica .....	65
5.4	DETERMINAÇÃO DE Hg <sup>2+</sup> EM AMOSTRAS AMBIENTAIS .....	68
5.4.1	Verificação de exatidão .....	68
6	CONCLUSÃO.....	72
	REFERÊNCIAS.....	73

## INTRODUÇÃO

Emissões de metais potencialmente tóxicos para o meio ambiente podem ter origens de diferentes atividades antropogênicas. O setor automobilístico, agrícola e especialmente o industrial são exemplos de fontes de emissão que podem levar a contaminação de corpos hídricos. O estilo de vida da sociedade do século XXI e o desenvolvimento industrial, aumentou a demanda dos diversos produtos. O aumento da demanda de produtos, leva ao aumento na geração de resíduos industriais, os quais podem apresentar em sua composição metais potencialmente tóxicos. Dessa forma, a contaminação de sistemas hídricos está intrinsecamente relacionada com a emissão dos metais. Assim, é de importância ambiental, econômica e de saúde pública o manejo adequado dos resíduos e monitoramento de possíveis áreas afetadas.

A indústria de curtume, de concreto, metalúrgica e de óleo e gás, são exemplos de setores industriais responsáveis pela emissão de diferentes metais potencialmente tóxicos, havendo potencial risco de contaminação de corpos hídricos caso a gestão dos resíduos não seja adequada. A presença destes metais oferece riscos a curto e longo prazo, podendo causar morbidades imediatas ou influenciar em doenças futuras devido a sua capacidade de bioacumulação. Entre os metais potencialmente tóxicos que podem compor os resíduos, o mercúrio (Hg) é um dos metais de maior importância clínica e ambiental. A contaminação de Hg em corpos hídricos pode causar diversos problemas à saúde humana, atingindo principalmente crianças e gestantes. Neste contexto, o Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA) exige, por parte do produtor dos resíduos, o conhecimento de sua composição média, visando sua destinação adequada, além do monitoramento de áreas passíveis de contaminação. Dessa forma, a determinação da concentração de metais se faz necessária para a avaliação da composição química dos resíduos e estudos de monitoramento ambiental. Assim, são encontradas na literatura diferentes técnicas para a determinação de metais potencialmente tóxicos, onde se pode citar as eletroanalíticas e espectrométricas.

Dentre as diversas técnicas espectrométricas utilizadas, pode-se citar a espectrometria de absorção atômica (AAS) utilizando forno de grafite (GFAAS) ou chama (FAAS), além das espectrometrias com plasma indutivamente acoplado (ICP), incluindo as baseadas na emissão óptica (ICP OES) e de massa (ICP-MS). Apesar destas técnicas serem amplamente empregadas, apresentando vantagens como baixos limites de detecção, possibilidade da análise de matrizes complexas (após tratamento adequado) e serem consideradas análises multielementares, há limitações que restringem a sua ampla utilização na rotina de análises laboratoriais. O principal fator limitante do uso das técnicas citadas é o custo da instrumentação, além da necessidade de

tratamento adequado das amostras para a análise. Dessa forma, alternativas mais simples e de baixo custo para a determinação de metais potencialmente tóxicos são mais atrativas.

É possível desenvolver técnicas que atendam as características citadas utilizando sensores colorimétricos baseados em nanopartículas. Nos últimos anos, diversos sensores colorimétricos, com baixos limites de detecção, para detecção de metais foram propostos. Adicionalmente, a simplicidade, o baixo custo e a geração mínima de resíduos na síntese biológica de nanopartículas tem se mostrado uma solução promissora para contornar as limitações encontradas nos métodos convencionais.

A síntese biológica de nanopartículas baseia-se na utilização de extratos de plantas como agentes redutores e estabilizantes. As propriedades físicas e químicas dos produtos gerados dependem da escolha das etapas empregadas durante a síntese, podendo variar conforme o tipo de extrato e metal utilizados. A proporção entre os reagentes e o tempo de aquecimento também podem influenciar nas características das nanopartículas produzidas. A *Schinus terebinthifolius*, árvore nativa do Brasil com alta distribuição geográfica, produz folhas que apresentam atividade antioxidante pronunciada. Dessa forma, a espécie é uma alternativa para fornecer um extrato suficientemente redutor e estável para a produção de nanopartículas.

Assim, considerando as limitações das técnicas convencionais empregadas para a determinação de Hg em amostras de interesse ambiental, além da possibilidade de utilização de sensores colorimétricos baseados em nanopartículas, espera-se que com a otimização dos parâmetros de síntese, seja produzida maior quantidade de nanopartículas de prata (AgNPs) com parâmetros físicos e químicos adequados para aplicação como sensor colorimétrico. Neste caso, caracterização química, física e biológica é de suma importância para compreender melhor as nanopartículas produzidas e permitir sua aplicação como sensores colorimétricos, sendo capazes de detectar mercúrio em baixas concentrações em amostras complexas de resíduos da indústria de óleo e gás. Dessa forma, as nanopartículas de prata produzidas a partir de extrato de *S. terebinthifolius* (ST-AgNPs) tem potencial para proporcionar limites de detecção e quantificação adequados para sua utilização para determinação de íons  $\text{Hg}^{2+}$  em matrizes de interesse ambiental.

## 1 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 1.1 METAIS POTENCIALMENTE TÓXICOS

Metais potencialmente tóxicos são considerados estáveis as condições ambientais, sendo difícil o processo de degradação dos mesmos. Alguns dos metais, como cobre, são essenciais para o corpo humano, contudo, em concentrações acima das consideradas normais para o funcionamento do metabolismo, podem desenvolver atividade toxicológica (GUPTA et al., 2012). Emissões de metais provindas de atividades antropogênicas são consideradas uma das principais fontes de preocupação global. O risco eminente de contaminações de ecossistemas hídricos atrelados as emissões, faz com que o tema seja de interesse ambiental e de saúde pública (ADRIANO, 1986; ZHANG et al., 2019). Contaminações destes metais podem ser resultado de diferentes atividades antropogênicas como, por exemplo, o uso de automóveis. Emissões de metais relacionadas ao tráfego, em geral, são decorrentes do uso de automóveis que carecem de escapamento adequado. A combustão da gasolina, que pode conter níveis de chumbo, torna a poeira de estradas urbanas rica no metal, resultando na contaminação da atmosfera, do solo e de corpos hídricos. Nas áreas urbanas, as emissões de metais potencialmente tóxicos oriundas de automóveis podem ser associadas a pontos críticos de contaminação por metais (PADOAN et al., 2018).

Além do tráfego, é possível que atividades agrícolas sejam responsáveis por emissões de sais metálicos, resultando na contaminação de sistemas hídricos. O uso de sais que possuem metais em suas formas não reativas, quando entram em contato com um sistema hídrico, podem ser convertidos em suas formas reativas, podendo afetar o ecossistema local (SAHU; BASTI, 2021). Além disso, acidentes ambientais podem ser importantes fontes de contaminações. Na China, entre 2005 e 2018, ocorreram 1327 acidentes envolvendo contaminação de metais em corpos hídricos, o equivalente a 52% do número total de emergências ambientais (LIU et al., 2021). A contaminação acidental por cádmio no rio Longjiang em 2012, por cádmio e tálio no rio Hejiang em 2013 e por antimônio na província de Gansu em 2015 são exemplos de acidentes que podem ocasionar a presença de metais potencialmente tóxicos em corpos hídricos (LAN et al., 2017; ZHAO et al., 2018; ZHUO et al., 2022).

A principal categoria de atividade antropológica envolvida na emissão de metais potencialmente tóxicos são as indústrias. Em decorrência do desenvolvimento industrial, houve a intensificação de problemas de cunho ambiental com relação aos metais (BARUAH et al., 2021; HUANG et al., 2019). A geração de resíduos que possuem metais potencialmente tóxicos, ocasionada pelo setor industrial, é uma questão que possui importância ambiental, econômica

e de saúde pública, uma vez que seu manejo seja inadequado pode causar transtornos nas três esferas.

Categorias industriais variadas podem resultar na produção de resíduos com composições distintas. Na indústria de curtume, os efluentes costumam tender à formação de resíduos líquidos e sólidos, apresentando um desafio ambiental importante. Após o processo de curtimento do couro, são gerados efluentes orgânicos ricos em metais potencialmente tóxicos (PAL et al., 2020). Em geral, são utilizados principalmente sais a base de Cr III, o que resulta na geração de resíduos ricos em diferentes espécies do elemento (ORUKO et al., 2020). No setor metalúrgico, responsável pela transformação da matéria-prima mineral em diferentes produtos, também gera resíduos contendo metais potencialmente tóxicos. Os resíduos sólidos gerados podem variar desde lodo, cinzas geradas da incineração de resíduos sólidos urbanos, resíduos do processo de fundição de chumbo-zinco e resíduo de manganês eletrolítico (BISWAL; ZHU; YANG, 2020; LAN et al., 2022; OPISO et al., 2021; WANG et al., 2020; ZHAN et al., 2019). Na indústria de concreto ocorre a geração de diversos resíduos, incluindo a emissão de mercúrio. No ano de 2018, a produção de cimento foi responsável por cerca de 173 toneladas de Hg, o equivalente a 11% das emissões globais de Hg (UNEP, 2019).

A indústria de óleo e gás gera diversos tipos de resíduos durante o processo de exploração, extração, tratamento, transporte e armazenamento do petróleo. A composição da matriz dos resíduos gerados é dependente das características geoquímicas que originaram o petróleo extraído, assim como o processo de extração e refino adotado pela indústria (CHEN et al., 2019; CORREIA et al., 2022; GUIMARÃES et al., 2016). A indústria petroquímica gera resíduos aquosos, como o fluido de perfuração, que apresenta potencial toxicidade (CAENN; DARLEY; GRAY, 2017; LI et al., 2022). A composição destes fluidos também pode variar de acordo com as características da região onde deseja-se criar um novo poço de extração. Rotineiramente tais resíduos são submetidos a ensaios laboratoriais, a fim de determinar suas periculosidades, baseando-se em sua composição química (ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS, 2004; LIU et al., 2018).

A contaminação de corpos hídricos ocasionada pelo manejo inadequado de resíduos industriais pode causar impactos negativos em organismos vivos que compõem o ecossistema (DUBEY et al., 2018; RAHMAN; SINGH, 2019). Íons como  $Pb^{2+}$ ,  $Zn^{2+}$ ,  $Mn^{2+}$ ,  $Cu^{2+}$ ,  $Cd^{2+}$ ,  $Cr^{6+}$  e  $Hg^{2+}$  são comumente utilizados em diferentes setores industriais. A contaminação de corpos hídricos por esses íons pode diminuir a taxa de crescimento populacional de animais e plantas (DUBEY et al., 2018). Além disso, íons metálicos distintos podem causar diferentes morbidades, dependendo de fatores como a dosagem ingerida, a rota de exposição e a espécie

do metal. Fatores individuais também podem influenciar, como a faixa etária do indivíduo, gênero, herança genética e o status nutricional (TCHOUNWOU et al., 2012). Para o setor industrial, a composição dos resíduos gerados é estabelecida pelo Art. 21, inciso 4º da resolução CONAMA nº 362, de 23 de junho de 2002, onde é exigido a indicação da composição química média dos resíduos gerados (CONAMA, 2002). Além disso, é de responsabilidade do produtor identificar, remediar e/ou monitorar a produção de resíduos, além de monitorar os sistemas hídricos que possuem potencial risco de contaminação devido as emissões (SOUZA, 2014). Dessa forma, é importante determinar a composição da matriz e avaliação de corpos hídricos locais, a fim de garantir a identificação e tratamento adequado dos resíduos, prevenindo potenciais impactos ambientais e à saúde pública. Dentre os diversos metais que possuem potencial de toxicidade para organismos vivos, o Hg é um dos que possui maior importância. Segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS) (2020), o Hg está entre os 10 compostos químicos que mais afetam a saúde pública.

## 1.2 MERCÚRIO

O Hg pode ser encontrado no ambiente em três valências,  $\text{Hg}^0$ ,  $\text{Hg}^+$  e  $\text{Hg}^{2+}$  em níveis traço ( $< 1,0 \mu\text{g g}^{-1}$ ) (HAMZA et al., 2010; NIELSEN, 2014). Em geral, o Hg pode ser encontrado em concentrações residuais em rios, lagos e águas costeiras próximas a regiões industrializadas, sendo um parâmetro que indica poluição industrial (EL-SHWINIY et al., 2022). Quando há a contaminação de corpos hídricos por Hg, o metal não se mantém apenas no ambiente aquático, podendo também ocorrer sua transferência para o solo e a atmosfera, formando o denominado ciclo do mercúrio (PAVITHRA et al., 2023)

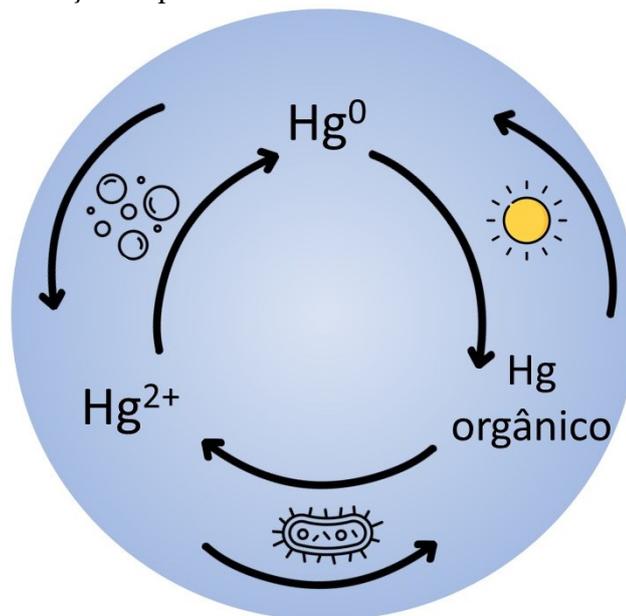
Durante o ciclo do Hg, há reações que podem resultar na transformação do metal para diferentes estados de valência no ambiente. A oxidação do  $\text{Hg}^0$ , passando por  $\text{Hg}^+$ , chegando até  $\text{Hg}^{2+}$ , pode ocorrer de diferentes maneiras, indo desde sua reação com nitritos, nitratos, fosfatos, hidróxidos e até com a luz solar, promovendo a foto-oxidação. Contudo, o principal agente oxidante em corpos hídricos é o oxigênio dissolvido na água. A taxa de oxidação do Hg depende principalmente dos componentes do sistema, incluindo a quantidade de matéria orgânica dissolvida no mesmo, onde águas com maior presença de matéria orgânica possuem uma menor taxa de oxidação do metal (HE et al., 2014).

Os íons  $\text{Hg}^{2+}$  do sistema podem passar pelo processo de redução ou pelo processo de metilação. Na redução do  $\text{Hg}^{2+}$  até  $\text{Hg}^0$ , o principal mecanismo é atrelado a presença de luz solar em águas superficiais, ocasionando a foto-redução, ou através da redução ocasionada por bactérias presentes no sistema (ZHANG et al., 2012). O processo de metilação é realizado,

principalmente, por bactérias redutoras de sulfato. Assim, a presença das bactérias tem influência direta na concentração de  $\text{CH}_3\text{Hg}^+$  do sistema (ACHÁ; HINTELMANN; PABÓN, 2012; COMPEAU; BARTHA, 1985). A transformação da forma inorgânica para a forma orgânica do metal resulta no aumento de sua toxicidade (WHO, 2021).

Uma vez que ocorre a metilação dos íons, é possível ocorrer ainda a desmetilação, onde o íon  $\text{CH}_3\text{Hg}^+$  se transforma novamente em  $\text{Hg}^{2+}$  em um processo reverso à metilação. A desmetilação ocorre de maneira paralela a metilação, sendo afetado principalmente pela biodisponibilidade das espécies de Hg no sistema, uma vez que o processo é reversível e tende ao equilíbrio químico (KLAPSTEIN et al., 2017). Além da desmetilação, por meio da luz do sol em águas superficiais, é possível ocorrer a degradação de espécies orgânicas do metal em  $\text{Hg}^0$  (FLECK et al., 2014). A Figura 1 ilustra o ciclo do Hg provindo da contaminação de corpos hídricos.

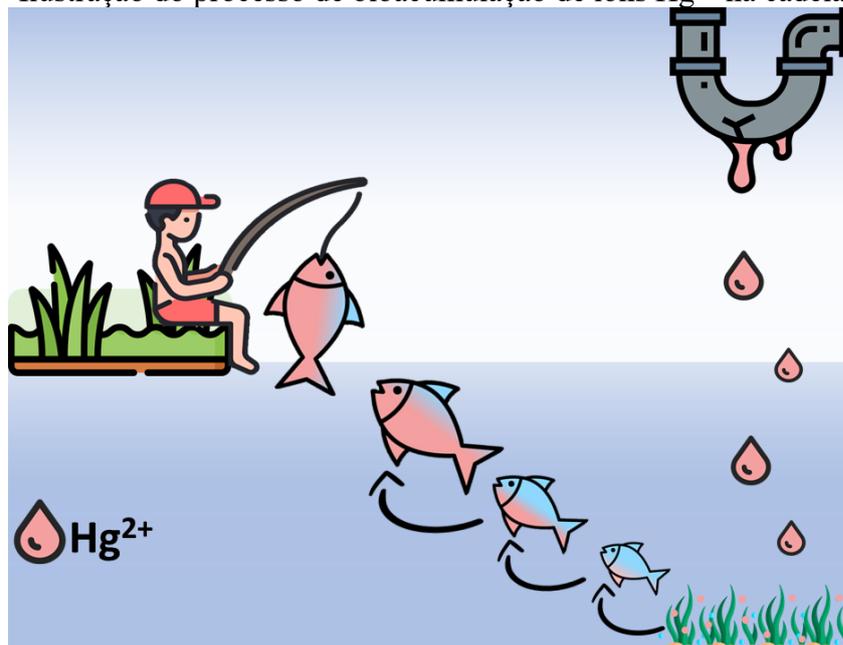
Figura 1 – Representação esquemática do ciclo do mercúrio em um sistema hídrico.



Fonte: a autora (2023).

A principal problemática envolvendo a contaminação de corpos hídricos por Hg é em relação à capacidade que o metal possui de bioacumular em organismos vivos. O Hg pode ser introduzido na cadeia alimentar, passando de peixes menores até peixes predadores como tubarões, chegando aos seres humanos (SHAH et al., 2012; WHO, 2021). A bioacumulação é o processo pelo qual a concentração de um composto químico em um organismo vivo aumenta ao longo do tempo, devido a ingestão de alimentos contaminados (SHARMA; KANDASUBRAMANIAN, 2020). A Figura 2 ilustra o processo de bioacumulação do íon  $\text{Hg}^{2+}$  na cadeia alimentar.

Figura 2 – Ilustração do processo de bioacumulação de íons  $Hg^{2+}$  na cadeia alimentar.



Fonte: a autora (2023).

O consumo de peixes contaminados pela população é preocupante, principalmente, em relação a crianças e gestantes. Em crianças foi relatado a condição de acrodinia, conhecida como “doença rosa”. Os sintomas desta doença, geralmente, envolvem a manifestação de manchas doloridas de coloração rosa nas extremidades do corpo, acompanhadas de coceira intensa, insônia, irritabilidade e sensibilidade a exposição solar. Em gestantes, o alto consumo de metilmercúrio pode causar problemas no desenvolvimento neurológico do feto (WHO, 2021). Em adultos, a exposição prolongada pode causar insuficiência renal, leucemia, doenças neurológicas e síndrome de Hunter-Russel (EL-SHWINIY et al., 2022). Dessa forma, é evidente a preocupação com possíveis contaminações causadas pelo Hg, tornando importante a determinação deste em amostras ambientais, como águas e resíduos industriais.

As emissões antropogênicas de Hg se mostram em uma crescente, acompanhando o desenvolvimento industrial. Em diferentes setores industriais se é registrada a emissão de Hg, onde estima-se que no ano de 2015 foram emitidos aproximadamente 20% a mais do metal que no ano de 2010. Em 2018, o setor metalúrgico foi responsável por aproximadamente 2% das emissões globais de Hg, o setor de carvão por 21% e a indústria de óleo e gás por cerca de 24% das emissões (UNEP, 2019).

A grande porcentagem de emissão de Hg, associada a indústria de óleo e gás, se deve à ocorrência natural do metal nos reservatórios de petróleo bruto e gás petrolífero. Os setores *offshore* de extração de petróleo tem especial interesse com relação a contaminantes dessa natureza, dado o risco de vazamento e contaminação marítima (WILHELM; BLOOM, 2000).

Assim, a contaminação por Hg é uma problemática principalmente ambiental e de saúde pública, onde sua determinação é de fundamental importância para monitoramento do nível de contaminação dos resíduos, a fim de promover sua destinação adequada, evitando possíveis impactos ambientais.

### 1.3 DETERMINAÇÃO DE METAIS

Conforme a problemática causada por metais potencialmente tóxicos, estudos que utilizam diferentes técnicas de determinação de metais têm ganhado mais destaque. Com o intuito de avaliar a eficiência e a adequação do manejo dos resíduos gerados, além do monitoramento de corpos hídricos passíveis de contaminações, pode-se encontrar trabalhos que avaliam a composição química dos resíduos de matrizes aquosas. Técnicas utilizando a eletroquímica estão sendo exploradas, no trabalho realizado por Jeromiyas e colaboradores (2019), onde os autores desenvolveram um sensor eletroquímico modificado com grafeno e nanopartículas de bismuto para determinação de  $\text{Hg}^{2+}$  em amostras ambientais aquosas.

Porém, as técnicas espectrométricas configuram entre as principais técnicas utilizadas para a determinação de metais potencialmente tóxicos em diferentes amostras. No trabalho realizado por Ramcander e colaboradores (2015), os autores utilizaram espectrometria de absorção atômica (AAS) para determinar Pb, Cd, Cu, Cr, Fe e Zn em amostras de águas subterrâneas de áreas industrializadas em quatro cidades diferentes do estado de Telangana – Índia. Baghaei e colaboradores (2023), realizaram a determinação de metais potencialmente tóxicos em matrizes aquosas. Os autores coletaram águas residuais em diferentes regiões da cidade de Tabriz – Irã, incluindo amostras de águas residuais de indústrias de couro, petroquímicas e de água tratada de residências da região. Neste trabalho foi utilizado solvente eutético funcionalizado com nanopartículas de cobalto e ferrita para extrair e determinar  $\text{Zn}^{2+}$ ,  $\text{Ni}^{2+}$ ,  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Pb}^{2+}$  e  $\text{Hg}^{2+}$  por meio da espectrometria de absorção ótica com plasma indutivamente acoplado (ICP OES).

A determinação de metais potencialmente tóxicos não se limita somente à análise de água, mas também a produtos e resíduos industriais. Leal e colaboradores (2022) utilizaram a extração por quebra de emulsão de suplementos alimentares oleosos para determinar Cd e Pb via espectrometria de absorção atômica em forno de grafite (GFAAS). No trabalho desenvolvido por Vievard e colaboradores (2022), os autores apontaram preocupação na produção de vinho de palma clandestinos, que podem conter em sua composição metais potencialmente tóxicos devido ao uso de águas contaminadas. Dessa forma, os autores utilizaram ICP OES para determinação de P e Ru e espectrômetro de massa com plasma

indutivamente acoplado (ICP-MS) para determinação de Li, B, Cr, Fe, Mn, Co, Ni, Cu, Zn, Sr, Mo, Ag, Cd, Sn, Ba, Pb e Bi em amostras de vinho de palma produzidos em quatro diferentes cidades da Costa do Marfim. Já no trabalho produzido por Zhang e colaboradores (2020), os autores utilizaram lixiviação assistida por ultrassom para determinação de vanádio em amostras de resíduos oleosos da indústria de óleo e gás, utilizando ICP OES.

As técnicas espectrométricas comumente empregadas para a determinação de metais possuem baixos limites de detecção, podendo alcançar a ordem de  $\text{ng L}^{-1}$ . Além disso, a possibilidade da determinação de diferentes analitos em uma mesma análise faz com que as técnicas sejam consideradas multielementares (OZBEK; AKMAN, 2013). Apesar das vantagens que as técnicas citadas possuem, o alto custo instrumental e de manutenção, além da necessidade do tratamento prévio de amostras, principalmente de matrizes complexas como os resíduos oleosos e/ou sólidos, são as principais limitações destas técnicas. Assim, o desenvolvimento de métodos mais simples e menos custosos para análise elementar das amostras, principalmente com relação à etapa de preparo de amostra é fundamental (HUANG et al., 2011; SHIRALIPOUR; LARKI, 2017). Uma alternativa que vem ganhando destaque na literatura é o uso de nanopartículas que atuam como sensores colorimétricos seletivos a determinados analitos.

### 1.3.1 Sensores colorimétricos

Sensores colorimétricos podem ser obtidos por diferentes materiais, contudo, seu funcionamento é baseado no mesmo princípio de, na presença do analito, haver mudança da coloração do sistema. Em geral, a alteração visual pode ser atrelada a interações analito/sensor do tipo Van der Waals, ligação de hidrogênio e adsorção física ou química (JIA et al., 2023). A utilização de sensores baseados em nanopartículas que mudam de cor na presença de analitos vem se mostrando uma alternativa de custo reduzido, de fácil operação e que não necessita de tratamentos laboriosos das amostras. A mudança de cor pode ocorrer por diferentes mecanismos: anti-agregação de nanopartículas, funcionalização e ligação pelo analito e agregação de nanopartículas. O mecanismo geralmente relatado é o de agregação, onde nanopartículas metálicas se agregam na presença do analito, resultando na alteração da absorvância máxima de sua banda plasmônica (ZHANG et al., 2016). É importante destacar a necessidade de otimização das condições de análise, uma vez que a resposta do sensor colorimétrico pode ser influenciada por fatores como pH, temperatura e força iônica (BURNS et al., 2006; CHEN et al., 2008).

O uso de nanopartículas de prata com objetivo de determinar seletivamente diferentes analitos vem sendo amplamente explorado. No trabalho de Bhagat e colaboradores (2021), os autores produziram sensores colorimétricos sensíveis a  $\text{Hg}^{2+}$  baseados em AgNPs. As nanopartículas foram produzidas de maneira biológica, a partir de extrato aquoso de *Citrus japonica*. A dispersão, na presença de  $\text{Hg}^{2+}$ , tinha sua coloração alterada de amarela para vermelha, indicando a possibilidade de detecção do analito em soluções aquosas. O limite de detecção reportado pelos autores para  $\text{Hg}^{2+}$  foi de  $9 \times 10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$ .

Em pesquisa realizada por Gan e colaboradores (2020), os autores desenvolveram um sensor colorimétrico baseado em nanopartículas de Au, produzidas a partir de citrato de sódio sob aquecimento, para detecção de  $\text{Cd}^{2+}$  utilizando *smartphone* como instrumento de detecção da mudança de cor do sistema. A dispersão rosa formada por nanopartículas de Au perde a coloração conforme há o aumento na concentração de íons  $\text{Cd}^{2+}$ . Para avaliação da exatidão do sensor ao  $\text{Cd}^{2+}$ , os autores utilizaram o teste de recuperação em amostras de água tratada, o limite de detecção obtido foi de  $1 \times 10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$ .

Outro exemplo de sensor colorimétrico baseado em nanopartículas foi proposto por Li e colaboradores (2022) neste, foi produzida uma dispersão com nanopartículas de Au utilizando óxido de Au, dimetilsulfóxido e incidência de radiação ultravioleta. O material atua como sensor colorimétrico na presença de íons  $\text{Pb}^{2+}$ , onde a cor do sistema se alterou de vermelho para azul, o limite de detecção obtido foi de  $5 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ . Para Laghari e colaboradores (2019), nanopartículas de Cu, produzidas a partir de hidrazina e ranolazina, atuaram como sensores para As, alterando sua coloração de vermelho para preto, com limite de detecção de  $1,6 \times 10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$ .

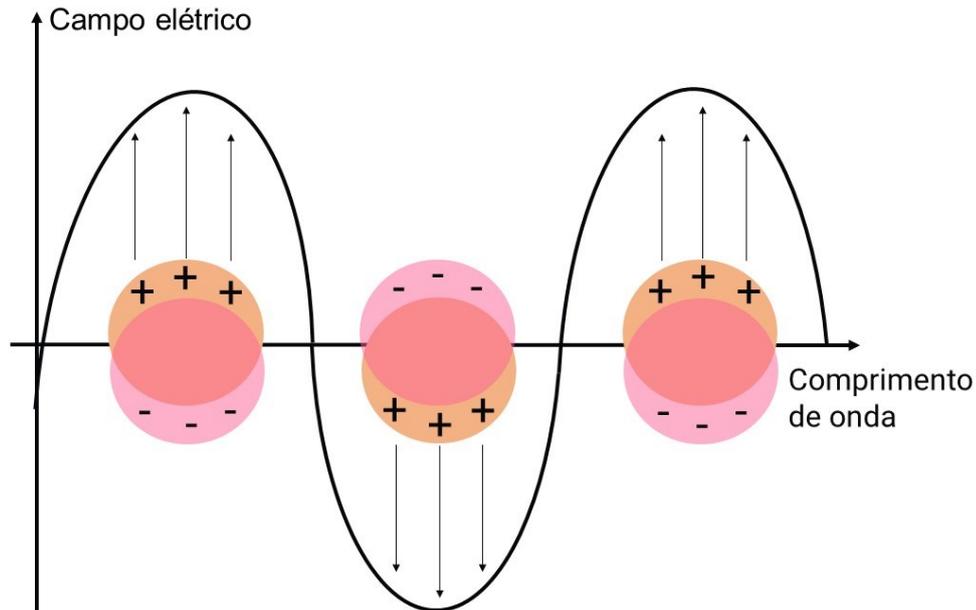
Dessa forma, é possível constatar que há uma grande variedade de tipos de nanopartículas metálicas que podem ser utilizadas como sensor colorimétrico. Fatores como limite de detecção, faixa de trabalho e seletividade dos sensores podem ser alterados conforme as características do material escolhido, dos reagentes utilizados no seu preparo, além do próprio processo de produção. Parâmetros como valores de LOD e LOQ devem estar na faixa de ppm para quantificação adequada de determinados resíduos. O uso de sensores colorimétricos baseados em nanopartículas altamente seletivas pode ser positivo quando se trata de matrizes ambientais, como amostras de água e os resíduos produzidos pela indústria de óleo e gás.

## 1.4 NANOPARTÍCULAS

O termo “nanopartículas” é utilizado para referir-se a materiais com diâmetro na escala nanométrica. Há uma diversidade de nanopartículas, abrindo uma vasta gama de aplicações em diferentes áreas da ciência. De acordo com Shnoudeh e colaboradores (2019), é possível classificar o material nanoparticulado em duas grandes categorias: nanopartículas poliméricas e nanopartículas inorgânicas. As nanopartículas poliméricas podem ser classificadas como nanopartículas lipídicas, lipossomos, nanotubos e dendrímeros. O emprego desse material pode variar desde a produção de capacitores, catalisadores para reações específicas, nanocarreadores para tratamento de doenças dermatológicas ou como modificadores da farmacocinética de drogas para tratamentos neurológicos (CORREIA et al., 2022; PARVEEN et al., 2023; SADJADI; MALMIR; HERAVI, 2019; XIE et al., 2019). Já as nanopartículas inorgânicas podem ser classificadas como nanopartículas metálicas, de óxidos metálicos e *quantum dots*. Há uma vasta gama de aplicações para essa categoria de material nanométrico, incluindo catálise, ação citotóxica e produção de sensores colorimétricos (KHAN; FULEKAR, 2016; KIMBER et al., 2018; SINGH et al., 2019).

Uma característica das nanopartículas metálicas amplamente utilizada é a sua forte interação com a radiação eletromagnética, devido à presença da superfície localizada de ressonância de plasmon (LSPR). A LSPR pode ser definida como uma superfície onde há a transição livre de elétrons presentes na camada de valência do metal. Em especial nanopartículas de metais nobres como Au, Ag e Cu tem uma interação mais pronunciada com a radiação eletromagnética em comprimentos de onda entre o espectro visível e o infravermelho (LANGER; NOVIKOV; LIZ-MARZÁN, 2015). Uma vez que a nanopartícula metálica é irradiada por uma onda eletromagnética, os elétrons da superfície oscilam semelhantemente a onda, o que gera dipolos oscilantes na partícula com frequência definida pelo comprimento de onda incidente (Figura 3) (KELLY et al., 2003; TOMA et al., 2010).

Figura 3 - Interação dos elétrons de superfície das nanopartículas metálicas com campo eletromagnético

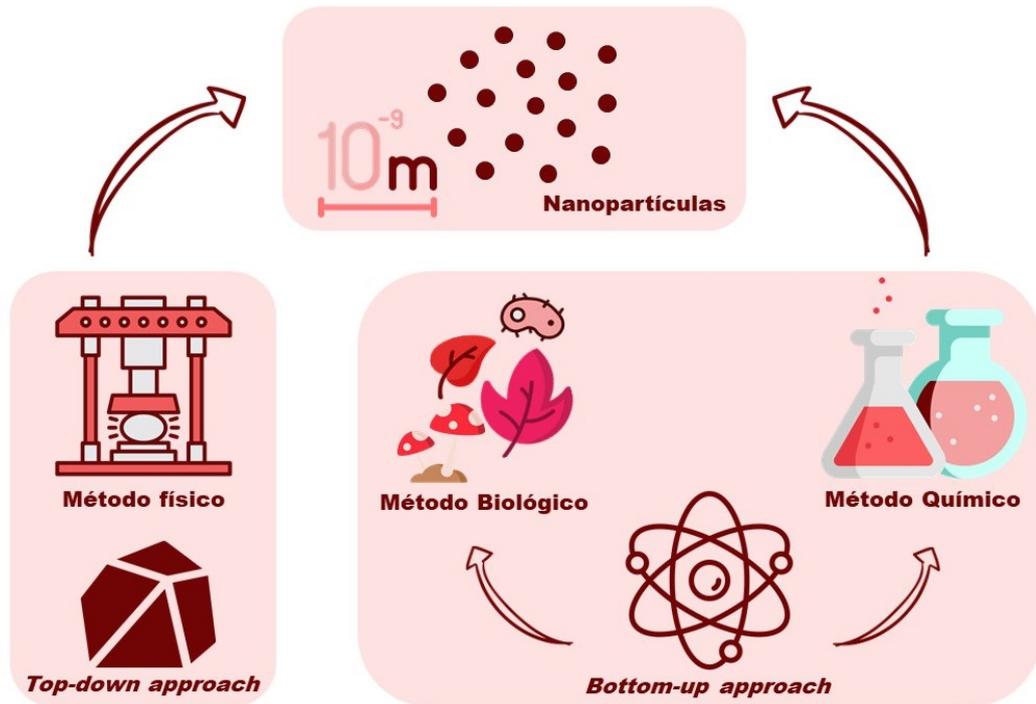


Fonte: adaptado de Toma (2010)

Fatores como a densidade eletrônica da superfície e a morfologia das nanopartículas metálicas, além do material que as compões influenciam na frequência de oscilação dos dipolos. Assim, a banda de absorção das nanopartículas pode variar conforme há alterações no sistema que impactam tais fatores. Dessa forma, é possível utilizar equipamentos laboratoriais considerados simples e rotineiros, como o espectrofotômetro na região do ultravioleta-visível, para determinação de analitos a partir dos sensores colorimétricos produzidos. o que permite utilizar esse tipo de nanopartícula como sensor

Há duas abordagens para se obter nanopartículas, a primeira é chamada de “*Top-down approach*”, que parte de um material macroscópico que é modificado até atingir a escala nanométrica através de processos físicos como a moagem mecânica, corrosão química e ablação térmica ou a laser. A segunda abordagem para obtenção de nanopartículas é a “*Bottom-up approach*”, onde se utiliza métodos químicos ou biológicos. Dentre os métodos químicos pode se citar a precipitação eletroquímica, pirólise e condensação molecular. Dentre os métodos biológicos tem-se a síntese utilizando bactérias, fungos ou extrato de plantas, para agrupar ou reorganizar átomos até a formação de nanomateriais (SHNOUDEH et al., 2019). A Figura 4 relaciona as abordagens *Top-down* e *Bottom-up* com seus usuais métodos de obtenção.

Figura 4 - Abordagens *Top-down* e *Bottom-up* utilizando métodos físicos, químicos e biológicos.



Fonte: a autora (2023).

Em geral, métodos físicos podem necessitar de grandes demandas energéticas para haver a transformação do material macroscópico em nanoscópico. Métodos químicos empregam solventes orgânicos para a produção de nanopartículas, o que pode gerar resíduos tóxicos. Por fim, dentre a diversidade de métodos considerados biológicos, há os que utilizam extratos de plantas como agente redutor e estabilizante das nanopartículas, sem que haja grande geração de resíduos tóxicos (MIE et al., 2013). Em função da vantagem ambiental do método biológico, há cada vez mais interesse nessa categoria de síntese, onde se mostra vantajoso o uso de extratos de plantas para a produção de nanopartículas metálicas (HABIBULLAH; VIKTOROVA; RUMML, 2021).

#### 1.4.1 Extrato de *Shinus terebinthifolius*

A *Schinus terebinthifolius* é uma árvore nativa do Brasil, sendo popularmente conhecida como “aroeira-vermelha”, “aroeira-pimenteira”, “Brazilian pepper” ou “Christmas-berry”. A *S. terebinthifolius* está presente principalmente na região litorânea do país, indo do Mato Grosso do Norte até o Rio Grande do Sul. Esta espécie é considerada uma árvore de porte médio, chegando a até 10 m de altura com tronco de até 60 cm de diâmetro (GILBERT; FAVORETO, 2011). A exportação e introdução da *S. terebinthifolius* a diferentes regiões do globo já é bastante antiga. Morton (1978) relata a presença da espécie em outros países da

América do Sul além do Brasil, em parte da América Central, América do Norte, África e Sul da Ásia, indicando a facilidade de cultivo e comercialização em diferentes países.

Os frutos de *S. terebinthifolius*, conhecidos como “pimenta rosa”, possuem leve sabor apimentado, por tal, são amplamente utilizados como condimento na culinária mundial (DE OLIVEIRA et al., 2020; DEGASPARI; WASZCZYNSKYJ; SANTOS, 2005). A agroindústria, que promove a produção e comercialização da pimenta rosa, é responsável pela geração de resíduos orgânicos como caules e folhas oriundas do processo de limpeza e seleção dos frutos (SERRANO-LEÓN et al., 2018). Dessa forma, é interessante o uso destes resíduos gerados, uma vez que os mesmos podem conter uma composição química que os proporcione uma alta capacidade antioxidante, sendo uma alternativa interessante no âmbito econômico, logístico e ambiental (VIEIRA et al., 2023).

A *S. terebinthifolius* possui propriedades medicinais, tornando o interesse na planta não restrito somente aos frutos. De acordo com Ramos e colaboradores (2020), a lectina presente nas folhas da espécie tem ação antitumoral, podendo reduzir a hiperalgesia causada pelo tumor sarcoma 180. Já Schulte e colaboradores (2021) concluíram que, o composto químico bilobol presente no extrato das folhas de *S. terebinthifolius*, pode eliminar larvas do mosquito *Aedes aegypti*, atuando como uma possível ferramenta para o combate à dengue. Em estudo realizado por Silva e colaboradores (2017), os autores observaram que, tanto o extrato obtido pelos frutos quanto obtido por folhas mostrou ter capacidade antibacteriana frente a *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* resistente a metilina, *Cryptococcus neoformans* e *Candida albicans*. Assim, é coerente que o uso de diferentes partes da planta seja utilizado na medicina alternativa, onde é comumente recomendada para tratamento de feridas superficiais, úlceras na pele além de infecções no trato urinário (EL-MASSRY et al., 2009).

Além do uso medicinal do extrato das folhas, é possível se beneficiar de sua composição rica em compostos fenólicos na área de produção de sistemas nanoparticulados. El-Massry e colaboradores (2009) relataram alta atividade antioxidante, através da técnica de avaliação de atividade antioxidante via inibição de tert-butilhidroquinona (TBHQ). O extrato alcoólico das folhas de espécies cultivadas no Egito apresentou inibição de  $86,4 \pm 4\%$  em  $100 \mu\text{g mL}^{-1}$ . Considerando a necessidade de um agente redutor e estabilizante para o preparo de nanopartículas metálicas, o uso do extrato de *S. terebinthifolius* pode ser uma alternativa eficiente e ambientalmente amigável para sua produção. Além disso, a espécie é amplamente comercializada e cultivada por conta do uso de seus frutos na gastronomia, sendo de fácil cultivo e alta adaptabilidade ao ambiente.

## 2 OBJETIVOS

### 2.1 OBJETIVO GERAL

Preparar e caracterizar nanopartículas de prata utilizando extrato de folhas de *Schinus terebinthifolius* como agente redutor e estabilizante para aplicação como sensor colorimétrico para a determinação de mercúrio em amostras de água e de fluido de perfuração de poços de petróleo.

### 2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Preparar o extrato aquoso das folhas de *Schinus terebinthifolius*;
2. Analisar a composição fenólica e a atividade oxidante do extrato de *Schinus terebinthifolius*;
3. Otimizar as condições para o preparo das nanopartículas de prata a partir de extrato de folhas de *Schinus terebinthifolius* utilizando a metodologia de superfície de resposta Box-Behnken;
4. Avaliar a atividade antibacteriana do extrato aquoso das folhas de *Schinus terebinthifolius* e das nanopartículas de prata obtidas;
5. Verificar a sensibilidade e a seletividade das nanopartículas para detecção e quantificação de Hg;
6. Determinar as condições ótimas para utilização das nanopartículas de prata como sensor colorimétrico para quantificação de Hg<sup>2+</sup> em amostras de água de abastecimento, de rio e de fluido de perfuração de poços de petróleo.

### 3 MATERIAIS E MÉTODOS

#### 3.1 INSTRUMENTAÇÃO

As medições foram realizadas no espectrofotômetro de absorção molecular na região do visível da Phox, modelo V3210. O preparo do extrato aquoso de *S. terebinthifolius* foi realizado utilizando chapa magnética de aquecimento e agitação mecânica da Dist, modelo D1-03 e balança analítica da Bel Equipamentos Analíticos modelo M254Ai. As ST-AgNPs foram preparadas utilizando banho de aquecimento e refrigeração da MicroQuímica, modelo MQBTC 99-20 e bomba peristáltica automática da Ismatec, modelo ISM935C. A verificação e ajuste de pH foi realizada utilizando medidor de pH da Oakton, modelo ION700. A análise de compostos fenólicos foi feita utilizando cromatografia líquida de alta performance da Agilent Technologies, modelo 1200 Series, acoplado a espectrômetro de massas Q Trap 3200 da Applied Biosystems/MDS Sciex. Os espectros de FTIR foram feitos em pastilha de KBr seco utilizando espectrofotômetro da Bruker, modelo Alpha, na região de 4000 a 500  $\text{cm}^{-1}$ . As análises de espelhamento dinâmico de luz e do potencial zeta foram realizadas utilizando o Zetasizer Nano ZS da Malvern, modelo ZEN3500.

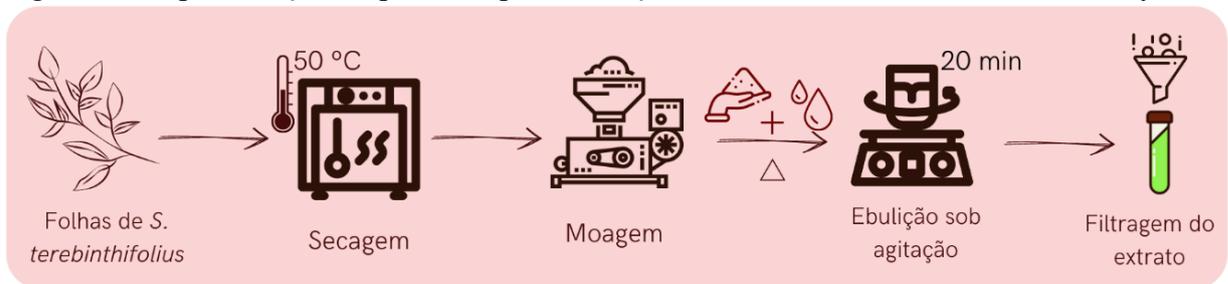
#### 3.2 SOLUÇÕES E REAGENTES

Para os ajustes de pH, preparo das nanopartículas foram utilizados ácido nítrico ( $\text{HNO}_3$ ), hidróxido de sódio ( $\text{NaOH}$ ) e o tampão utilizado para diluição das ST-AgNPs são da marca Neon. O nitrato de prata ( $\text{AgNO}_3$ ) utilizado para o preparo das ST-AgNPs é da Merck. Foi utilizada água ultrapura (com resistividade de 18,2  $\text{M}\Omega \text{ cm}$ ) para preparo das soluções, obtida pelo purificador de água Purelab Ultra da marca Elga LabWater. As soluções padrão metálicos utilizados para avaliação da sensibilidade das ST-AgNPs de  $\text{Al}^{3+}$ ,  $\text{Ba}^{2+}$ ,  $\text{Be}^{2+}$ ,  $\text{Cd}^{2+}$ ,  $\text{Ce}^{3+}$ ,  $\text{Co}^{3+}$ ,  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Fe}^{2+}$ ,  $\text{Fe}^{3+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Mn}^{2+}$ ,  $\text{Mo}^{6+}$ ,  $\text{Sb}^{3+}$  e  $\text{Zn}^{2+}$  da marca SpecSol,  $\text{Cr}^{3+}$  da marca AcrosOrganics e  $\text{Hg}^{2+}$ ,  $\text{K}^+$  e  $\text{Pb}^{2+}$  da marca Sigma-Aldrich. As amostras de água de abastecimento público foram obtidas da torneira do Departamento de Química da UFSC – Campus Trindade, amostras de água de córrego foram coletadas no bosque no mesmo campus universitário. As amostras de fluido de perfuração utilizadas são de origem da indústria petroquímica.

### 3.3 PREPARO DO EXTRATO DE *Schinus terebinthifolius*

O preparo do extrato foi obtido conforme proposto por Bhagat e colaboradores (2021). Aproximadamente 20 g de folhas frescas de *Schinus terebinthifolius* foram coletadas, lavadas com água ultrapura e secas em estufa a 50 °C durante 12 h. Após a secagem, as folhas foram trituradas em um moinho de bolas até atingirem aspecto de pó. Então, 1,0 g do pó de folhas foi adicionado em 10 mL de água. A mistura foi mantida sob agitação mecânica e aquecida até a ebulição, mantendo essa condição por 20 minutos. Posteriormente, o extrato foi filtrado ainda quente em funil e papel filtro, sendo este utilizado para posterior preparação das nanopartículas de prata. A Figura 5 ilustra o processo de obtenção do extrato de *S. terebinthifolius*.

Figura 5 – Representação do processo para obtenção do extrato de folhas de *S. terebinthifolius*



Fonte: a autora (2023)

### 3.4 CARACTERIZAÇÃO DO EXTRATO DE *Schinus terebinthifolius*

#### 3.4.1 Análise de DPPH e fenólicos totais

A avaliação do potencial antioxidante do extrato de *S. terebinthifolius* foi realizada por meio do método utilizando 2,2-difenil-1-picrilhidrazil (DPPH). O método consiste na mistura do reagente DPPH com uma amostra do extrato. Dois sistemas foram avaliados utilizando espectrofotometria no ultravioleta e visível, o primeiro contendo apenas o DPPH e o segundo contendo uma mistura de DPPH com extrato. A variação de absorvância no comprimento de onda de 517 nm de ambos os sistemas indicam o potencial antioxidante da amostra. Os dados foram expressos em concentração de Trolox e em porcentagem de inibição (%I), a qual pode ser obtida partir da equação 1 abaixo, onde  $A_0$  é a absorvância somente do DPPH,  $A$  é absorvância da mistura de DPPH com extrato:

$$\%I = \frac{(A_0 - A)}{A_0} \times 100 \quad \text{Equação 1}$$

A quantificação dos compostos fenólicos totais, foi realizada baseado no trabalho de Swain e Hillis (1959). O método consiste na adição de 0,05 mL de amostra de extrato de *S.*

*terebinthifolius*, 0,25 mL do reagente Folin e 3,95 mL de água ultra-pura em um tubo de ensaio. Após 3 min, foi adicionado ao sistema 0,75 mL de uma solução saturada de Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, a solução foi mantida na ausência de luz por 2 horas. Após o período de reação, foram retiradas alíquotas para medição da absorvância, no comprimento de onda de 760 nm, em espectrofotometro ultravioleta-visível. Os dados foram obtidos a partir de uma curva de calibração, onde foram expressos na unidade de ácido gálico equivalente por litro de extrato (g GAE L<sup>-1</sup>).

### 3.4.2 Caracterização da composição das folhas via HPLC-MS/MS

Para caracterização dos compostos presentes no extrato de folhas de *S. terebinthifolius*, foi utilizada uma adaptação do método proposto por Schultz (2015) usando cromatografia líquida de alta resolução acoplada a espectrômetro de massas (HPLC-MS/MS). Para a análise, folhas frescas da espécie foram colhidas, lavadas com água ultra-pura e secas durante 12 horas a 50 °C na estufa. Na sequência, as folhas foram moídas utilizando moinho de bolas, até atingirem a características de um pó fino. A fim de identificar a maior variedade de compostos fenólicos, e evitar possíveis perdas por conta do tratamento da amostra, duas amostras do pó de folhas foram submetidas a análise utilizando HPLC-MS/MS, onde apenas uma passou pelo processo de hidrólise ácida. Para a hidrólise ácida foi adicionado a 1,0 g de folhas trituradas, 5,0 mL de metanol e 5,0 mL de ácido clorídrico. O sistema foi aquecido utilizando banho termostaticado a 85 ± 5 °C durante 30 min. Após o aquecimento foi realizada a extração por partição utilizando 30 mL de éter etílico, onde a fase orgânica foi evaporada utilizando rota-evaporador. O produto obtido foi ressolubilizado com 1,0 mL de metanol, filtrado e adicionado ao HPLC-MS/MS. Para a amostra não hidrolisada, foi adicionado 1,0 g de folhas trituradas em 5,0 mL de metanol, onde o sistema foi filtrado antes de ser injetado no equipamento.

Com relação as condições do equipamento, a coluna utilizada foi a coluna Synergi™ de 4,6 µm, 2,0 × 150 mm d.i.; Phenomenex, EUA a 30 °C, o volume de injeção foi de 10 µL em 250 µL min<sup>-1</sup> de taxa de fluxo. A fase móvel constituiu-se de 95% v v<sup>-1</sup> de metanol (A) e ácido fórmico 0,1% v v<sup>-1</sup> (B). A eluição gradiente é descrita na Tabela 1.

Tabela 1 - Eluição gradiente para determinação de compostos fenólicos

Faixa de tempo (min)	Proporção eluente (A%)
0 a 5	10
5 a 7	90
7 a 10	90
10 a 17	10

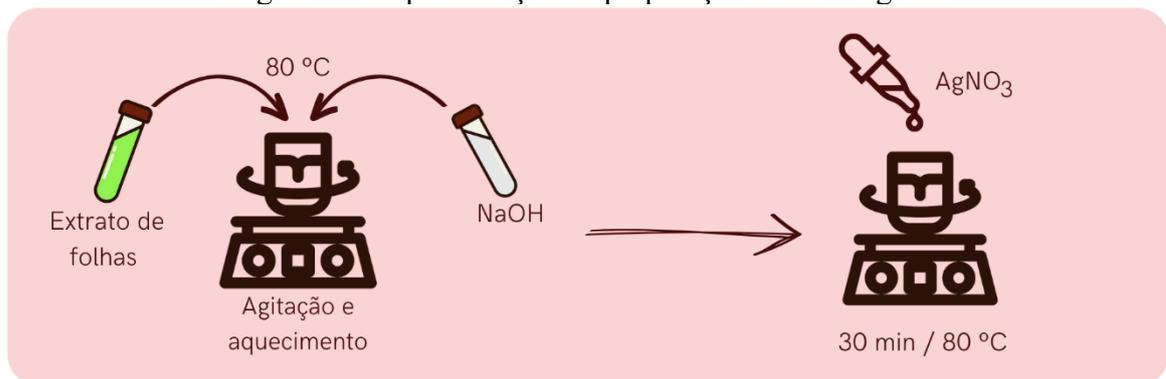
Fonte: adaptado pela autora de Schultz (2015)

### 3.5 CARACTERIZAÇÃO E PREPARO DE NANOPARTÍCULAS DE PRATA

#### 3.5.1 Preparo de nanopartículas de prata

As AgNPs foram preparadas baseadas no método proposto por Bhagat e colaboradores (2021). Em suma, foi adicionado 750  $\mu\text{L}$  do extrato de *S. terebinthifolius*, 400  $\mu\text{L}$  de NaOH (0,1 mol L<sup>-1</sup>) e aproximadamente 5 mL de água ultra-pura em um béquer de 10 mL, sob agitação mecânica. A mistura foi aquecida até  $80 \pm 2$  °C utilizando banho térmico com béquer encamisado, então, a esta mistura foram adicionados, por gotejamento, 1250  $\mu\text{L}$  de AgNO<sub>3</sub> (0,01 mol L<sup>-1</sup>), com uma vazão aproximada de 200  $\mu\text{L min}^{-1}$ . Após 30 min sob agitação e aquecimento, a dispersão foi avolumada para 10 mL com água ultra-pura. A mudança de coloração de amarelo-claro para amarelo-escuro, indica a formação de nanopartículas. A Figura 6 ilustra o processo de preparo de nanopartículas de prata utilizando extrato de *S. terebinthifolius* (ST-AgNPs).

Figura 6 – Representação da preparação das ST-AgNPs



Fonte: a autora (2023).

#### 3.5.2 Otimização das condições para preparação das nanopartículas de prata

Foi realizada uma otimização multivariada para a preparação das nanopartículas, utilizando a metodologia de superfície de resposta Box-Behnken. Os fatores selecionados para otimização foram o volume dos reagentes (solução de NaOH 0,1 mol L<sup>-1</sup> e Extrato) e o tempo de aquecimento. Os pontos centrais e dos pontos axiais do modelo foram definidos baseados nos trabalhos de Bhagat et al. (2021) e Ghosh et al. (2023). A Tabela 2 apresenta as variáveis e os níveis utilizados para otimização da proposição das ST-AgNPs por metodologia de superfície de resposta Box-Behnken.

Tabela 2 – Variáveis e níveis para otimização da preparação das nanopartículas de prata por meio da metodologia de superfície de resposta Box-Behnken.

Variáveis	Níveis		
	-1	0	+1
Volume de NaOH / $\mu\text{L}$	30	60	90
Volume de Extrato / $\mu\text{L}$	150	250	350
Tempo de reação / min	5	30	55

Fonte: a autora (2023).

### 3.5.3 Características físicas e químicas

Para a caracterização das nanopartículas, foi utilizada a espectrofotometria de absorção molecular no visível, para varredura entre 370 - 700 nm. A estabilidade coloidal das nanopartículas foi avaliada através da variação da absorção da banda plasmônica. Foi realizada a microscopia de transmissão eletrônica utilizando equipamento de 100 kV para obter o tamanho médio das nanopartículas. A partir das micrografias o diâmetro modal das nanopartículas (avaliação de aproximadamente 100 nanopartículas) foi obtido utilizando o *software* ImageJ<sup>®</sup>. A determinação do diâmetro hidratado das nanopartículas e a polidispersão do sistema foi avaliada por meio do espalhamento dinâmico da luz. O potencial-zeta foi determinado, além de ser realizada uma microscopia de varredura eletrônica e dados de espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier (FTIR). A influência do pH na banda de absorção das ST-AgNPs, foi analisada em pHs entre 2 e 9. Soluções de HNO<sub>3</sub> (0,1 mol L<sup>-1</sup>) e NaOH (0,1 mol L<sup>-1</sup>) foram utilizadas para o ajuste dos respectivos pHs.

### 3.5.4 Atividade Biológica

A determinação do potencial antibacteriano das nanopartículas foi realizada utilizando o método de avaliação da inibição do halo bacteriano por difusão em ágar por poços. Ao total, 7 microrganismos (Tabela 3) foram semeados em placas de petri contendo ágar tripton de soja (TSA) com auxílio de zaragatoa estéril. Os inóculos semeados foram padronizados em salina estéril de acordo com a escala McFarland em 0,5 (aproximadamente  $1 \times 10^8$  UFC mL<sup>-1</sup>). Uma alíquota de 50  $\mu\text{L}$  de duas amostras foram pipetadas em poços feitos no ágar: a primeira contendo apenas o extrato aquoso de *S. terebinthifolius* e a segunda sendo as ST-AgNPs. Após os inóculos semeados e as alíquotas pipetadas, as placas foram incubadas em estufa a 37 °C durante 24 h  $\pm$  2 h. A fim de garantir a qualidade da análise, foi utilizado como controle positivo um disco do agente antimicrobiano Meropenem e como controle negativo utilizou-se 50  $\mu\text{L}$  de

salina estéril. Apenas para o fungo *C. albicans* não foi possível utilizar controle positivo, dado que não havia a disposição o antifúngico adequado. Os halos de inibição bacteriana foram medidos em milímetros com o auxílio de um paquímetro.

Tabela 3 - Microrganismos avaliados

<b>Microrganismos</b>	<b>Classificação</b>
<i>Escherichia coli</i>	Bactéria
<i>Staphylococcus aureus</i>	Bactéria
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Bactéria
Salmonella Thyphimurium	Bactéria
<i>Listeria monocytogenes</i>	Bactéria
<i>Bacillus cereus</i>	Bactéria
<i>Candida albicans</i>	Fungo

Fonte: a autora (2023).

Para avaliar de maneira quantitativa a atividade antimicrobiana das ST-AgNPs com relação ao extrato de *S. terebinthifolius*, foi utilizado o método de microdiluição. Para tal, o número de microorganismos dos inóculos selecionados foram padronizados em 0,5 de acordo com a escala McFarland, o correspondente a aproximadamente  $1,5 \times 10^8$  UFC mL<sup>-1</sup>, em caldo infusão de cérebro-coração (BHI). Então, adicionou-se 300 µL do inóculo e 300 µL de cada amostra em microtubos de 2 mL. Como controle negativo, foi adicionado 300 µL de solução salina com 300 µL de inóculo. Todos os sistemas foram acondicionados em estufa bacteriológica para incubação a uma temperatura de  $37 \pm 2$  °C durante aproximadamente 24 h.

Após o período de incubação, os inóculos contendo as amostras foram diluídos de maneira seriada até atingir a concentração de  $10^{-6}$  UFC mL<sup>-1</sup> em solução salina. Uma alíquota de 100 µL de cada inóculo diluído foi plaqueado em ágar triptona de soja (TSA). As placas foram incubadas a temperatura de  $37 \pm 2$  °C em estufa bacteriológica por aproximadamente 24 h. A determinação do crescimento bacteriano foi realizada por meio da contagem de colônias típicas na placa de maior diluição, compreendendo uma faixa entre 30 e 300 colônias. A estimativa do crescimento bacteriano foi dada por meio da equação 2 abaixo.

$$\text{Taxa de crescimento (UFC mL}^{-1}\text{)}: \frac{\text{n}^\circ \text{ de colonias (UFC)}}{(\text{Volume inóculo (mL)}) \times (\text{Diluição})} \quad \text{Equação 2}$$

### 3.6 SENSORES COLORIMÉTRICOS

#### 3.6.1 Sensibilidade e seletividade das de ST-AgNPs ao Hg<sup>2+</sup>

Para verificar a sensibilidade das nanopartículas de prata na presença de diferentes íons metálicos, foi utilizado como base o método proposto por Bhagat (2021), onde foram preparadas soluções contendo diferentes íons na concentração de 20 mg L<sup>-1</sup>. A cada solução foi adicionado 500 µL da dispersão de ST-AgNPs, sendo por fim avolumado com H<sub>2</sub>O para 2 mL. Os íons avaliados foram Al<sup>3+</sup>, Ba<sup>2+</sup>, Be<sup>2+</sup>, Cd<sup>2+</sup>, Ce<sup>3+</sup>, Co<sup>3+</sup>, Cr<sup>3+</sup>, Cu<sup>2+</sup>, Fe<sup>2+</sup>, Fe<sup>3+</sup>, Hg<sup>2+</sup>, K<sup>+</sup>, Mg<sup>2+</sup>, Mn<sup>2+</sup>, Mo<sup>6+</sup>, Pb<sup>2+</sup>, Sb<sup>3+</sup> e Zn<sup>2+</sup>.

Além disso, a estabilidade da resposta ao analito foi analisada com relação ao tempo de armazenamento sob refrigeração na presença de luz. Duas dispersões foram preparadas para cada medição: uma contendo apenas 500 µL de ST-AgNPs e outra contendo uma concentração de 1 mg L<sup>-1</sup> de Hg<sup>2+</sup> ambas com volume final de 1,5 mL. As medições de absorvância foram realizadas nos tempos de 0; 24; 72; 336 h. A estabilidade da resposta do sensor colorimétrico, foi avaliada por meio da variação da absorvância da banda plasmônica do sistema na presença e ausência do analito.

Avaliou-se também, a influência da temperatura de preparo das ST-AgNPs na resposta do sensor. Para tal, nanopartículas foram preparadas nas temperaturas de 50; 60; 70 e 80 °C. Então, foi preparado 4 soluções branco contendo apenas 500 µL de cada nanopartícula e 4 soluções contendo 1 mg L<sup>-1</sup> de Hg<sup>2+</sup>, todas a um volume final de 1,5 mL. As medições da absorvância do branco e da amostra contendo Hg<sup>2+</sup> foi realizada utilizando espectrofotômetro ultravioleta-visível. O limite de quantificação (LOQ) foi estipulado como o primeiro ponto da curva de calibração, já o limite de detecção (LOD) foi calculado conforme a equação 3 abaixo.

$$LOD = \frac{LOQ}{3,3} \quad \text{Equação 3}$$

#### 3.6.2 Aplicação do sensor em amostras ambientais

Para avaliação do desempenho das nanopartículas como sensores colorimétricos em amostras reais, foi determinada concentrações de íons Hg<sup>2+</sup> em amostras de água de abastecimento público, água de córrego e fluido de perfuração. Para a determinação do analito nas amostras, foi utilizada a curva de calibração com padrões aquosos de Hg<sup>2+</sup>, nas concentrações entre 0,10 a 0,80 mg L<sup>-1</sup>. Para a determinação das concentrações de Hg<sup>2+</sup> adicionadas previamente às amostras de água, foram misturadas 250 µL de amostra com 500 µL de ST-AgNPs diluídas 10 vezes em tampão de pH 4, onde o sistema total foi avolumado

para 1,5 mL com água ultra pura. Testes de recuperação, em triplicata, foram realizados para avaliar a exatidão da metodologia, foram adicionadas às amostras concentrações de 0,2; 0,3 e 0,4 mg L<sup>-1</sup> de Hg<sup>2+</sup>.

Para as amostras de fluido de perfuração, considerando a natureza heterogênea da amostra, foi utilizada a centrifugação durante 5 min a 3900 rpm para que as fases oleosa, aquosa e sólida fossem devidamente separadas no sistema. Para a determinação das concentrações do analito, foram misturados 50 µL da fase aquosa da amostra com 500 µL de ST-AgNPs para um volume final de 1,5 mL. Antes da adição, as ST-AgNPs foram diluídas 10 vezes em tampão pH 4. Novamente, a verificação da exatidão foi realizada por meio de testes de recuperação, foram adicionadas concentrações de 0,1; 0,2; 0,3; 0,4 e 0,5 mg L<sup>-1</sup> de íons Hg<sup>2+</sup> na fase aquosa da amostra. A medição da absorvância da banda plasmônica foi realizada utilizando espectrofotômetro visível. Todos os sistemas foram preparados previamente, onde a adição das ST-AgNPs foi realizada seguida de imediata medição da respectiva absorvância, padronizando o tempo para medição.

Com relação a possível interferência do Fe<sup>2+</sup> na determinação de Hg<sup>2+</sup> em matrizes complexas, as amostras passaram por um tratamento para mascarar a presença dos íons interferentes no sistema. Para o tratamento, foi utilizado 30 µL de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> a 0,01% em 1,00 mL de amostra de água ultrapura, onde foram adicionados 0,30 mg L<sup>-1</sup> de Hg<sup>2+</sup> e concentrações de 0,10; 0,30 e 0,50 mg L<sup>-1</sup> de Fe<sup>2+</sup> e, por fim, 1-10 Fenantrolina (5,0 mg L<sup>-1</sup>) em excesso. A medição da absorvância máxima da banda plasmônica foi realizada utilizando espectrofotômetro visível.

## 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1 CARACTERIZAÇÃO DO EXTRATO

#### 4.1.1 Atividade antioxidante e compostos fenólicos

A atividade antioxidante foi determinada utilizando o método do DPPH. O extrato obtido a partir de folhas frescas, apresentou alta capacidade antioxidante, com um equivalente ao Trolox de 9,60 mmol L<sup>-1</sup> ou 70,32 ± 0,60% de inibição da absorção. A característica altamente antioxidante do extrato é positiva para a produção das nanopartículas, uma vez que é necessário reduzir o íon de Ag<sup>+</sup> para Ag<sup>0</sup>, a fim de produzir AgNPs. A porcentagem de inibição da absorvância encontrada para o extrato aquoso de de *S. terebinthifolius* foi relativamente próxima ao reportado por El-Massry e colaboradores (2009), onde os autores avaliaram a atividade antioxidante de extratos etanólicos, de folhas de *S. terebinthifolius* cultivadas no Egito. A porcentagem de inibição reportada pelos autores foi de 86,4 ± 4,0% no nível de 100 µg mL<sup>-1</sup>.

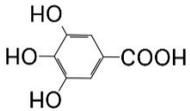
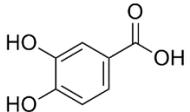
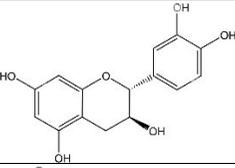
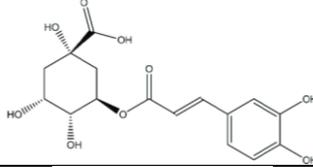
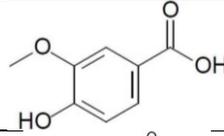
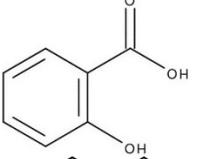
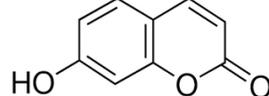
<sup>1</sup>. Dessa forma, a diferença entre a de porcentagem de inibição, ligeiramente superior ao determinado no extrato aquoso, pode ser resultado do emprego de diferentes solventes empregados no preparo dos extratos.

A concentração de compostos fenólicos totais obtido para o extrato aquoso de folhas frescas de *S. terebinthifolius* foi 5,45 g GAE L<sup>-1</sup>, corroborando com os resultados obtidos por Gomes e colaboradores (2013). Os autores utilizaram do mesmo método para determinação de fenólicos totais presentes em extratos de folhas frescas e secas de *S. terebinthifolius*. Segundo os autores, a concentração encontrada de compostos fenólicos, 5 g GAE L<sup>-1</sup> e 19 g GAE L<sup>-1</sup> respectivamente, indica maior concentração de compostos fenólicos no extrato de folhas secas. As diferenças nas concentrações entre os extratos pode ser influência da hidratação das folhas, uma vez que os autores utilizaram a mesma massa para produção de ambos os extratos. Assim, visando maior homogeneidade e concentração de seus componentes, além de maior facilidade para armazenamento, optou-se pelo uso de folhas secas trituradas para obtenção do extrato e posterior produção das ST-AgNPs.

#### **4.1.2 Determinação de compostos fenólicos via HPLC-MS/MS**

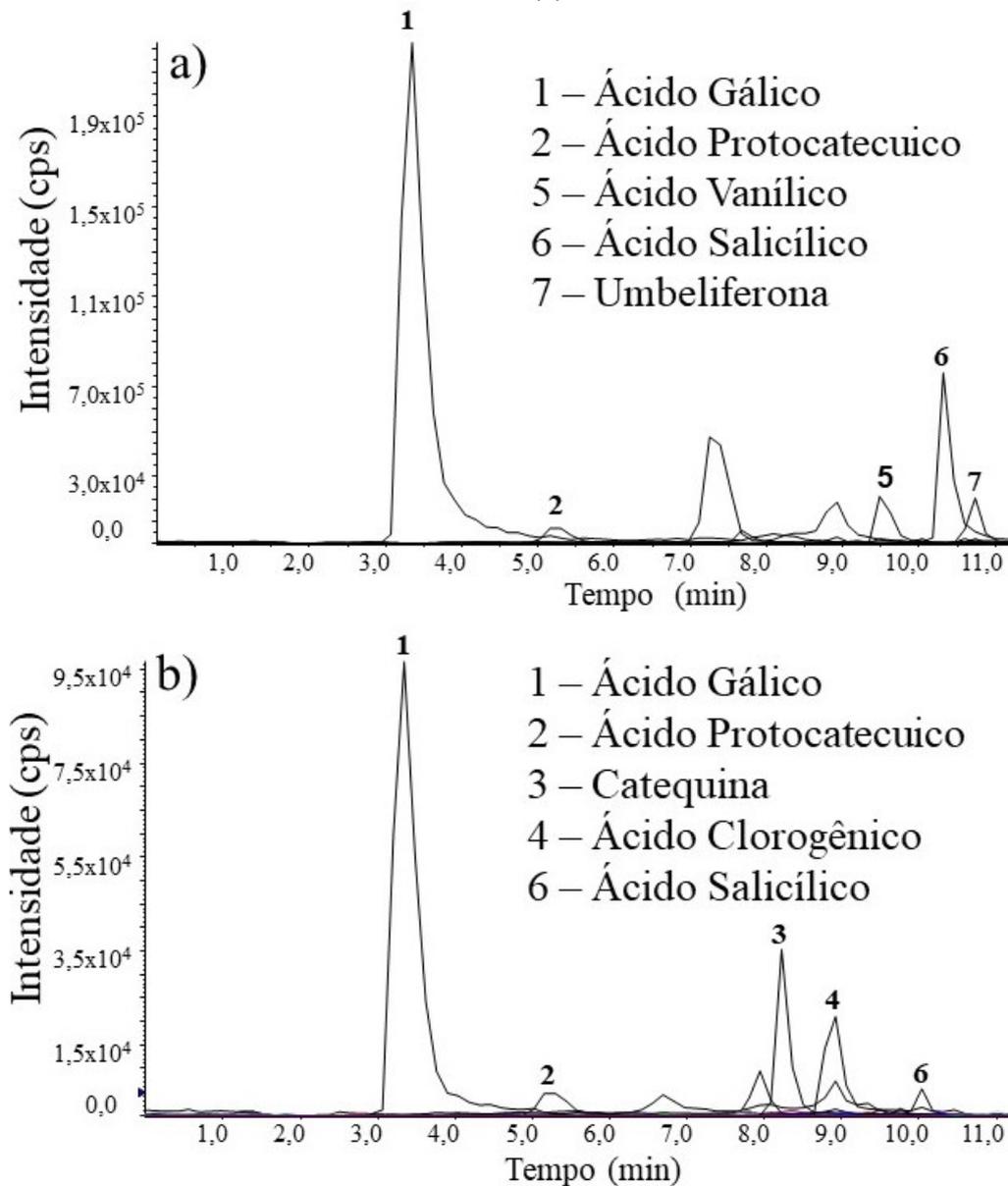
Para quantificar compostos fenólicos presentes no extrato, foi utilizada a técnica de HPLC-MS/MS. Ao total, foram avaliados 41 compostos, dos quais 7 foram identificados em concentrações quantificáveis: ácido gálico (416,57 ± 52,83 mg L<sup>-1</sup>), ácido protocatecuico (6,85 ± 0,38 mg L<sup>-1</sup>), catequina (135,35 ± 10,11 mg L<sup>-1</sup>), ácido vanílico (368,68 ± 64,52 mg L<sup>-1</sup>), ácido clorogênico (16,84 ± 2,28 mg L<sup>-1</sup>), ácido salicílico (2,63 ± 0,36 mg L<sup>-1</sup>), e umbeliferona (0,42 ± 0,06 mg L<sup>-1</sup>). Esses compostos, possuem alta capacidade antioxidante, contribuindo significativamente para a atividade redutora do extrato. A Figura 4 mostra as concentrações dos compostos nas folhas não hidrolisadas (AM1) e nas hidrolisadas (AM2). Além disso, a Figura 7 mostra os cromatogramas (a) - folhas não hidrolisadas; e (b) - folhas hidrolisadas; indicando os respectivos tempos de retenção dos compostos identificados.

Tabela 4 - Concentração de diferentes compostos em amostras de extrato de folhas de *S. terebinthifolius*

Sinal	Composto	Estrutura Química	Tempo de retenção (min)		Íon precursor	Íon precursor	Concentração (mg L <sup>-1</sup> )	
			AM1	AM2	(m/z) Q1	(m/z) Q3	AM1	AM2
1	Ácido Gálico		3,34	3,34	168,9	125,0	132,25 ± 2,02	416,57 ± 52,83
2	Ácido protocatecuico		5,23	5,22	152,9	109,0	5,09 ± 0,03	6,85 ± 0,38
3	Catequina		85,23	-	288,9	109,0	135,35 ± 10,11	<0,01
4	Ácido Clorogênico		8,90	-	353,1	191,0	16,84 ± 2,28	<0,02
5	Ácido vanílico		-	9,51	166,9	152,0	<0,04	368,68 ± 64,52
6	Ácido salicílico		10,33	10,33	136,9	93,0	<0,01	2,63 ± 0,36
7	Umbeliferona		-	10,74	160,9	133,1	< 3,00×10 <sup>-3</sup>	0,42 ± 0,06

Fonte: dados compilados pela autora (2023)

Figura 7 - Cromatogramas de amostras de folhas frescas de *Schinus terebinthifolius* onde (a) folhas não hidrolisadas e (b) folhas hidrolisadas



Fonte: dados compilados pela autora (2023)

A presença de ácido gálico e catequina em concentrações relativamente elevadas ( $416,57 \pm 52,83$  e  $135,35 \pm 10,11$  mg L<sup>-1</sup> respectivamente) corrobora com os resultados reportados por El-Massry e colaboradores (2009). Os autores utilizaram a mesma técnica para determinar diferentes compostos fenólicos em folhas frescas de *S. terebinthifolius* cultivadas no Egito. Durante a pesquisa, foram encontradas concentrações de  $0,27 \pm 0,00$  mg/100 g de ácido gálico em extratos de folhas frescas, destacando novamente o potencial antioxidante das mesmas. A variação entre as concentrações determinadas pelos autores e as obtidas no presente trabalho podem se dar por diferentes fatores intrínsecos a região e condições ambientais onde a

planta foi cultivada, além da forma de amostragem das folhas. O trabalho de Tlili e colaboradores (2018) avaliou a composição de frutos de *S. terebinthifolius* em duas cidades na Tunísia. Os autores reportaram diferenças significativas na porcentagem de ácido gálico, catequina e ácido vanílico presente nas amostras, indicando que as condições de cultivo podem modificar a composição química dos tecidos que compõem a árvore.

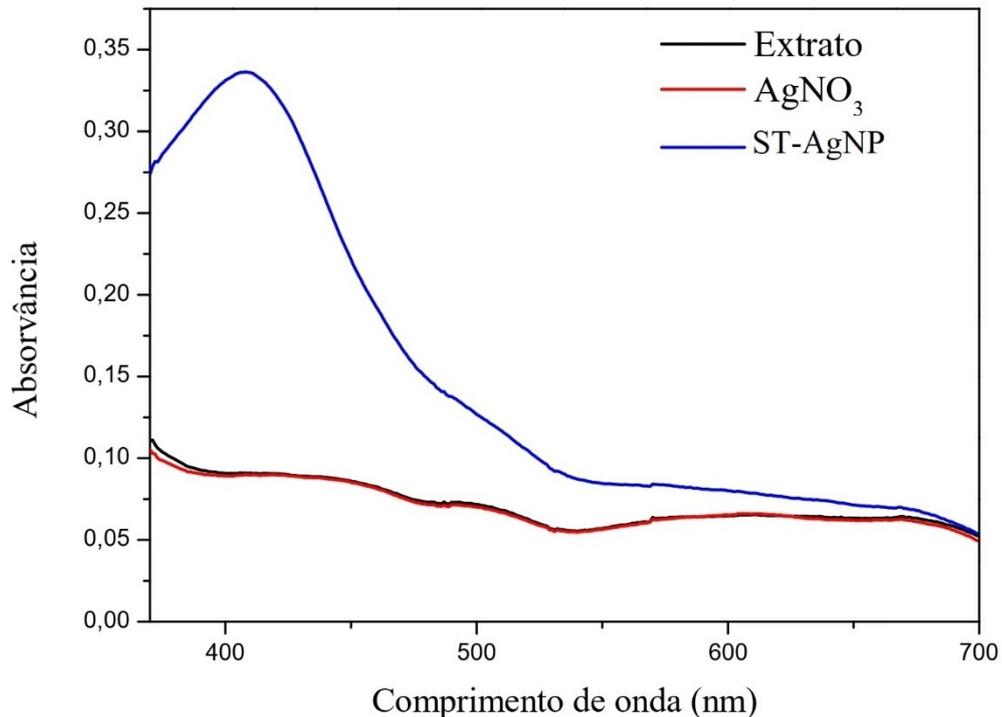
Na literatura, há relatos da composição química dos frutos de *S. terebinthifolius*, com destaque para concentrações de ácido clorogênico, catequina e ácido protocatecuico. No trabalho de Carneiro e colaboradores (2022), os autores identificaram concentrações de ácido clorogênico nas sementes ( $3,5 \pm 0,1 \text{ mg kg}^{-1}$ ) e no óleo obtido a partir da prensagem dos frutos ( $5,2 \pm 0,2 \text{ mg kg}^{-1}$ ). Além disso, Degáspari, Waszczynsky e Santos (2005) encontraram em amostras de extrato aquoso de pimenta rosa  $685 \text{ mg g}^{-1}$  de catequina. Em trabalho realizado por Kim e colaboradores (2021), houve a avaliação da composição de amostras de pimenta rosa, obtendo a concentração média de ácido protocatecuico de  $144,85 \pm 0,71 \text{ mg g}^{-1}$ . Dessa forma, se tem indicações de que os compostos encontrados no extrato obtido a partir de folhas secas de *S. terebinthifolius* são coerentes com as concentrações reportadas na literatura.

## 4.2 CARACTERIZAÇÃO DAS NANOPARTÍCULAS DE PRATA

### 4.2.1 Espectrofotometria na região do ultravioleta-visível

O espectro de absorção dos reagentes utilizados no preparo das ST-AgNPs ( $\text{AgNO}_3$  e extrato aquoso) e das ST-AgNPs foram obtidos por espectrometria de absorção molecular no visível. A faixa de comprimento de onda avaliada foi de 370 a 700 nm, onde se esperava encontrar o comprimento de onda de máxima absorção da banda plasmônica. Em geral, a banda plasmônica é dependente da banda de transição entre os estados eletrônicos do metal constituinte. No caso das AgNPs, a faixa de comprimento de onda onde ocorre a absorção máxima relatada na literatura é entre 400 e 500 nm (BAEK et al., 2014). A Figura 8 mostra o espectro na região do visível dos reagentes (extrato de *S. terebinthifolius* e  $\text{AgNO}_3$ ) e das ST-AgNPs na faixa de 370 a 700 nm.

Figura 8 - Espectro na região do visível do extrato de *S. terebinthifolius*, nitrato de prata ( $0,01 \text{ mol L}^{-1}$ ) e das ST-AgNPs



Fonte: a autora (2023).

É possível observar que o perfil do espectro da solução sal precursor ( $\text{AgNO}_3$ ) e do extrato de folhas de *S. terebinthifolius*, na faixa de comprimento de onda avaliada, são similares e não apresentam significativa absorção na região espectral avaliada. Contudo, observa-se que o perfil do espectro obtido para as ST-AgNPs é distinto, com a presença de uma banda bem definida, com absorvância máxima em 410 nm. Dessa forma, pode-se afirmar que há fortes indícios de que houve a formação das AgNPs, dado que a banda de absorção observada pode ser atribuída a presença da banda plasmônica das ST-AgNPs.

É possível ainda estipular, a partir do espectro de absorção, uma aproximação do tamanho das nanopartículas obtidas. A relação entre comprimento de onda e tamanho de nanopartículas é diretamente proporcional, ou seja, quanto menor o comprimento de onda de absorção máxima, menor o diâmetro da nanopartícula. No trabalho de Pal, Tak e Song (2007), os autores obtiveram nanopartículas de prata a partir do método de redução de  $\text{Ag}^+$  por borohidreto de sódio. A banda de absorção das nanopartículas esféricas obtidas, tem absorção máxima em aproximadamente 420 nm, com diâmetro médio próximo de 50 nm. Dessa forma, considerando o espectro de absorção obtido, havendo a formação das nanopartículas, elas devem ter diâmetro menor que 50 nm.

#### 4.2.2 Otimização do preparo de nanopartículas

Para definir as condições ótimas de síntese que resultassem em uma banda de absorção mais intensa, foi utilizada a otimização multivariada por meio de metodologia de superfície de resposta Box-Behnken. Nesta otimização foram realizados 15 experimentos avaliando a influência das seguintes variáveis: volume de NaOH ( $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ ), volume de extrato de folhas de *S. terebinthifolius* e o tempo de aquecimento (Tabela 5). A temperatura de produção e a agitação foram fatores que se mantiveram fixos durante os experimentos.

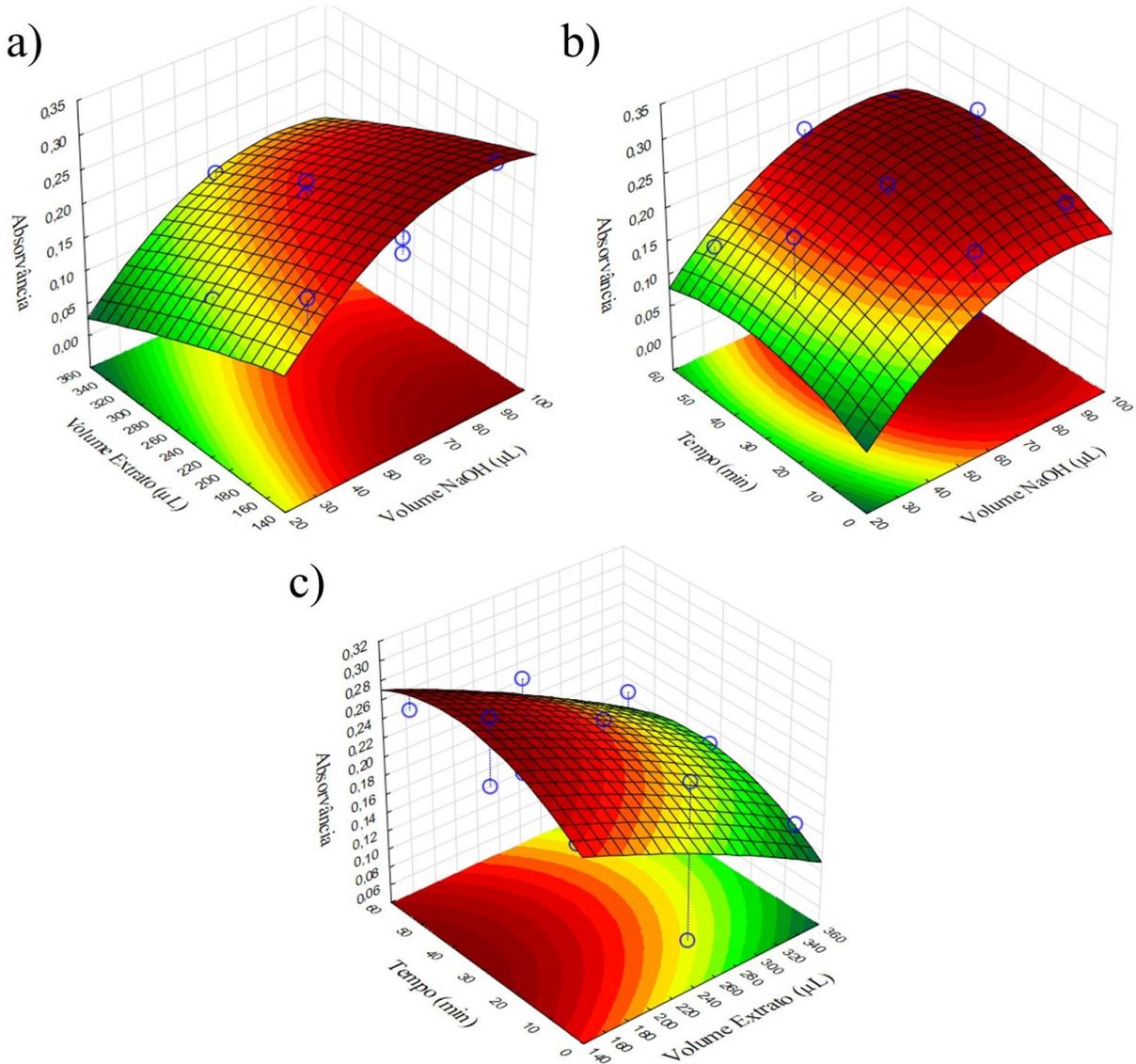
Tabela 5 - Variáveis codificadas e reais para otimização do preparo das nanopartículas de prata utilizando metodologia de superfície de resposta Box-Behnken

Experimento	Volume NaOH / $\mu\text{L}$	Volume Extrato / $\mu\text{L}$	Tempo de reação / min	Absorvância (410 nm)
1	30 (-1)	150 (-1)	30 (0)	0,2313
2	90 (+1)	150 (-1)	30 (0)	0,3015
3	30 (-1)	350 (+1)	30 (0)	0,0641
4	90 (+1)	350 (+1)	30 (0)	0,1745
5	30 (-1)	250 (0)	05 (-1)	0,0736
6	90 (+1)	250 (0)	05 (-1)	0,2416
7	30 (-1)	250 (0)	55 (+1)	0,1371
8	90 (+1)	250 (0)	55 (+1)	0,2396
9	60 (0)	150 (-1)	05 (-1)	0,2319
10	60 (0)	350 (+1)	05 (-1)	0,1445
11	60 (0)	150 (-1)	55 (+1)	0,2545
12	60 (0)	350 (+1)	55 (+1)	0,1765
13	60 (0)	250 (0)	30 (0)	0,2275
14	60 (0)	250 (0)	30 (0)	0,2497
15	60 (0)	250 (0)	30 (0)	0,2210

Fonte: a autora (2023)

A partir dos valores de absorvância obtidos em experimento, foi possível gerar três superfícies de resposta. A Figura 9 ilustra as superfícies obtidas para seleção das condições ótimas de preparo das ST-AgNPs.

Figura 9 - Superfícies de resposta obtidas a partir do Box-Behnken para determinar condições ótimas de preparo de ST-AgNPs onde (a) Volume de extrato vs. Volume de NaOH, (b) Tempo vs. Volume de extrato, (c) Tempo vs. Volume NaOH.



Fonte: a autora (2023).

É possível observar que, nas superfícies geradas, há regiões que indicam o aumento da absorção da banda, não sendo notados regiões de mínimo. Na Figura 9a, com relação ao volume de NaOH, é possível observar que no ponto -1 (30  $\mu\text{L}$ ) há uma diminuição da absorção da banda, enquanto no ponto +1 (90  $\mu\text{L}$ ), há seu aumento. Já com relação ao volume de extrato, no ponto -1 (150  $\mu\text{L}$ ) há o aumento da absorção e no +1 (350  $\mu\text{L}$ ) há a diminuição da mesma. O mesmo padrão se mantém para as Figuras 8b e 8c com relação a estes parâmetros. Com relação ao tempo de aquecimento, pode-se notar um aumento da absorção da banda na região próxima ao ponto 0 (30 min), decaindo levemente nos pontos +1 (55 min) e -1 (5 min), não mostrando grande influência na absorção. Assim, é possível identificar as condições

aproximadas que geram maior absorção da banda. De acordo com a análise de variância (ANOVA), o volume de NaOH e o volume de extrato são significativos (com valor de  $p < 0,05$ ) com relação a resposta de absorvância máxima da banda plasmônica, a um nível de confiança de 95%. Ainda, é possível observar que o volume de NaOH tem maior influência se comparado ao volume de extrato utilizado. O tempo de aquecimento não demonstrou influência significativa na resposta da absorvância, com valor de  $p > 0,05$ , no mesmo nível de confiança (95%). A Tabela 6 mostra os pontos críticos obtidos a partir das superfícies de resposta.

Tabela 6 - Pontos críticos gerados pelas superfícies de resposta

Fator	Mínimo	Critico	Máximo
Volume NaOH / $\mu\text{L}$	30,0	84,6	90,0
Volume extrato / $\mu\text{L}$	150,0	-271,9	350,0
Tempo de aquecimento / min	5,0	37,1	55,0

Fonte: a autora (2023)

Dessa forma, observando as superfícies geradas, bem como os valores críticos apontados pelas mesmas, foi optado por utilizar um valor próximo ao valor crítico obtido para tempo de aquecimento (30 min). O volume de extrato utilizado apresentou efeito negativo em relação a intensidade de absorção da banda plasmônica, ou seja, quanto menor o volume do extrato, maior o valor da absorvância da banda. Contudo, o extrato é um fator importante tanto para estabilidade quanto para a sensibilidade do sensor colorimétrico, havendo necessidade de utilizá-lo para o preparo das ST-AgNPs. Assim, o volume mínimo de extrato (150  $\mu\text{L}$ ) foi selecionado para o preparo das ST-AgNPs.

Por fim, o volume de NaOH apresentou efeito positivo em relação a absorvância, ou seja, quanto maior o volume de NaOH, maior o valor da absorvância da banda plasmônica. A partir do ponto crítico gerado com base nas superfícies de resposta, para o volume de NaOH, foi optado por utilizar 80  $\mu\text{L}$  do mesmo. A interação positiva do NaOH é coerente com os dados obtidos por Bhagat e colaboradores (2021), onde os autores observaram que, em pH mais alcalino, há maior absorvância da banda de absorção das AgNPs obtidas a partir de extrato aquoso de *Citrus japonica*. A Tabela 7 mostra os resultados obtidos pela ANOVA das superfícies de respostas geradas, com valor de confiança de 95% e coeficiente de determinação de 0,94537, indicando que aproximadamente 94% dos dados são explicados pelo modelo utilizado.

Tabela 7 - Resultados da ANOVA das superfícies de respostas geradas ( $r^2 = 0,94537$ )

Fator	SQ	gl	MQ	Valor de F	Valor de P
(1) Volume NaOH L + Q	0,029800	2	0,014900	65,79529	0,014971
(2) Volume Extrato L + Q	0,026516	2	0,013258	58,54343	0,016794
(3) Tempo de reação L + Q	0,004063	2	0,002032	8,97082	0,100293
1*2	0,000404	1	0,000404	1,78400	0,313372
1*3	0,001073	1	0,001073	4,73614	0,161493
2*3	0,000022	1	0,000022	0,09754	0,784353
Falta de ajuste	0,003090	3	0,001030	4,54802	0,185500
Erro puro	0,000453	2	0,000226		
Total SS	0,064856	14			

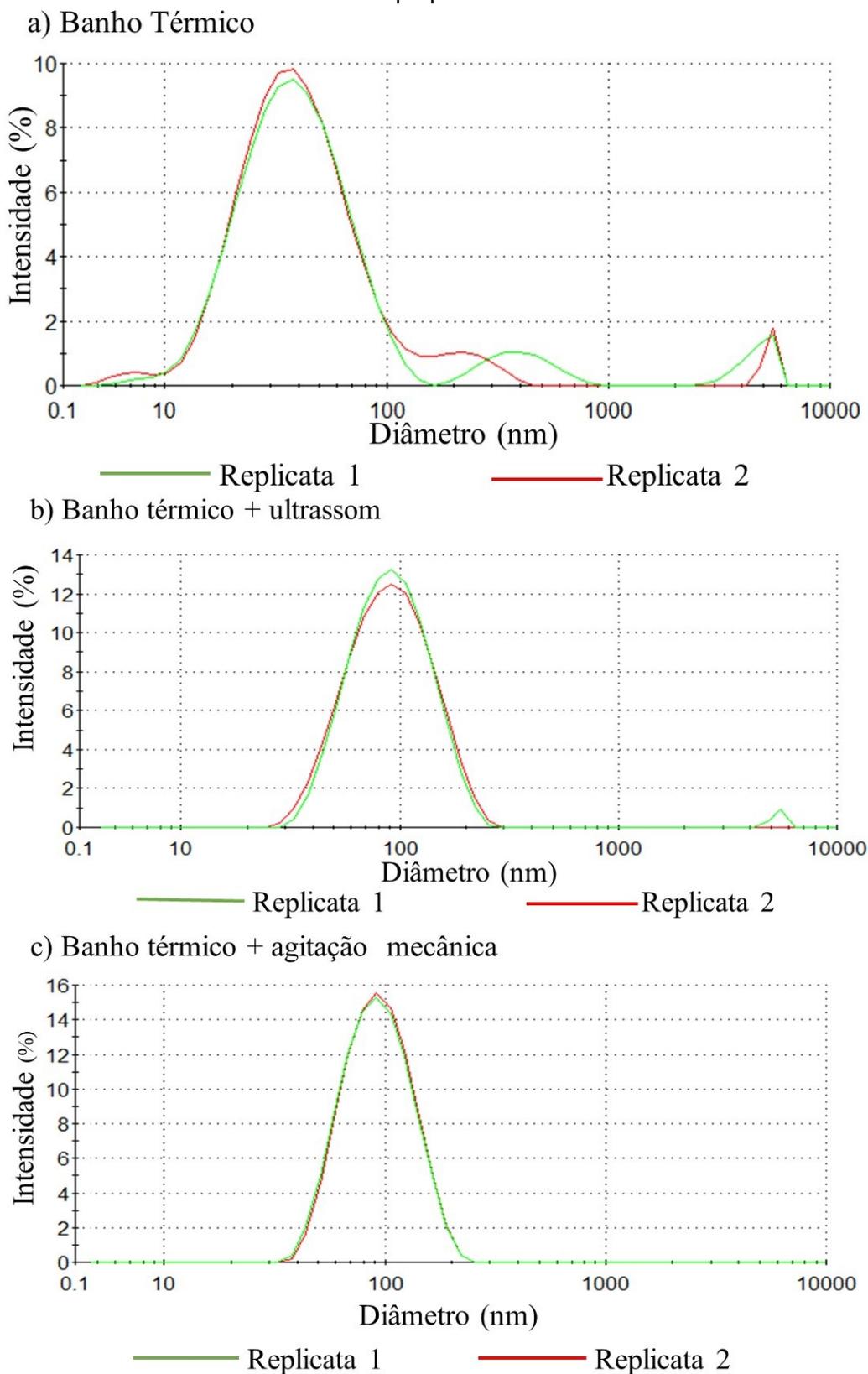
L: linear; Q: quadrático; SQ: soma dos quadrados; gl: graus de liberdade; MQ: média dos quadrados. Fonte: a autora (2023).

Dessa forma, considerando os fatores avaliados, as condições de síntese escolhidas para que fosse obtida maior intensidade da banda de absorção das ST-AgNPs, sem que houvesse perdas na resposta do sensor colorimétrico, foram de 80  $\mu\text{L}$  de NaOH ( $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ ), 150  $\mu\text{L}$  do extrato de folhas de *S. terebinthifolius* e 250  $\mu\text{L}$  de  $\text{AgNO}_3$  ( $0,01 \text{ mol L}^{-1}$ ) sob agitação a 80 °C durante 30 min.

#### 4.2.3 Influência do preparo das nanopartículas: diâmetro hidratado e polidispersão.

Para avaliar a influência do tipo de agitação sobre a polidispersão das ST-AgNPs produzidas, foi utilizada a técnica de espalhamento dinâmico de luz (DLS). Foram avaliados três formas diferentes de preparo de ST-AgNPs: Preparo 1 - aquecimento em banho térmico sem agitação (Figura 10a); Preparo 2 - aquecimento em banho de ultrassom (Figura 10b); Preparo 3 - aquecimento em banho térmico utilizando béquer encamisado, sob agitação por chapa magnética (Figura 10c).

Figura 10 - Diâmetro médio e polidispersão de ST-AgNPs obtidas com diferentes modos de preparo



Fonte: a autora (2023).

Os valores médios de polidispersão para o preparo 1 foram de 0,354, para o preparo 2 de 0,271 e para o preparo 3 de 0,239 (Tabela 8). De acordo com ANOVA unifatorial realizada, com 95% de confiança, houve diferença significativa entre os valores de polidispersão obtidos do preparo 1 em comparação aos demais, com valor de  $p < 0,05$ . Avaliando a polidispersão das ST-AgNPs entre os preparos 2 e 3, não houve diferenças significativas conforme a ANOVA unifatorial com intervalo de confiança de 95%. Os valores de  $p > 0,05$ , indicam que os preparos possuem desempenho similar na produção das ST-AgNPs.

Os valores médios de diâmetro hidratado com maior frequência foram de 43 nm para o preparo 1, 83 nm para o preparo 2 e 82 nm para o preparo 3. A ANOVA unifatorial realizada também indicou diferença significativa entre os valores de diâmetros obtidos do preparo 1 para os demais, a um nível de confiança de 95%, não indicando diferenças significativas entre os preparos 2 e 3. Assim, é possível afirmar que há influência da agitação nos fatores de polidispersão e diâmetro hidratado da nanopartícula. A Tabela 8 relaciona os parâmetros avaliados com seus respectivos modos de preparo.

Tabela 8 – Influência dos modos de preparo das nanopartículas de prata na sua polidispersão e diâmetro hidratado, onde (a) diferença significativa e (b) diferença não significativa de acordo com ANOVA unifatorial

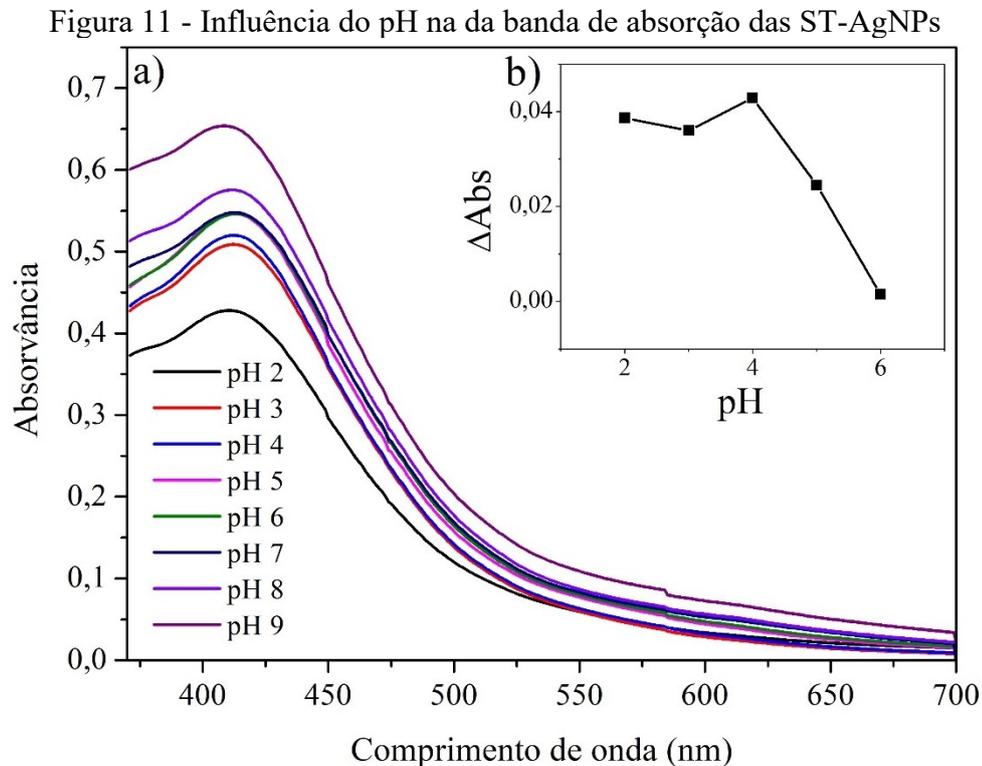
	Polidispersão média	Diâmetro médio (nm)
Preparo 1	0,354 <sup>a</sup>	43 <sup>a</sup>
Preparo 2	0,271 <sup>b</sup>	83 <sup>b</sup>
Preparo 3	0,239 <sup>b</sup>	82 <sup>b</sup>

Fonte: a autora (2023).

Com base nos valores de polidispersão e diâmetro hidratado, bem como no custo operacional e facilidade dos preparos, foi optado por utilizar o preparo 3, com agitação mecânica referente a chapa magnética. Hasnain e colaboradores (2019) obtiveram valores de polidispersão semelhantes após a otimização do preparo de AgNPs, por meio de superfícies de resposta obtida pelo design Box-Behnken. O menor valor de polidispersão encontrado pelos autores foi de 0,15, após a otimização das condições por meio das superfícies de respostas geradas. Ali e colaboradores (2021) obtiveram dados de diâmetro hidratado semelhantes, onde os autores produziram nanopartículas de prata com extrato de *Tradescantia pallida* com diâmetro de 98 nm. Dessa forma, os resultados utilizando agitação mecânica por chapa magnética podem ser considerados satisfatórios.

#### 4.2.4 Influência do pH

O efeito do pH sobre a absorvância e variação da absorvância da banda de absorção das ST-AgNPs na presença de Hg é mostrado na Figura 11a. Foi observado que a influência do valor de pH sobre a absorvância da banda é positiva onde, quanto mais alcalino o sistema, maior é a intensidade da banda. O efeito do pH sobre a intensidade da banda de absorção das AgNPs corrobora com a pesquisa realizada por Annadhasan e colaboradores (2014). Os autores concluíram que, para AgNPs funcionalizadas com L-tirosina, o valor de pH é diretamente proporcional a absorvância, onde, o aumento do pH resulta no aumento da absorvância das AgNPs.



(a) Banda de absorção das ST-AgNPs em diferentes pHs; (b) variação da absorvância máxima da banda de absorção na presença de íons  $\text{Hg}^{2+}$ . Fonte: a autora (2023).

Contudo, considerando o objetivo de produzir um sensor colorimétrico para determinação de  $\text{Hg}^{2+}$ , há um limite a se considerar na alcalinidade do meio. Por conta da natureza do analito, que tende a formar  $\text{Hg}(\text{OH})_{2(s)}$  na presença de íons  $\text{OH}^-$ , é necessário manter o pH em valores inferiores a 7. Assim, apesar da absorvância da banda de absorção ser maior em meio alcalino, dado a condição do sensor ser sensível a íons  $\text{Hg}^{2+}$ , o pH alcalino não é adequado.

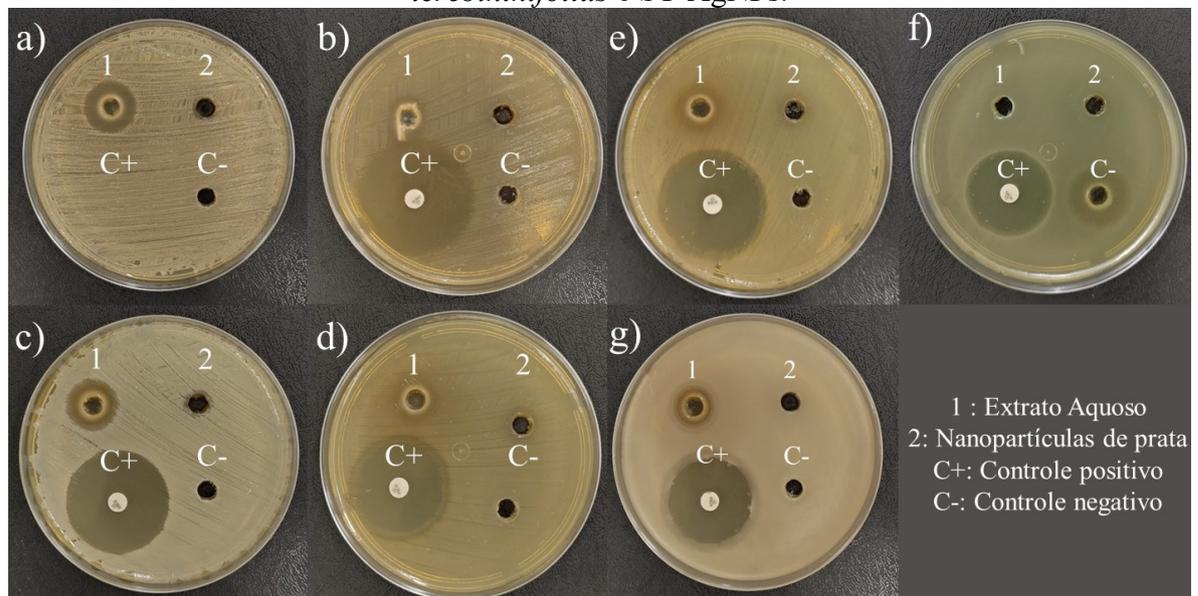
Além da absorvância ser observada em diferentes valores de pH, a variação da mesma na presença de íons  $\text{Hg}^{2+}$  também foi avaliada. Para tal, o valor do pH do sistema variou de 2 a

6, avaliando-se os espectros do sistema contendo apenas as ST-AgNPs e contendo ST-AgNPs +  $\text{Hg}^{2+}$  ( $0,5 \text{ mg L}^{-1}$ ). A variação da absorvância máxima observada na ausência e na presença de  $\text{Hg}^{2+}$  é apresentada na Figura 11b. Assim, observa-se que o pH 4 foi o que proporcionou a maior variação da absorvância, optando-se então por utilizar uma solução tampão também em pH 4 para diluição das ST-AgNPs, visando posterior determinação do analito em amostras aquosas. Dessa forma, se espera que não haja a formação de espécies que causem interferência na determinação de  $\text{Hg}^{2+}$ , além de se obter a condição de pH que proporcione a maior sensibilidade do sensor colorimétrico ao analito.

#### 4.2.5 Atividade antibacteriana

A atividade antibacteriana do o extrato de folhas de *S. terebinthifolius* e ST-AgNPs foi avaliada para 6 bactérias e, adicionalmente, 1 fungo (Figura 12). Nas placas obtidas no teste de inibição, foi possível observar que para as bactérias *S. aureus*, *L. monocytogenes*, *B. cereus* e para o fungo *C. albicans* houve a presença do halo de inibição. A Tabela 9 relaciona os microrganismos com suas respostas a presença do extrato e das ST-AgNPs.

Figura 12 - Respostas dos microrganismos a presença de extrato aquoso de folhas de *S. terebinthifolius* e ST-AgNPs.



(a) *C. albicans*; (b) *L. monocytogenes*; (c) *S. aureus*; (d) *S. typhimurium*; (e) *E. coli*; (f) *P. aeruginosa*; (g) *B. cereus*. Fonte: compilado pela autora (2023).

Tabela 9 - Relação microrganismos e halo de inibição para extrato de folhas de *S. terebinthifolius* e ST-AgNPs obtidas a partir deste extrato.

Microrganismo	ATCC	Diâmetro halos de inibição (mm)	
		Extrato	ST-AgNP
<i>Escherichia coli</i>	25922	SI	SI
<i>Staphylococcus aureus</i>	25923	12	11
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	27853	SI	SI
Salmonella Thyphimurium	14028	SI	SI
<i>Listeria monocytogenes</i>	19111	12	10
<i>Bacillus cereus</i>	10876	12	11
<i>Candida albicans</i>	10231	16	10

SI: Sem Inibição. ATCC: *American Type Culture Collection*. Fonte: compilado pela autora (2023).

Os halos de inibição do extrato aquoso se mostraram levemente maiores quando comparado aos halos ocasionados pelas ST-AgNPs. Dentre os halos obtidos, o com maior diâmetro de inibição foi o gerado pelo fungo *Candida albicans*. Essa resposta ao extrato do fungo causador da candidíase, é coerente aos dados levantados pelo Governo Federal Brasileiro na Relação Nacional de Medicamentos Essenciais (RENAME) (2015), onde o uso ginecológico do extrato alcoólico de folhas de *S. terebinthifolius* é indicado.

Esperava-se que um maior halo de inibição fosse obtido na presença de ST-AgNPs, devido a sua ação antibacteriana amplamente conhecida, contudo os dados indicaram menor inibição das ST-AgNPs quando comparadas ao extrato aquoso de *S. terebinthifolius*. A hipótese de que, a resposta do teste foi possivelmente afetada pela difusão das nanopartículas no ágar, foi levantada. Considerando que a técnica escolhida depende desse parâmetro onde, em geral, a difusão do agente antibacteriano no meio causa a formação do halo de inibição, a baixa difusão pode levar a uma resposta falsa negativa (BALOUIRI; SADIKI; IBNSOUDA, 2016). Dessa forma, a fim de se verificar a hipótese da baixa difusão das ST-AgNPs no ágar, optou-se por realizar a análise por microdiluições em poços. O teste permite a quantificação da ação antibacteriana das amostras onde as mesmas devem se difundir em um sistema aquoso (Tabela 10).

Tabela 10 - Relação entre redução do crescimento bacteriano proporcionado pelo extrato aquoso e as nanopartículas de prata.

Amostra	UFC mL <sup>-1</sup>		Redução	
	branco	amostra	log	%
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922				
Extrato aquoso	2,2×10 <sup>9</sup>	8,8×10 <sup>8</sup>	0,40	60,00
Nanopartícula de Prata	2,2×10 <sup>9</sup>	5,1×10 <sup>8</sup>	0,63	76,82
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC				
Extrato aquoso	7,2×10 <sup>8</sup>	6,3×10 <sup>6</sup>	2,06	99,125
Nanopartícula de Prata	7,2×10 <sup>8</sup>	1,6×10 <sup>9</sup>	-0,36	SR
<i>Listeria monocytogenes</i> ATCC 19111				
Extrato aquoso	2,1×10 <sup>8</sup>	3,3×10 <sup>6</sup>	1,80	98,41
Nanopartícula de Prata	2,1×10 <sup>8</sup>	7,7×10 <sup>7</sup>	0,43	62,80
<i>Candida albicans</i> ATCC 10231				
Extrato aquoso	4,1E×10 <sup>7</sup>	2,0×10 <sup>4</sup>	3,31	99,95
Nanopartícula de Prata	4,1×10 <sup>7</sup>	2,9×10 <sup>8</sup>	-0,85	SR
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923				
Extrato aquoso	3,7×10 <sup>9</sup>	1,0×10 <sup>5</sup>	4,57	99,99
Nanopartícula de Prata	3,7×10 <sup>9</sup>	1,3×10 <sup>9</sup>	0,45	64,77
<i>Bacillus cereus</i> ATCC 10876				
Extrato aquoso	4,3×10 <sup>7</sup>	9,0×10 <sup>-1</sup>	7,68	100,00
Nanopartícula de Prata	4,3×10 <sup>7</sup>	2,4×10 <sup>6</sup>	1,25	94,42

SR: Sem Redução. Fonte: compilado pela autora (2023).

Com os resultados do teste de microdiluições em poços, é possível observar que o extrato aquoso de folhas de *S. terebinthifolius* manteve seu potencial antibacteriano evidente, onde as porcentagens de redução variaram entre 98,4 e 100%. Além disso, as ST-AgNPs tiveram um desempenho antibacteriano, na sua maioria, menor que com relação ao extrato aquoso, com exceção para *E. coli*. A *E. coli* foi a única bactéria gram negativa do grupo avaliado, onde foi observado aumento da atividade antibacteriana das ST-AgNPs quando comparado ao extrato. Dessa forma, a atividade antibacteriana das nanopartículas pode estar atrelada as particularidades da parede celular dos microrganismos.

Além disso, a morfologia das nanopartículas pode interferir na atividade antibacteriana. No trabalho realizado por Pal, Tak e Song (2007), os autores avaliaram a

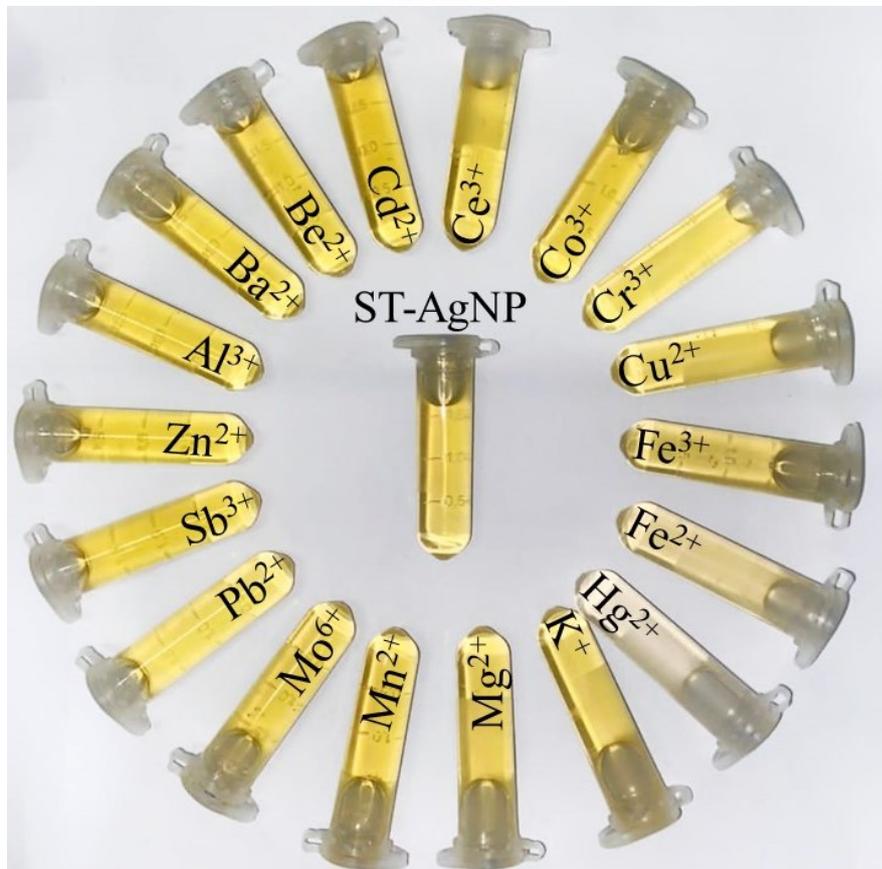
atividade antibacteriana de nanopartículas de prata que apresentavam diferentes morfologias frente a cultura de bactérias gram-negativas *E. coli*. Os autores observaram que AgNPs com morfologia triangular tem atividade antibacteriana mais pronunciada quando comparada com as AgNPs esféricas. Dessa forma, outro fator que pode ter interferido na resposta antibacteriana das ST-AgNPs é sua morfologia.

### 4.3 SENSOR COLORIMÉTRICO

#### 4.3.1 Variação de absorvância da banda de absorção

A presença das ST-AgNPs pode ser observada, a olho nu, pela coloração amarela da dispersão aquosa formada pelas ST-AgNPs. A alteração dessa cor é uma evidência de que há alterações na absorvância da banda de absorção. Dessa forma, o sistema nanoparticulado foi exposto a presença de diferentes íons metálicos, a fim de avaliar sua mudança de cor, a partir da variação da absorvância da banda. A Figura 13 mostra a aparente redução na intensidade de cor nos sistemas com a presença dos íons  $\text{Hg}^{2+}$ ,  $\text{Fe}^{2+}$ , onde há uma redução visível na intensidade da cor amarela, indicando a sensibilidade das ST-AgNPs a estas espécies.

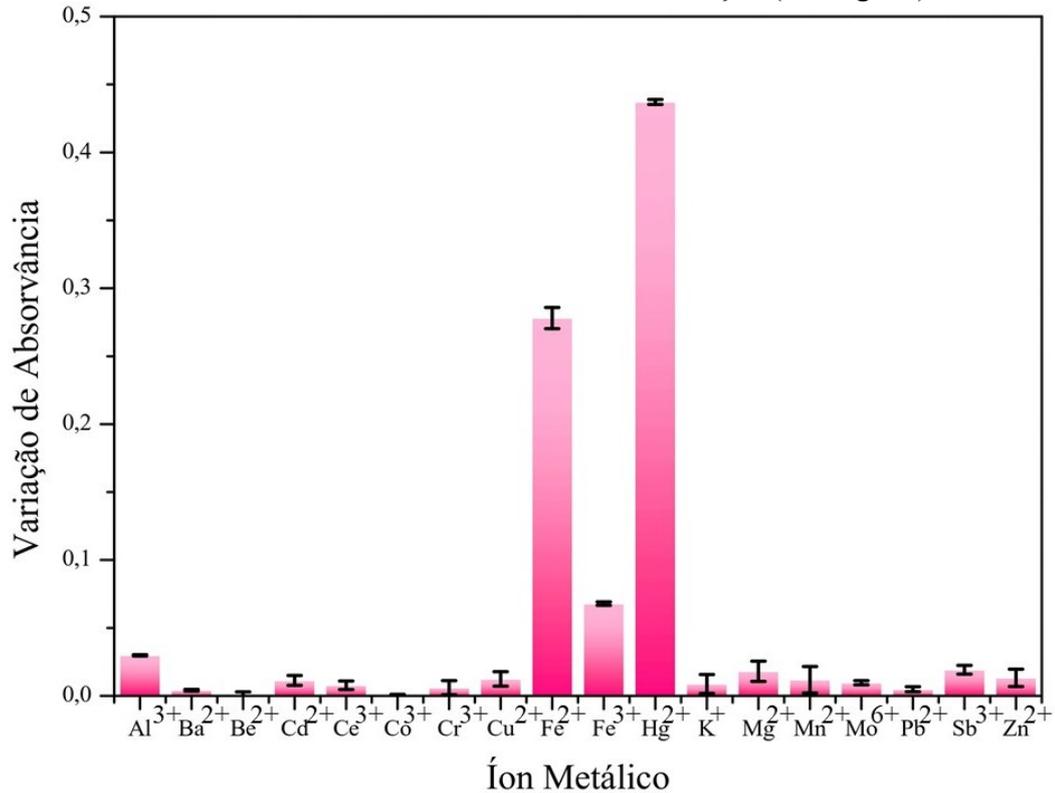
Figura 13 - Mudanças de coloração do sistema com ST-AgNPs na presença de diferentes íons metálicos



Fonte: a autora (2023).

Por meio da espectrometria UV-Vis, observa-se a presença da variação da absorvância das ST-AgNPs em 410 nm, especialmente na presença dos íons metálicos  $\text{Hg}^{2+}$  e  $\text{Fe}^{2+}$ . A Figura 14 mostra a relação entre a variação da absorvância das ST-AgNPs na presença de diferentes íons metálicos.

Figura 14 - Variação da absorvância da banda de absorção das ST-AgNPs na presença de diferentes íons metálicos de mesma concentração ( $1,0 \text{ mg L}^{-1}$ ).



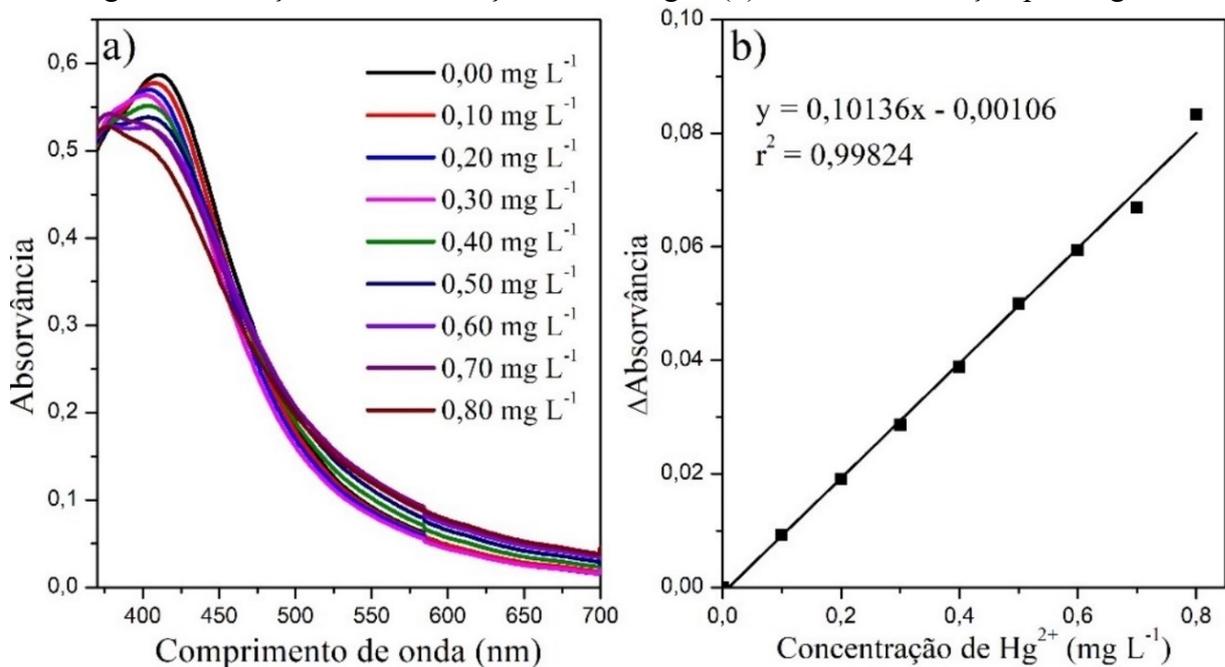
Fonte: a autora (2023)

Com base na supressão da banda de absorção ocasionada pela presença de íons  $\text{Hg}^{2+}$ , foi avaliada a linearidade da resposta do sensor em função da concentração ( $\text{mg L}^{-1}$ ) do analito no sistema (Figura 15a). A partir da variação de absorvância foi possível obter uma curva de calibração (Figura 15b) com equação linear de  $y = 0,10136x - 0,00106$ , com coeficiente de correlação de  $R^2 = 0,99824$ . Nessas condições, foram obtidos, limite de detecção (LOD) de  $1,50 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$  ( $0,03 \text{ mg L}^{-1}$ ) e limite de quantificação (LOQ) de  $5,00 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$  ( $0,1 \text{ mg L}^{-1}$ ).

Os limites de detecção e quantificação podem ser adequados para determinação de Hg em amostras as quais espera-se altas concentrações do metal. Um exemplo são amostras de material particulado oriundas de reservatórios de resíduos industriais, como o reservatório Flix localizado na Espanha. No trabalho realizado por Palanques e colaboradores (2020), os autores

encontraram concentrações de até  $173,69 \pm 10,39 \text{ mg kg}^{-1}$  em resíduos sólidos do reservatório norte. Além disso, a indústria metalúrgica, responsável pela produção de fio adiantados, utilizados para corte em granito, pode gerar resíduos aquosos ricos em  $\text{Hg}^{2+}$ . O trabalho de Sun e colaboradores (2023) determinou concentrações de  $71,62 \text{ mg L}^{-1}$  de  $\text{Hg}^{2+}$  em águas industriais utilizadas para produção de fios adiantados. Dessa forma, após o preparo adequado da amostra bruta, por meio de digestão, possivelmente seria viável determinar  $\text{Hg}^{2+}$  nas amostras utilizando o sensor colorimétrico proposto.

Figura 15 - Variação de absorvância da banda de absorção das ST-AgNPs na presença de íons  $\text{Hg}^{2+}$  e sua respectiva curva de calibração onde (a) Variação da absorvância máxima das ST-AgNPs em função da concentração de íons  $\text{Hg}^{2+}$ ; (b) curva de calibração para  $\text{Hg}^{2+}$ .



Fonte: a autora (2023).

Além da variação de absorvância, foi observado variação do comprimento de onda de máxima absorção, em no sentido de maior energia. Em geral, a formação de aglomerados pode deslocar a banda de absorção no sentido de um comprimento menor de onda, podendo ser observada a alteração de coloração, passando de vermelho para azul (TOMA et al., 2010). Assim, há indícios de que a presença de íons  $\text{Hg}^{2+}$  induzem a formação de aglomerados de ST-AgNPs.

É possível comparar os parâmetros de mérito do sensor colorimétrico produzido com relação aos trabalhos reportados na literatura. A Tabela 11 mostra a relação entre os diferentes sensores colorimétricos, o material base utilizado para sua produção, o analito determinado, bem como seus respectivos limites de detecção e coeficientes de determinação.

Tabela 11 - Relação entre sensor colorimétrico, modificadores, analito e limites de detecção

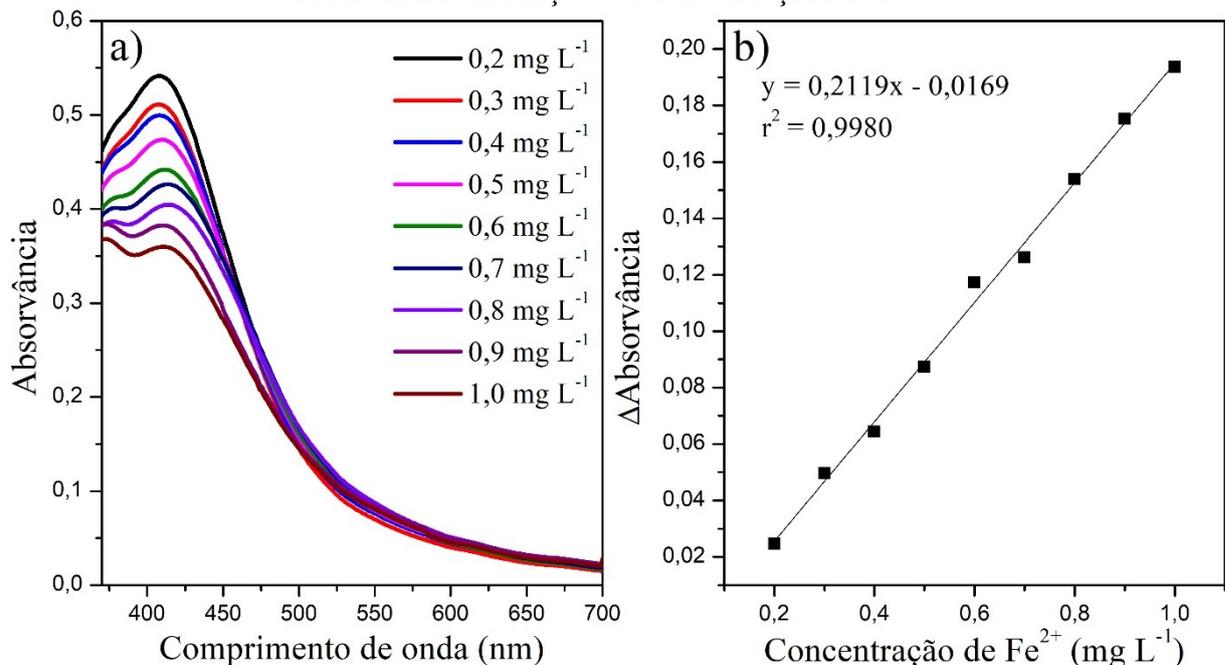
Sensor	Modificadores	Tipo de amostra	pH	LOD (mol L <sup>-1</sup> )	R <sup>2</sup>	Referência
Ouro	<i>Ananas comosus</i>	Água	NI	1,20×10 <sup>-4</sup>	0,9889	Rajam et al. (2017)
Ouro	Glutaciona	Água	7,0	1,29×10 <sup>-6</sup>	0,9887	Jiang et al. (2022)
Ouro	2-tiazolina-tiol	Água	6,7	5,00×10 <sup>-7</sup>	0,9946	Chadha et al. (2021)
Ouro	Sulfadiazina	Água	6,0	3,55×10 <sup>-7</sup>	0,9940	Liu et al. (2023)
Ouro	Ácido 11-Mercaptoundecanóico	Água	8,0 e 5,0	3,00×10 <sup>-7</sup>	0,9912	Chen et al. (2015)
Prata	Ácido gama-aminobutírico	Água	3,0	2,37×10 <sup>-6</sup>	0,9911	Saenchoopa et al. (2021)
Prata	L-tirosina	Água	NI	2,20×10 <sup>-6</sup>	0,9968	Farhadi et al. (2012)
Prata	<i>Agaricus bisporus</i>	Água	6,0	2,10×10 <sup>-6</sup>	0,9987	Sebastian et al. (2018)
Prata	Extrato de maçã	Água	4,0	1,28×10 <sup>-6</sup>	0,9962	Kumar et al. (2021)
Prata	Polietilenoglicol	Água	6,0 a 10,0	9,70×10 <sup>-7</sup>	0,9924	Qing et al. (2018)
Prata	<i>p</i> -phenylenediamine	Água	4,0	8,01×10 <sup>-7</sup>	0,9972	Bothra et al. (2013)
Prata	Benzotrazona	Água	2 ,0a 12,0	3,30×10 <sup>-7</sup>	0,9903	Ali et al. (2021)
Prata	<i>Masing indica</i>	Água	10,0	1,29×10 <sup>-7</sup>	0,9900	Hai et al. (2022)
Prata	<i>Citrus japônica</i>	Água	7,0	9,00×10 <sup>-8</sup>	0,9990	Bhagat et al. (2021)
Prata	Cisteína	Água	7,0	4,54×10 <sup>-8</sup>	0,9940	Samuel et al. (2023)
Prata	<i>Schinus terebinthifolius</i>	Água e Fluido de perfuração	4,0	1,50×10 <sup>-7</sup>	0,9982	Presente trabalho

NI: Não Informado. Fonte: a autora (2023).

Pode-se observar que, o LOD obtido neste presente trabalho é menor que a maior parte dos trabalhos apresentados na Tabela 11, sendo um valor adequado para determinação de  $\text{Hg}^{2+}$ . Além disso, é possível observar a semelhança nos valores do coeficiente de determinação dos modelos lineares ( $r^2$ ), indicando que o ajuste do modelo linear é coerente com os ajustes encontrados na literatura.

A variação da absorvância da banda foi também avaliada para a presença de íons  $\text{Fe}^{2+}$  (Figura 16a). A partir da variação da absorvância foi possível obter uma curva de calibração para determinação de  $\text{Fe}^{2+}$ , uma vez que a banda de absorção das ST-AgNPs também responde de maneira linear ao aumento da concentração de  $\text{Fe}^{2+}$  (Figura 16b). Os LODs e LOQs obtidos foram de  $8,74 \times 10^{-7}$  e  $2,91 \times 10^{-6}$   $\text{mol L}^{-1}$  respectivamente. Salimi e colaboradores (2018) obtiveram valores de LOD e LOQ semelhantes. Os autores prepararam um sensor colorimétrico a base de nanopartículas de ouro visando a determinação de íons  $\text{Cr}^{3+}$  e  $\text{Fe}^{2+}$ , onde os valores de LOD foram de  $2,37 \times 10^{-8}$  e  $1,21 \times 10^{-8}$   $\text{mol L}^{-1}$  respectivamente. Dessa forma, é possível observar que o LOD obtido pelo sensor proposto também é adequado para determinação de  $\text{Fe}^{2+}$ .

Figura 16 - Variação de absorvância máxima da banda plasmônica na presença de íons  $\text{Fe}^{2+}$  e seu curva de calibração onde (a) Variação da absorvância máxima da banda plasmônica na presença de diferentes concentrações de  $\text{Fe}^{2+}$ ; (b) Curva de calibração obtida pela variação da absorvância em função das concentrações de  $\text{Fe}^{2+}$ .



Fonte: a autora (2023).

### 4.3.2 Caracterização por FTIR

A análise de infravermelho foi utilizada para verificar a presença de compostos do extrato nas nanopartículas produzidas, além de verificar a influência de  $\text{Hg}^{2+}$  nas ligações dos compostos, para nortear a forma como o sensor colorimétrico interage com o analito. Dessa forma, a análise foi realizada em uma amostra contendo apenas o extrato de folhas, uma amostra de ST-AgNPs e outra ST-AgNPs +  $\text{Hg}^{2+}$  (Tabela 12e Figura 17).

Tabela 12 - Estiramentos de ligações e seus respectivos números de onda

Número de onda ( $\text{cm}^{-1}$ )	Ligações
3394	C – H
1703	C = O
1620	C = C (conjugada)
1497	C = C (aromática)
1227	C – O (éster)
1042	C – O (álcool)
424	Hg – O

Fonte: a autora (2023).

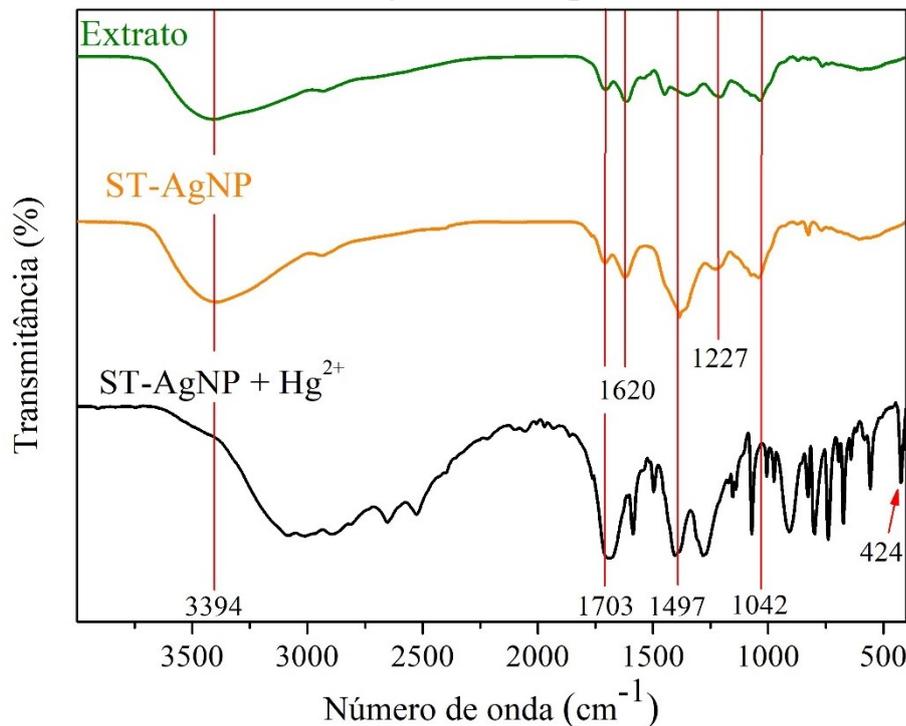
É possível notar semelhanças nos espectros obtidos das três amostras: em torno de  $3394 \text{ cm}^{-1}$  há a presença da banda referente ao estiramento de ligações O-H e em  $1703 \text{ cm}^{-1}$ , há a banda referente as ligações C=O. Considerando os dados obtidos por HPLC-MS/MS, o composto fenólico encontrado no extrato com maior concentração é o ácido gálico, que possui em sua molécula um grupo ácido carboxílico. Assim, é coerente que haja a presença da banda referente tanto a ligação O-H quanto a C=O. Também é possível notar um deslocamento de ambas as bandas em direção a um número de onda menor na presença de  $\text{Hg}^{2+}$ , indicando que as ligações O-H e C=O enfraqueceram, indicando que o analito interagem com as ST-AgNPs por meio de interações Hg-O.

Em torno de  $1620 \text{ cm}^{-1}$ , há a presença da banda estiramento de ligações C=C conjugadas. Os dados das análises de fenólicos totais e DPPH, indicaram alta atividade antioxidante do extrato devido a presença de compostos fenólicos, é coerente a presença dessa banda. Em aproximadamente  $1497 \text{ cm}^{-1}$ , nota-se uma banda que indica estiramento de ligações C=C aromáticas em todas as amostras, indicando que o extrato continua presente após a produção de ST-AgNPs. Houve um leve deslocamento da mesma banda quando comparado os espectros do extrato em relação ao das ST-AgNPs na presença e ausência de  $\text{Hg}^{2+}$  em direção a um maior

número de onda, indicando que a ligação se tornou mais forte na presença de nanopartículas com relação ao extrato.

Em  $1227\text{ cm}^{-1}$ , a banda que indica a presença de estiramento de ligações C-O de éteres aromáticos, foi evidenciada nas amostras de extrato e ST-AgNPs, sendo mais um indício de que compostos do extrato estão presentes na superfície das ST-AgNPs. No espectro em torno de  $1042\text{ cm}^{-1}$ , há a presença da banda referente a C-O, geralmente de álcoois primários. É possível observar que no espectro referente a amostra ST-AgNPs +  $\text{Hg}^{2+}$  houve um deslocamento da banda, indicando um enfraquecimento da ligação. Assim, novamente a hipótese de o metal interagir por meio dos oxigênios das moléculas, se faz coerente. Por fim, é importante destacar que há a formação de uma nova banda em  $424\text{ cm}^{-1}$  na amostra ST-AgNPs +  $\text{Hg}^{2+}$ . De acordo com Gaur e colaboradores (2018), essa nova banda gerada é referente a interações Hg-O, corroborando com os deslocamentos observados nas ligações C=O observada em  $1703\text{ cm}^{-1}$  e C-O em  $1042\text{ cm}^{-1}$  na presença do analito.

Figura 17 - Comparação entre espectros FTIR de amostras contendo extrato de folhas, nanopartículas e  $\text{Hg}^{2+}$



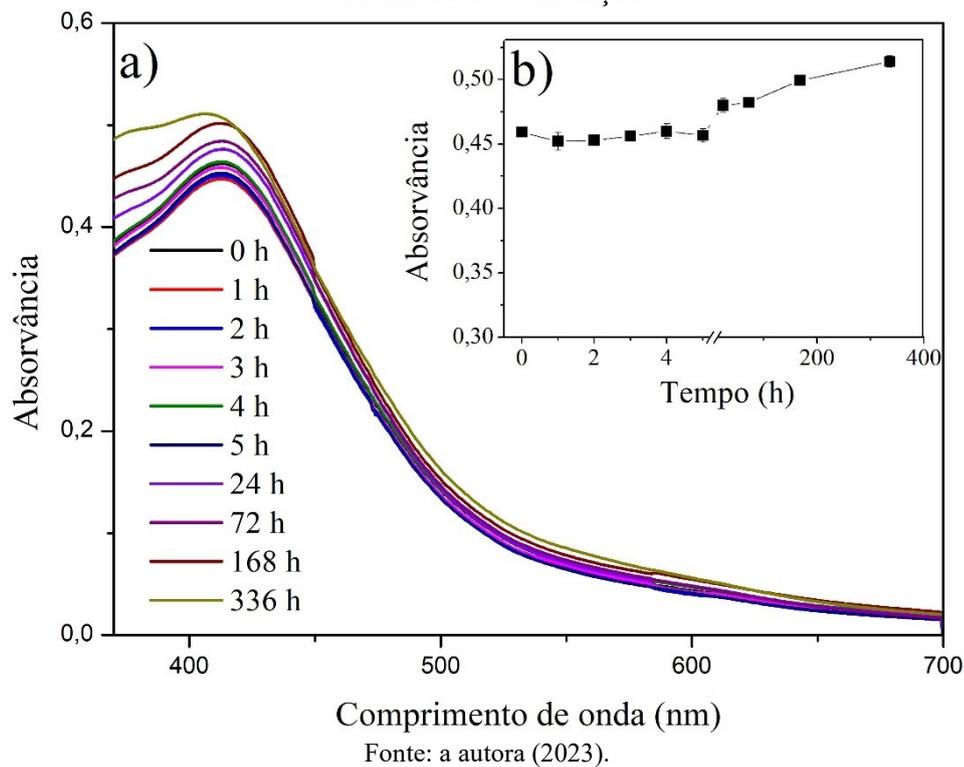
Considerando a composição do extrato, rica em compostos fenólicos, se tem a indicação de que a interação entre o analito e o sensor colorimétrico pode ocorrer por meio da interação Hg-O. De acordo com trabalho realizado por Dong e colaboradores (2013), a interação entre o metal e o oxigênio não é exclusiva do grupo hidroxila presente nos compostos

fenólicos. É possível também que o metal interaja com o grupo carbonila, onde seria coerente o enfraquecimento da ligação C=O observado no espectro. Dessa forma, há indícios de que não somente grupos fenólicos podem ser utilizados para adsorção química do metal, mas também grupos ácido carboxílicos.

#### 4.3.3 Estabilidade das ST-AgNPs e da resposta como sensor colorimétrico

Para verificar a estabilidade das ST-AgNPs e da resposta do sensor colorimétrico a presença de  $\text{Hg}^{2+}$ , uma amostra de ST-AgNP foi produzida e armazenada em ambiente refrigerado, com baixa exposição a luz. A banda de absorção foi monitorada na ausência (Figura 18) e presença de  $\text{Hg}^{2+}$  (Figura 19).

Figura 18 – Estabilidade das ST-AgNPs (a) absorvâncias entre 375 e 700 nm; (b) absorvância 411 nm de cada medição.

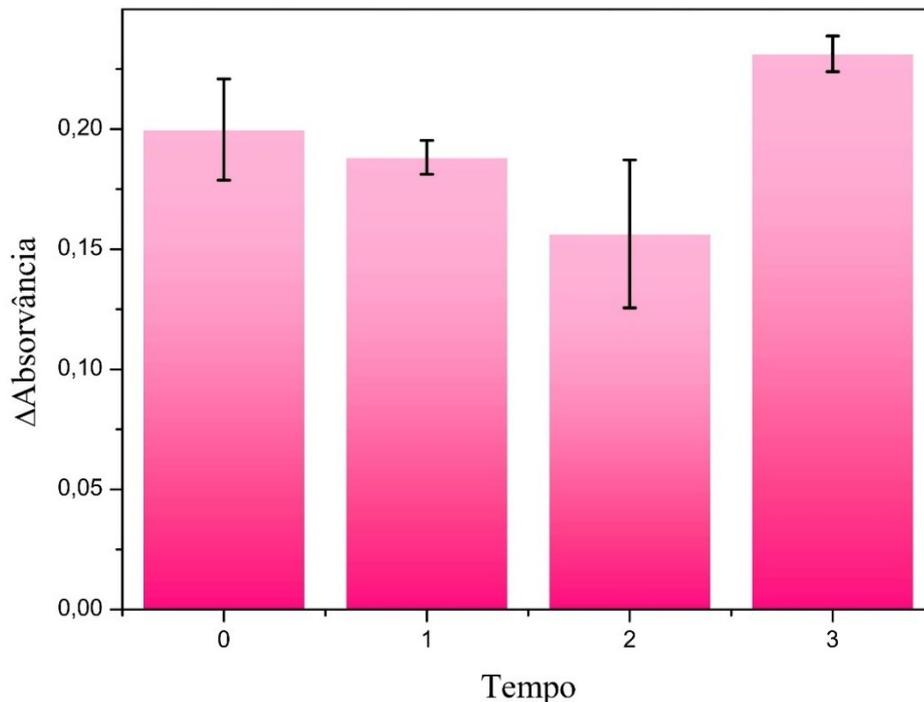


A ANOVA unifatorial realizada com os valores de absorvância máxima na ausência de  $\text{Hg}^{2+}$ , apontaram que em até 5 horas após seu preparo não há diferenças significativas a um nível de 95% de confiança. Nas medições subsequentes, há diferenças significativas de acordo com a nova ANOVA unifatorial realizada, também a um nível de 95% de confiança. Contudo, apesar da diferença de absorvância se mostrar significativa, é observado um fator positivo na sua variação, onde há o aumento da absorvância com o tempo (Figura 18b). Dessa forma, as

ST-AgNPs ainda se mostram estáveis, sugerindo a possibilidade de utilizá-las nos dias seguintes a sua síntese, não havendo perdas das ST-AgNPs. O trabalho de Bhagat e colaboradores (2021), avaliou a estabilidade de nanopartículas de prata produzidas a partir de extrato de folhas de *Citrus japonica*. Os autores observaram que, durante o tempo de 15 dias, não houve variação significativa entre as absorvâncias avaliadas, indicando que as nanopartículas se mantiveram estáveis.

Com relação a influência do tempo a resposta do sensor colorimétrico na presença de  $\text{Hg}^{2+}$ , conforme apresentado na Figura 19, a variação de absorção da banda causada pela presença de  $\text{Hg}^{2+}$  foi avaliada no dia de seu preparo (Tempo 0), no dia seguinte (Tempo 1), três dias após (Tempo 2) e 15 dias após seu preparo (Tempo 3).

Figura 19 – Resposta do sensor colorimétrico de ST-AgNPs para detecção de  $\text{Hg}^{2+}$  em função do tempo de armazenamento das ST-AgNPs



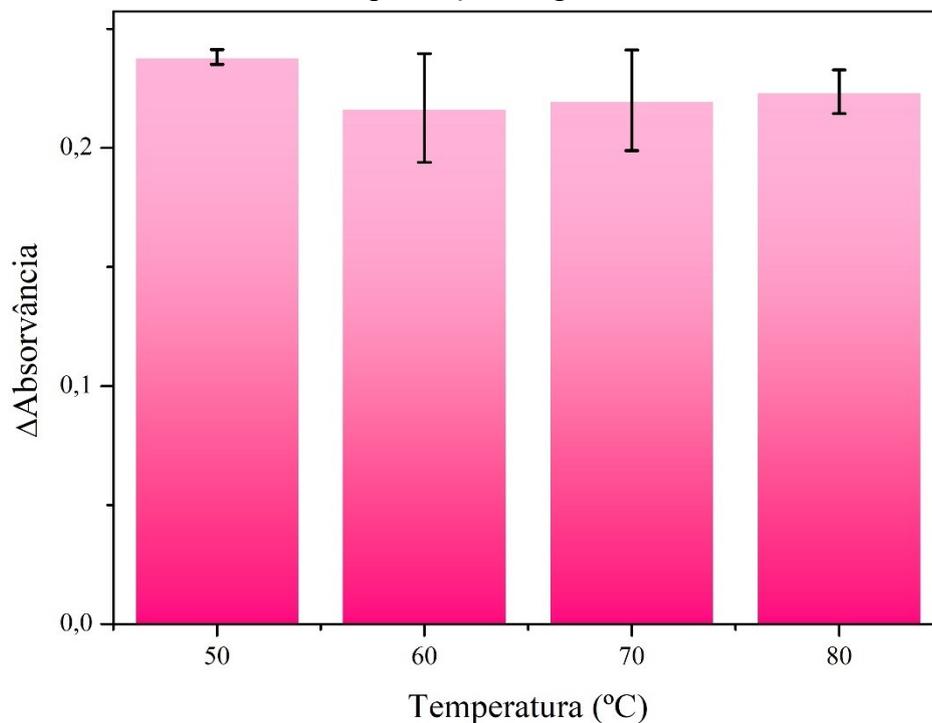
Onde: (0) 0 h; (1) 24 h; (2) 72 h; (3) 336 h. Fonte: a autora (2023).

De acordo com a ANOVA de um fator, com nível de confiança de 95%, entre o dia 0 e 15 houve diferença significativa na variação da absorvância máxima da banda, com valor de  $p < 0,05$ . Contudo, mesmo que a absorvância varie de forma diferente na presença do analito, a variação da absorvância na presença de  $\text{Hg}^{2+}$  foi observada. Dessa forma, o sensor colorimétrico pode ser utilizado nos dias subsequentes ao seu preparo, porém, ressalta-se que seja preparada nova curva de calibração, a fim de contornar as variações de absorvância referentes ao tempo de armazenamento.

#### 4.3.4 Influência da temperatura de preparo das ST-AgNPs

Para avaliar a influência da temperatura de preparo das nanopartículas com relação à sensibilidade do sensor colorimétrico em relação ao analito, foram selecionadas 4 temperaturas de preparo: 50, 60, 70 e 80 °C, nas condições obtidas no planejamento Box-Behnken. Para tal, foi adicionada a mesma concentração de  $\text{Hg}^{2+}$  em cada sistema, para avaliar a influência da temperatura de preparo na variação de absorvância da banda de absorção das ST-AgNPs +  $\text{Hg}^{2+}$ . As medições da absorvância foram realizadas em triplicata, sendo representadas na Figura 20.

Figura 20 - Influência da temperatura de preparo na variação da banda de absorção na presença de  $\text{Hg}^{2+}$



Fonte: a autora (2023).

Após feita uma análise de variância (ANOVA) de fator único, com nível de confiança de 95%, concluiu-se que não há diferença significativa entre os valores de variação de absorvância, com valor de  $p > 0,05$ . Dessa forma, podemos afirmar que não houve influência significativa da temperatura de preparo das ST-AgNPs na sensibilidade do sensor colorimétrico. Mariadoss e colaboradores (2019), utilizaram a temperatura de preparo de 80 °C para nanopartículas de prata com atividade antibacteriana, produzidas com extrato de maçã de espécie *Malus domestica*, durante 20 min. Por outro lado, Kumar e Ramakrishnappa (2021), utilizaram a temperatura ambiente para produção de nanopartículas de prata a partir de extrato de maçã, levando 90 min para que o sistema tivesse sua cor alterada de amarelo claro para marrom, indicativo da formação das ST-AgNPs. Dessa forma, visando menor tempo de preparo,

e levando em conta que a temperatura de otimização pelo planejamento Box-Behnken foi de 80 °C, foi optado por dar continuidade as análises com essa condição.

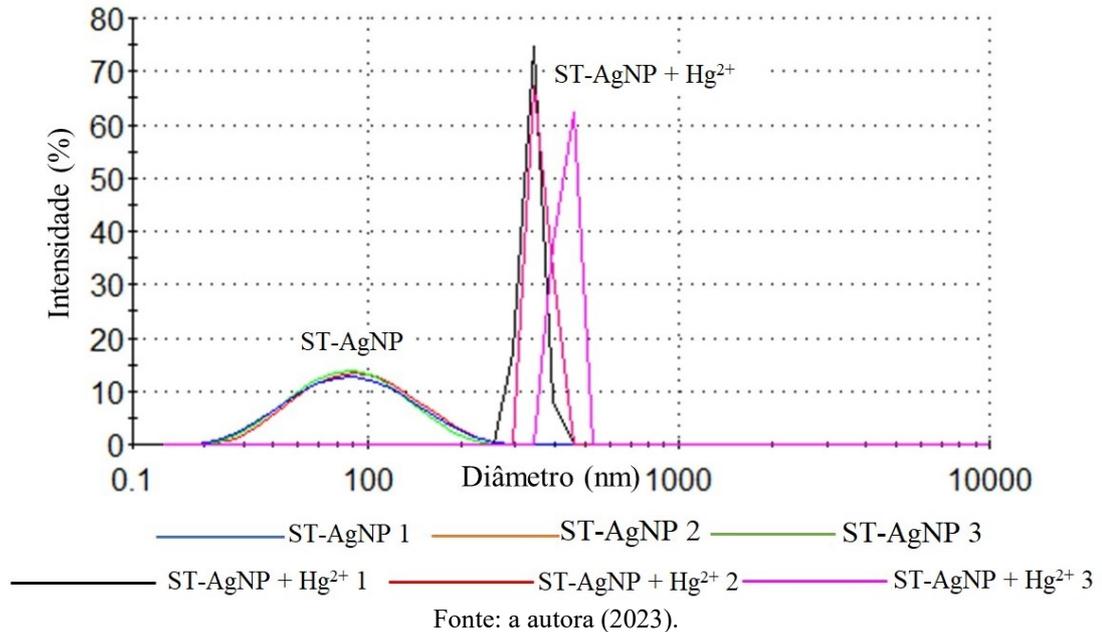
#### 4.3.5 Potencial-Zeta

O potencial-zeta, parâmetro físico relacionada a carga líquida de uma superfície, foi avaliado em amostras das nanopartículas produzidas. Em geral, valores altamente negativos tendem a gerar repulsões entre as ST-AgNPs, diminuindo sua aglomeração, consequentemente resultando em nanopartículas mais estáveis (BHAGAT, 2021). Dois sistemas, tamponados com valor de pH 4, foram submetidos a análise a fim de avaliar a influência de  $\text{Hg}^{2+}$  no potencial-zeta das nanopartículas. Para as amostras constituídas apenas de nanopartículas de prata, foi obtido um valor médio de  $-13,2 \pm 1,2$  mV. Já para as amostras de ST-AgNP +  $\text{Hg}^{2+}$ , o valor de potencial-zeta foi de  $-13,9 \pm 1,5$  mV. No trabalho realizado por Franceschinis e colaboradores (2023), os autores produziram ST-AgNPs utilizando extrato aquoso de *Aloe maculata* com valor de potencial zeta de  $-9,96 \pm 0,77$  mV. Além disso, nanopartículas metálicas são consideradas estáveis quando tem o valor de potencial-zeta dentro da faixa de +30 e -30 mV (ZHAN et al., 2019). Dessa forma, os valores obtidos no presente trabalho podem ser considerados adequados. Além disso, não há variações significativas dos valores médios de carga superficial líquida na presença de íons  $\text{Hg}^{2+}$ , indicando que o íon não promove influência relevante na estabilidade eletrônica das ST-AgNPs.

#### 4.3.6 Influência do $\text{Hg}^{2+}$ no diâmetro hidratado ST-AgNPs

A técnica de espalhamento dinâmico de luz também pode ser utilizada para auxiliar no mecanismo envolvido na supressão da banda de absorção das ST-AgNPs na presença do analito. As ST-AgNPs possuem um diâmetro hidratado médio de aproximadamente 80 nm, porém, um sistema que contém  $1,0 \text{ mg L}^{-1}$  de  $\text{Hg}^{2+}$ , o diâmetro hidratado médio do material é de, em média, 380 nm. A mudança no tamanho do material sugere que há a formação de aglomerados na presença do íon metálico (Figura 21). Dessa forma, é possível que haja formação de agregados entre nanopartículas e o íon metálico, corroborando com a redução e deslocamento da absorvância da banda de absorção como observado durante a obtenção da curva de calibração.

Figura 21 - Gráfico de DLS para diâmetro médio de ST-AgNPs na presença e ausência de  $\text{Hg}^{2+}$ .

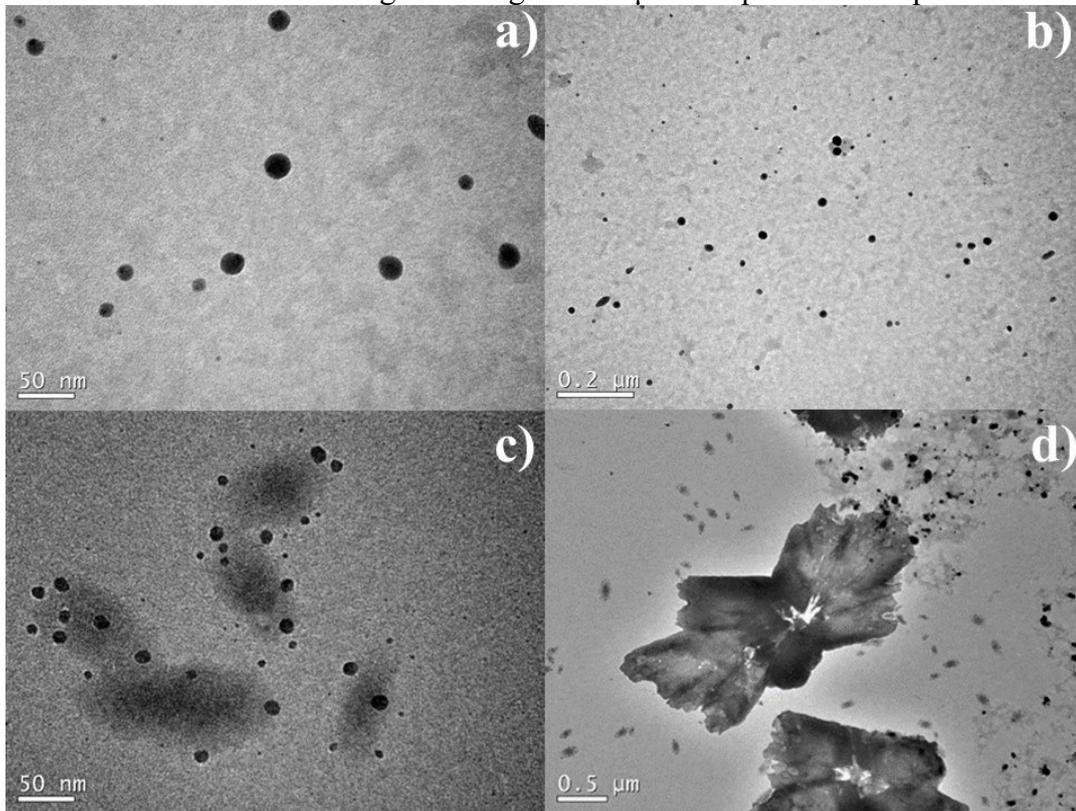


No trabalho de Sebastian e colaboradores (2018), foi observado indícios do mesmo mecanismo baseado na agregação das nanopartículas para determinação de íons  $\text{Hg}^{2+}$ . Os autores produziram AgNPs a partir do fungo *Agaricus bisporus*, atuando como sensor colorimétrico na presença do analito. Assim, foi observado, semelhantemente ao presente trabalho, a supressão da absorvância da banda de absorção das AgNPs na presença de  $\text{Hg}^{2+}$ .

#### 4.3.7 Microscopia de Transmissão eletrônica

Para se obter informações a respeito da morfologia das nanopartículas produzidas, foi utilizada a técnica de microscopia de transmissão eletrônica (TEM). Dois sistemas tamponados em pH 4 foram avaliados: o primeiro contendo ST-AgNPs e o segundo contendo ST-AgNPs +  $\text{Hg}^{2+}$  ( $1,0 \text{ mg L}^{-1}$ ). Foi observado que no sistema na ausência de  $\text{Hg}^{2+}$  (Figura 21a e Figura 21b), as nanopartículas possuem morfologia esférica, de diâmetros similares. No sistema ST-AgNPs +  $\text{Hg}^{2+}$ , é notável que há um grau maior de polidispersão, sendo possível observar o início da formação de aglomerados de ST-AgNPs (Figura 21c e Figura 21d). É possível observar a presença de diferentes fases de agregação no sistema contendo  $\text{Hg}^{2+}$ .

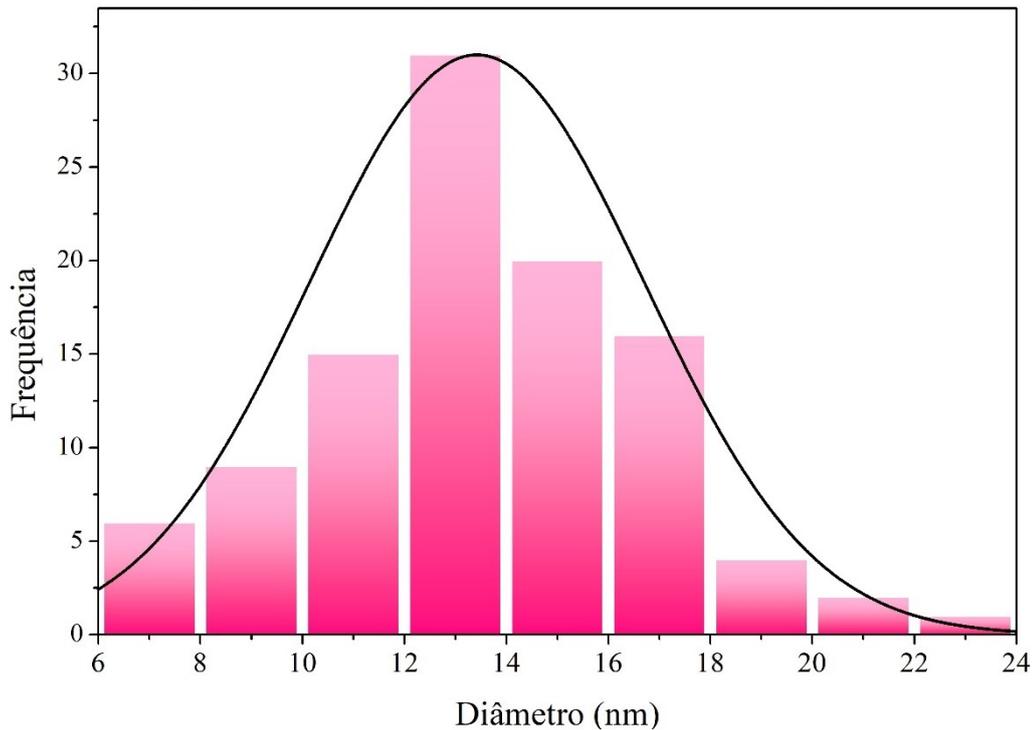
Figura 22 - Imagens de TEM de ST-AgNPs na presença e ausência de íons  $\text{Hg}^{2+}$  ( $1,0 \text{ mg L}^{-1}$ ) onde (a) e (b) sistema contendo somente  $100 \text{ }\mu\text{L}$  nanopartículas de prata, (c) e (d) sistema contendo  $1 \text{ mg L}^{-1}$  de  $\text{Hg}^{2+}$  e  $100 \text{ }\mu\text{L}$  nanopartículas de prata.



Fonte: a autora (2023).

A partir das micrografias, foi possível calcular a distribuição do diâmetro médio das ST-AgNPs. O histograma obtido (Figura 23), indica que a distribuição do diâmetro médio das nanopartículas segue a distribuição normal, onde o diâmetro com maior frequência entre as ST-AgNPs foi de aproximadamente  $13 \text{ nm}$  e um baixo grau de polidispersão.

Figura 23 - Histograma de distribuição do diâmetro médio de nanopartículas de prata.



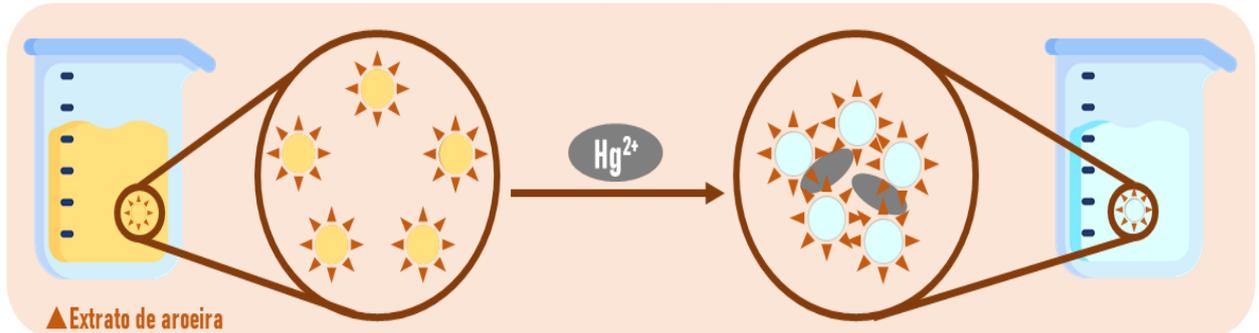
Diâmetro (nm)

Fonte: a autora (2023).

Ramachandiran e Rajesh (2022), produziram AgNPs, a partir do extrato de *Acaia chundra*, com uma faixa de diâmetro semelhante ao diâmetro médio obtido no presente trabalho. Os autores produziram um sensor colorimétrico para determinação de  $Hg^{2+}$  a base de nanopartículas com morfologia esférica e oval, com tamanhos irregulares que variam desde 10 até 25 nm. Dessa forma, o diâmetro das nanopartículas observado a partir das micrografias é coerente com trabalhos que utilizaram da abordagem biológica para a obtenção nanopartículas para aplicação em sensores colorimétricos.

Os resultados da análise de TEM são coerentes com os dados obtidos por espalhamento dinâmico de luz e pela variação da banda de absorção observada. O aumento no tamanho do diâmetro hidratado das nanopartículas, apontado pelo DLS na presença de íons  $Hg^{2+}$ , é corroborado com as imagens de microscopia. As imagens obtidas por TEM, tornaram possível observar a agregados de ST-AgNPs na presença de  $Hg^{2+}$ , fator que promoveu o aumento no diâmetro das nanopartículas. A partir da literatura e dos obtidos por TEM e DLS, a Figura 24 sugere um possível mecanismo que seria responsável pela mudança de cor do sistema e, conseqüentemente, redução da absorvância da banda de absorção das ST-AgNPs na presença de  $Hg^{2+}$ .

Figura 24 - Proposta de mecanismo do sensor colorimétrico baseado em ST-AgNPs para de determinação de  $\text{Hg}^{2+}$



Fonte: a autora (2023).

#### 4.4 DETERMINAÇÃO DE $\text{Hg}^{2+}$ EM AMOSTRAS AMBIENTAIS

##### 4.4.1 Verificação de exatidão

Os testes de recuperação em amostras de água foram realizados em 3 níveis, com adição de concentrações de 0,20; 0,30 e 0,40  $\text{mg L}^{-1}$  de  $\text{Hg}^{2+}$ . As recuperações obtidas variaram entre 80,5 e 117,7%, tanto para amostras de água tratada quanto para amostras de água coletadas no córrego. Com a boa taxa de recuperação obtida para as amostras de água, visando avaliar o desempenho do sensor colorimétrico em matrizes mais complexas, amostras de fluido de perfuração foram analisadas. Assim, para as amostras de fluido de perfuração, o teste de recuperação foi realizado também em 3 níveis com adição de concentrações de 0,20; 0,30 e 0,40  $\text{mg L}^{-1}$ . Para esta amostra uma faixa de porcentagem de recuperação entre 94,0 e 109,4% foi obtida. A Tabela 13 mostra os valores de recuperação obtidos para  $\text{Hg}^{2+}$  em amostras de água e fluido de perfuração, determinado por sensor colorimétrico baseado nas ST-AgNPs.

Tabela 13 – Recuperação para determinação de  $\text{Hg}^{2+}$  em amostras ambientais utilizando sensor colorimétrico baseado em ST-AgNPs.

Amostra	Concentração de $\text{Hg}^{2+}$ ( $\text{mg L}^{-1}$ )		RSD (%)
	Adicionado	Recuperado	
Água Tratada	0,00	<0,03	-
	0,20	$0,16 \pm 0,03$	16,7
	0,30	$0,35 \pm 0,03$	2,7
	0,40	$0,36 \pm 0,02$	4,8
Recuperação (%)		80,5 – 117,7	
Água Córrego	0,00	<0,03	-
	0,20	$0,21 \pm 0,05$	7,8
	0,30	$0,28 \pm 0,01$	2,2
	0,40	$0,36 \pm 0,03$	3,3
Recuperação (%)		90,2 - 105,4	
Fluido de Perfuração	0,00	<0,03	-
	0,20	$0,19 \pm 0,04$	22,9
	0,30	$0,29 \pm 0,01$	3,7
	0,40	$0,41 \pm 0,03$	4,2
	0,50	$0,51 \pm 0,04$	1,9
Recuperação (%)		94,0 – 109,4	

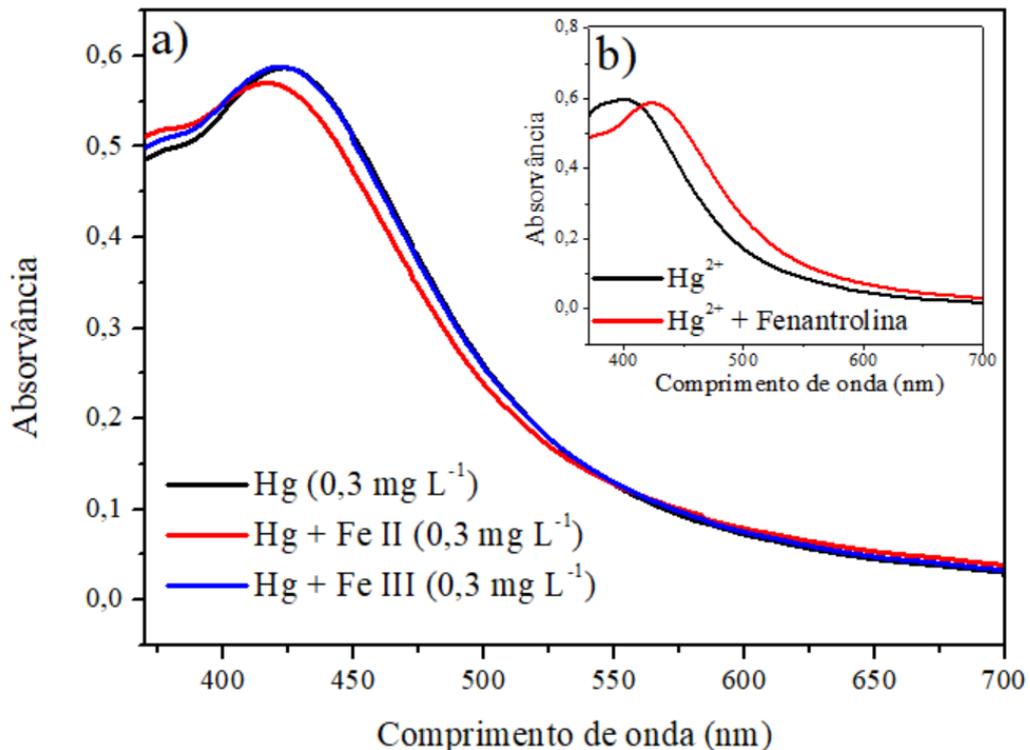
Fonte: a autora (2023).

Considerando que o sensor colorimétrico proposto apresenta também sensibilidade a íons  $\text{Fe}^{2+}$ , é fundamental garantir que, para determinação de  $\text{Hg}^{2+}$ , não haja influência de  $\text{Fe}^{2+}$ . Assim, a fim de minimizar a interferência de íons  $\text{Fe}^{2+}$ , foi desenvolvido um procedimento simples, utilizando uma pequena quantidade de  $\text{H}_2\text{O}_2$  e 1,10-fenantrolina para mascarar a presença dos íons  $\text{Fe}^{2+}$  e  $\text{Fe}^{3+}$  no sistema. Considerando as constantes de formação dos complexos a temperatura ambiente, há maior tendência de formação de  $[\text{Fe}(\text{phen})_3]^{3+}$  ( $K_3 = 10^{23,5}$ ) que  $[\text{Fe}(\text{phen})_3]^{2+}$  ( $K_3 = 10^{21,3}$ ). Assim, optou-se por utilizar um agente oxidante para converter o  $\text{Fe}^{2+}$  a  $\text{Fe}^{3+}$ , uma vez que o íon pode ser facilmente oxidado, com potencial padrão de oxidação de -0,771 eV (DEAN, 1998; MILAZZO; CAROLI; SHARMA, 1978). Dessa forma, após a adição de 30  $\mu\text{L}$  de  $\text{H}_2\text{O}_2$  a 0,01% (v/v) em 1 mL de solução, o  $\text{Fe}^{2+}$  deve ser convertido em  $\text{Fe}^{3+}$ . Com a adição do agente mascarante, 1,10-fenantrolina, deve haver a

formação do complexo  $[\text{Fe}(\text{phen})_3]^{3+}$ , não permitindo que o íon interfira na resposta do sensor colorimétrico.

Utilizar somente a 1,10-fenantrolina na presença de  $\text{Fe}^{2+}$ , apesar do complexo possuir uma constante de formação alta, ainda havia interferência do íon, suprimindo a banda de absorção do sensor. Contudo, com a adição de  $\text{H}_2\text{O}_2$ , não houve variações da absorvância causada pela presença do íon interferente (Figura 25a). Possivelmente essa resposta está relacionada as constantes de formação dos complexos  $[\text{Fe}(\text{phen})_3]^{2+}$  e  $[\text{Fe}(\text{phen})_3]^{3+}$ , indicando que, quando a 1,10-fenantrolina interage com  $\text{Fe}^{2+}$  do sistema, há uma competição entre as ST-AgNPs e o agente mascarante pelo íon. Contudo, adicionando  $\text{H}_2\text{O}_2$  ao sistema e convertendo  $\text{Fe}^{2+}$  em  $\text{Fe}^{3+}$ , a tendência a formação do complexo  $[\text{Fe}(\text{phen})_3]^{3+}$  se torna maior que a tendência do íon interagir com as ST-AgNPs, mascarando assim os interferentes. Dessa forma, foi necessário a adição de um agente oxidante como  $\text{H}_2\text{O}_2$  para que seja assegurada a formação do complexo  $[\text{Fe}(\text{phen})_3]^{3+}$ , minimizando a resposta do sensor a  $\text{Fe}^{2+}$  (Figura 25a). Além disso, observou-se que a presença da 1,10-fenantrolina no sistema contendo apenas ST-AgNPs provoca um deslocamento da banda, onde o comprimento de onda de máxima absorção apresentou um deslocamento batocromico, passando de 410 nm para 420 nm (Figura 25b).

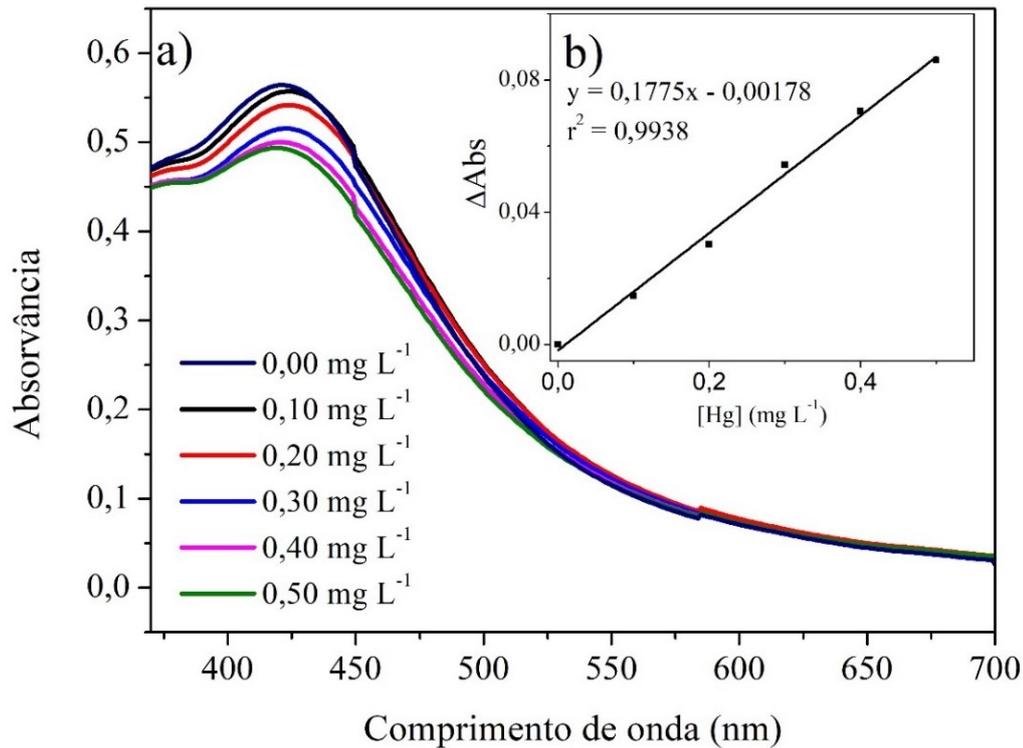
Figura 25 – Influência de  $\text{Fe}^{2+}$  e  $\text{Fe}^{3+}$  na variação de absorvância da banda das ST-AgNPs e efeito da 1,10- fenantrolina como agente mascarante.



Fonte: a autora (2023).

Assim, foi realizada uma nova varredura de comprimento de onda, utilizando espectrofotômetro ultravioleta-visível, indo de 370 a 700 nm com adição de 1,10-fenantrolina na presença de  $\text{Hg}^{2+}$  (Figura 26a), para se obter uma nova curva de calibração com a presença de 1,10-fenantrolina para o teste de adição e recuperação (Figura 26b).

Figura 26 – Influência da fenantrolina na banda de absorção das ST-AgNPs onde (a) variação da absorvância da banda absorção e (b) curva de calibração para determinação de  $\text{Hg}^{2+}$  na presença de 1,10-fenantrolina como mascarante para íons ferro



Fonte: a autora (2023).

A partir da curva de calibração produzida na presença de 1,10-fenantrolina, foi realizado um teste de adição e recuperação a fim de avaliar a eficiência da alternativa proposta para mascarar a presença de íons  $\text{Fe}^{2+}$  nas amostras. Para tal, foram avaliadas amostras em triplicata contendo a mesma concentração de  $\text{Hg}^{2+}$  ( $0,30 \text{ mg L}^{-1}$ ) e diferentes concentrações de  $\text{Fe}^{2+}$  ( $0,10$ ;  $0,30$  e  $0,50 \text{ mg L}^{-1}$ ). As porcentagens de recuperações obtidas estão dentro da faixa aceita analiticamente, entre 92,7 e 106,6% (Tabela 14), dado que, de acordo com a resolução número 899 de 29 de maio de 2003, publicada pelo Ministério da Saúde (2003), a faixa de recuperação aceitável para determinação quantitativa de analitos em matérias-primas ou em formas farmacêuticas é entre 80 e 120% de sua concentração teórica.

Tabela 14 - Recuperação de  $Hg^{2+}$  em amostras de água ultrapura na presença de diferentes concentrações de  $Fe^{2+}$  após tratamento de amostra com 1,10-fenantrolina

Amostra	Concentração de $Fe^{2+}$ ( $mg L^{-1}$ )	Concentração de $Hg^{2+}$ ( $mg L^{-1}$ )	
	adicionado	Adicionada	Recuperada
Água	0,10	0,30	$0,28 \pm 0,04$
	0,30	0,30	$0,32 \pm 0,02$
Ultrapura	0,50	0,30	$0,29 \pm 0,07$
	Recuperação (%)		92,7 – 106,6

Fonte: a autora (2023)

Dessa forma, o tratamento proposto se mostrou adequado para mascarar os íons  $Fe^{2+}$  e  $Fe^{3+}$  no sistema, fazendo com que o sensor colorimétrico não gere uma resposta significativa a sua presença. Avaliando a complexidade e o custo dos demais tratamentos realizados em amostras que as técnicas tradicionais de determinação de  $Hg^{2+}$  necessitam, a proposta de tratamento apresentada pelo presente trabalho pode ser considerada simples e de baixo custo.

## 5 CONCLUSÃO

O extrato de folhas de *S. terebinthifolius* se mostrou promissor para o preparo de ST-AgNPs, possuindo alta capacidade antioxidante ocasionada por diferentes compostos fenólicos. As superfícies de resposta, geradas pela variação de parâmetros de preparo das ST-AgNPs, sugeriram as condições que produziam maior absorvância, o que indica maior produção de ST-AgNPs. Tanto o extrato aquoso de *S. terebinthifolius* quanto as ST-AgNPs apresentaram, em algum grau, atividade antibacteriana para determinadas espécies de microrganismos.

As ST-AgNPs atuam como sensores colorimétricos seletivos a íons  $Fe^{2+}$  e  $Hg^{2+}$ . Foi realizado teste de recuperação de  $Hg^{2+}$  em amostras de água tratada, água de córrego e fluido de perfuração, utilizando preparo simples de amostras para mascarar a presença de íons  $Fe^{2+}$ , onde obteve-se porcentagens de recuperações dentro do aceitável. Assim, as ST-AgNPs podem ser uma boa alternativa para determinação de  $Hg^{2+}$  e  $Fe^{2+}$  com LODs adequados para análise de amostras de interesse ambiental.

## REFERÊNCIAS

- ACHÁ, D.; HINTELMANN, H.; PABÓN, C. A. Sulfate-reducing Bacteria and Mercury Methylation in the Water Column of the Lake 658 of the Experimental Lake Area. **Geomicrobiology Journal**, v. 29, n. 7, p. 667–674, 1 set. 2012.
- ADRIANO, D. C. Introduction. Em: ADRIANO, D. C. (Ed.). **Trace Elements in the Terrestrial Environment**. New York, NY: Springer, 1986. p. 1–45.
- ALI, I. et al. Synthesis and characterization of triazole stabilized silver nanoparticles as colorimetric probe for mercury. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v. 629, p. 127419, 20 nov. 2021.
- ANNADHASAN, M. et al. Green Synthesized Silver and Gold Nanoparticles for Colorimetric Detection of Hg<sup>2+</sup>, Pb<sup>2+</sup>, and Mn<sup>2+</sup> in Aqueous Medium. **ACS Sustainable Chemistry & Engineering**, p. 887–896, 4 fev. 2014.
- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. ABNT 10004. ABNT NBR 10004: Resíduos Sólidos - Classificação. . 2004, Sec. blog.
- BAEK, S.-W. et al. Au@Ag Core–Shell Nanocubes for Efficient Plasmonic Light Scattering Effect in Low Bandgap Organic Solar Cells. **ACS Nano**, v. 8, n. 4, p. 3302–3312, 22 abr. 2014.
- BAGHAEI, P. et al. Application of deep eutectic solvent functionalized cobalt ferrite nanoparticles in dispersive micro solid phase extraction of some heavy metals from aqueous samples prior to ICP-OES. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 117, p. 105125, 1 abr. 2023.
- BALOUIRI, M.; SADIKI, M.; IBNSOUDA, S. K. Methods for in vitro evaluating antimicrobial activity: A review. **Journal of Pharmaceutical Analysis**, v. 6, n. 2, p. 71–79, abr. 2016.
- BARUAH, S. G. et al. Heavy metal(loid)s contamination and health risk assessment of soil-rice system in rural and peri-urban areas of lower brahmaputra valley, northeast India. **Chemosphere**, v. 266, p. 129150, 1 mar. 2021.
- BHAGAT, S. et al. Trace Level Colorimetric Hg<sup>2+</sup> Sensor Driven by Citrus japonica Leaf Extract Derived Silver Nanoparticles: Green Synthesis and Application. **Journal of Cluster Science**, 16 jun. 2021.
- BISWAL, B. K.; ZHU, W.; YANG, E.-H. Investigation on Pseudomonas aeruginosa PAO1-driven bioleaching behavior of heavy metals in a novel geopolymer synthesized from municipal solid waste incineration bottom ash. **Construction and Building Materials**, v. 241, p. 118005, 30 abr. 2020.
- BOTHRA, S.; SOLANKI, J. N.; SAHOO, S. K. Functionalized silver nanoparticles as chemosensor for pH, Hg<sup>2+</sup> and Fe<sup>3+</sup> in aqueous medium. **Sensors and Actuators B: Chemical**, v. 188, p. 937–943, 1 nov. 2013.
- BRASIL. **Resolução-RE nº 899, de 29 de maio de 2003**. Disponível em: <[https://bvsm.s.saude.gov.br/bvs/saudelegis/anvisa/2003/res0899\\_29\\_05\\_2003.html](https://bvsm.s.saude.gov.br/bvs/saudelegis/anvisa/2003/res0899_29_05_2003.html)>. Acesso em: 4 jul. 2023.

BRASIL. Relação Nacional de Medicamentos Essenciais : RENAME 2014. 2015.

BURNS, C. et al. Solution ionic strength effect on gold nanoparticle solution color transition. **Talanta**, v. 69, n. 4, p. 873–876, 15 jun. 2006.

CAENN, R.; DARLEY, H. C. H.; GRAY, G. R. Chapter 1 - Introduction to Drilling Fluids. Em: CAENN, R.; DARLEY, H. C. H.; GRAY, G. R. (Eds.). **Composition and Properties of Drilling and Completion Fluids (Seventh Edition)**. Boston: Gulf Professional Publishing, 2017. p. 1–34.

CHADHA, R. et al. 2-thiazoline-2-thiol functionalized gold nanoparticles for detection of heavy metals, Hg(II) and Pb(II) and probing their competitive surface reactivity: A colorimetric, surface enhanced Raman scattering (SERS) and x-ray photoelectron spectroscopic (XPS) study. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v. 615, p. 126279, 20 abr. 2021.

CHEN, C. et al. A simple and sensitive colorimetric pH meter based on DNA conformational switch and gold nanoparticle aggregation. **Chemical Communications**, n. 46, p. 6149–6151, 26 nov. 2008.

CHEN, C. et al. Activated petroleum waste sludge biochar for efficient catalytic ozonation of refinery wastewater. **The Science of the Total Environment**, v. 651, n. Pt 2, p. 2631–2640, 15 fev. 2019.

CHEN, H.; HU, W.; LI, C. M. Colorimetric detection of mercury(II) based on 2,2'-bipyridyl induced quasi-linear aggregation of gold nanoparticles. **Sensors and Actuators B: Chemical**, v. 215, p. 421–427, 1 ago. 2015.

COMPEAU, G. C.; BARTHA, R. Sulfate-Reducing Bacteria: Principal Methylators of Mercury in Anoxic Estuarine Sediment. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 50, n. 2, p. 498–502, ago. 1985.

CONAMA. Resolução CONAMA nº 313, de 29 de outubro de 2002. . 2002.

CORREIA, A. C. et al. Lipid nanoparticles strategies to modify pharmacokinetics of central nervous system targeting drugs: Crossing or circumventing the blood–brain barrier (BBB) to manage neurological disorders. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 189, p. 114485, 1 out. 2022.

DE OLIVEIRA, V. S. et al. Aroeira fruit (*Schinus terebinthifolius* Raddi) as a natural antioxidant: Chemical constituents, bioactive compounds and in vitro and in vivo antioxidant capacity. **Food Chemistry**, v. 315, p. 126274, 15 jun. 2020.

DEAN, J. A. **Lange's Handbook of Chemistry**. 15ª edição ed. New York, NY: McGraw-Hill Professional, 1998.

DEGASPARI, C. H.; WASZCZYNSKYJ, N.; SANTOS, R. ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DE EXTRATO DE FRUTO DE AROEIRA (*Schinus terebinthifolius* Raddi). **Visão Acadêmica**, v. 5, 9 dez. 2005.

DONG, X. et al. Mechanistic Investigation of Mercury Sorption by Brazilian Pepper Biochars of Different Pyrolytic Temperatures Based on X-ray Photoelectron Spectroscopy and Flow

Calorimetry. **Environmental Science & Technology**, v. 47, n. 21, p. 12156–12164, 5 nov. 2013.

DUBEY, S. et al. Toxicity and detoxification of heavy metals during plant growth and metabolism. **Environmental Chemistry Letters**, v. 16, n. 4, p. 1169–1192, 1 dez. 2018.

EL-MASSRY, K. F. et al. Chemical Compositions and Antioxidant/Antimicrobial Activities of Various Samples Prepared from *Schinus terebinthifolius* Leaves Cultivated in Egypt. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 57, n. 12, p. 5265–5270, 24 jun. 2009.

EL-SHWINIY, W. H. et al. Spectrophotometric determination of Zr(IV), Hg(II) and U(VI) in solution with their analytical applications: Structural characterization and molecular docking of the solid complexes. **Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, v. 279, p. 121400, 15 out. 2022.

FARHADI, K. et al. Highly selective Hg<sup>2+</sup> colorimetric sensor using green synthesized and unmodified silver nanoparticles. **Sensors and Actuators B: Chemical**, v. 161, n. 1, p. 880–885, 3 jan. 2012.

FLECK, J. A. et al. Concurrent photolytic degradation of aqueous methylmercury and dissolved organic matter. **Science of The Total Environment**, v. 484, p. 263–275, 15 jun. 2014.

FRANCESCHINIS, G. et al. Green-synthesized silver nanoparticles using *Aloe maculata* extract as antibacterial agent for potential topical application. **OpenNano**, v. 12, p. 100148, 1 jul. 2023.

GAN, Y. et al. In-situ detection of cadmium with aptamer functionalized gold nanoparticles based on smartphone-based colorimetric system. **Talanta**, v. 208, p. 120231, 1 fev. 2020.

GAUR, N.; KUMAWAT, G.; KARNAWAT, R. EVALUATION OF CHELATING TENDENCY OF GALLIC ACID AS A DETOXIFYING AGENT: AN INNOVATIVE APPROACH. v. 9, 2018.

GHOSH, A. et al. Green synthesis of silver nanoparticles and its applications as sensor, catalyst, and antibacterial agent. **Materials Today: Proceedings**, 17 mar. 2023.

GILBERT, B.; FAVORETO, R. *Schinus terebinthifolius* Raddi. 2011.

GOMES, F. S. et al. Antimicrobial lectin from *Schinus terebinthifolius* leaf. **Journal of Applied Microbiology**, v. 114, n. 3, p. 672–679, 2013.

GUIMARÃES, A. K. V. et al. Estudo da caracterização da borra de petróleo e processo de extração do óleo. **Engenharia Sanitaria e Ambiental**, v. 21, p. 265–274, 20 jun. 2016.

GUPTA, V. K. et al. A novel copper (II) selective sensor based on Dimethyl 4, 4' (o-phenylene) bis(3-thioallophanate) in PVC matrix. **Journal of Molecular Liquids**, v. 174, p. 11–16, 1 out. 2012.

HABIBULLAH, G.; VIKTOROVA, J.; RUMML, T. Current Strategies for Noble Metal Nanoparticle Synthesis. **Nanoscale Research Letters**, v. 16, n. 1, p. 47, 15 mar. 2021.

HAI, N. D. et al. Phytosynthesis of silver nanoparticles using *Mangifera indica* leaves extract at room temperature: Formation mechanism, catalytic reduction, colorimetric sensing, and antimicrobial activity. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 220, p. 112974, 1 dez. 2022.

HAMZA, A. et al. Part 1. Spectrophotometric determination of trace mercury (II) in dental-unit wastewater and fertilizer samples using the novel reagent 6-hydroxy-3-(2-oxoindolin-3-ylideneamino)-2-thioxo-2H-1,3-thiazin-4(3H)-one and the dual-wavelength  $\beta$ -correction spectrophotometry. **Journal of Hazardous Materials**, v. 178, n. 1, p. 287–292, 15 jun. 2010.

HASNAIN, M. S. et al. Purple heart plant leaves extract-mediated silver nanoparticle synthesis: Optimization by Box-Behnken design. **Materials Science and Engineering: C**, v. 99, p. 1105–1114, 1 jun. 2019.

HE, F. et al. Photochemical Oxidation of Dissolved Elemental Mercury by Carbonate Radicals in Water. **Environmental Science & Technology Letters**, v. 1, n. 12, p. 499–503, 9 dez. 2014.

HUANG, C. et al. Speciation of inorganic arsenic in environmental waters using magnetic solid phase extraction and preconcentration followed by ICP-MS. **Microchimica Acta**, v. 173, n. 1, p. 165–172, 1 abr. 2011.

HUANG, Y. et al. Spatial-temporal analysis of selected industrial aquatic heavy metal pollution in China. **Journal of Cleaner Production**, v. 238, p. 117944, 20 nov. 2019.

JEROMIYAS, N. et al. Bismuth nanoparticles decorated graphenated carbon nanotubes modified screen-printed electrode for mercury detection. **Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers**, v. 95, p. 466–474, 1 fev. 2019.

JIA, X. et al. Development of a novel colorimetric sensor array based on oxidized chitin nanocrystals and deep learning for monitoring beef freshness. **Sensors and Actuators B: Chemical**, v. 390, p. 133931, 1 set. 2023.

JIANG, X. et al. A novel electrostatic drive strategy to prepare glutathione-capped gold nanoclusters embedded quaternized cellulose membranes fluorescent colorimetric sensor for Pb(II) and Hg(II) ions detection. **Sensors and Actuators B: Chemical**, v. 368, p. 132046, 1 out. 2022.

KELLY, K. L. et al. The Optical Properties of Metal Nanoparticles: The Influence of Size, Shape, and Dielectric Environment. **The Journal of Physical Chemistry B**, v. 107, n. 3, p. 668–677, 1 jan. 2003.

KHAN, R.; FULEKAR, M. H. Biosynthesis of titanium dioxide nanoparticles using *Bacillus amyloliquefaciens* culture and enhancement of its photocatalytic activity for the degradation of a sulfonated textile dye Reactive Red 31. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 475, p. 184–191, 1 ago. 2016.

KIM, M. J. et al. Analysis of the Chemical, Antioxidant, and Anti-Inflammatory Properties of Pink Pepper (*Schinus molle* L.). **Antioxidants**, v. 10, n. 7, p. 1062, jul. 2021.

KIMBER, R. L. et al. Biosynthesis and Characterization of Copper Nanoparticles Using *Shewanella oneidensis*: Application for Click Chemistry. **Small**, v. 14, n. 10, p. 1703145, 2018.

KLAPSTEIN, S. J. et al. Quantifying the effects of photoreactive dissolved organic matter on methylmercury photodemethylation rates in freshwaters. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 36, n. 6, p. 1493–1502, 2017.

KUMAR, K. S.; RAMAKRISHNAPPA, T. Green synthesized uncapped Ag colloidal nanoparticles for selective colorimetric sensing of divalent Hg and H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. **Journal of Environmental Chemical Engineering**, v. 9, n. 4, p. 105365, 1 ago. 2021.

LAGHARI, G. N. et al. Ranolazine-Functionalized Copper Nanoparticles as a Colorimetric Sensor for Trace Level Detection of As<sup>3+</sup>. **Nanomaterials**, v. 9, n. 1, p. 83, jan. 2019.

LAN, T. et al. Synthesis and application of geopolymers from municipal waste incineration fly ash (MSWI FA) as raw ingredient - A review. **Resources, Conservation and Recycling**, v. 182, p. 106308, 1 jul. 2022.

LAN, Y. et al. Impacts of environmental pollution incident of cadmium and thallium and their emergency disposal on ecological risk of Hejiang River. **Huanjing Kexue Xuebao/Acta Scientiae Circumstantiae**, v. 37, p. 3602–3612, 6 set. 2017.

LANGER, J.; NOVIKOV, S. M.; LIZ-MARZÁN, L. M. Sensing using plasmonic nanostructures and nanoparticles. **Nanotechnology**, v. 26, n. 32, p. 322001, 14 ago. 2015.

LEAL, G. C. et al. Emulsion breaking-induced extraction of Cd and Pb from oily dietary supplements followed by graphite furnace atomic absorption spectrometry detection. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 112, p. 104651, 1 set. 2022.

LI, J. et al. Nano-Modified Polymer Gels as Temperature- and Salt-Resistant Fluid-Loss Additive for Water-Based Drilling Fluids. **Gels**, v. 8, n. 9, p. 547, set. 2022.

LIU, C. et al. Oil recovery from tank bottom sludge using rhamnolipids. **Journal of Petroleum Science and Engineering**, v. 170, p. 14–20, 1 nov. 2018.

LIU, J. et al. Quantifying and predicting ecological and human health risks for binary heavy metal pollution accidents at the watershed scale using Bayesian Networks. **Environmental Pollution**, v. 269, p. 116125, 15 jan. 2021.

LIU, X.-Y. et al. A simply visual and rapidly colorimetric detection of Hg<sup>2+</sup> in cosmetics based on gold nanoparticles modified by sulfadiazine. **Optical Materials**, v. 137, p. 113622, 1 mar. 2023.

MARIADOSS, A. V. A. et al. Green synthesis, characterization and antibacterial activity of silver nanoparticles by *Malus domestica* and its cytotoxic effect on (MCF-7) cell line. **Microbial Pathogenesis**, v. 135, p. 103609, 1 out. 2019.

MIE, R. et al. Synthesis of silver nanoparticles with antibacterial activity using the lichen *Parmotrema praesorediosum*. **International Journal of Nanomedicine**, v. 9, n. 1, p. 121–127, 19 dez. 2013.

MILAZZO, G.; CAROLI, S.; SHARMA, V. K. **Tables of standard electrode potentials**. Chichester: John Wiley & Sons, 1978.

MORTON, J. F. Brazilian pepper—Its impact on people, animals and the environment. **Economic Botany**, v. 32, n. 4, p. 353–359, 1 out. 1978.

NIELSEN, F. H. Trace and Ultratrace Elements. Em: **Reference Module in Biomedical Sciences**. [s.l.] Elsevier, 2014.

OPISO, E. M. et al. Synthesis and characterization of coal fly ash and palm oil fuel ash modified artisanal and small-scale gold mine (ASGM) tailings based geopolymer using sugar mill lime sludge as Ca-based activator. **Heliyon**, v. 7, n. 4, p. e06654, 1 abr. 2021.

ORUKO, R. O. et al. Contemporary and future direction of chromium tanning and management in sub Saharan Africa tanneries. **Process Safety and Environmental Protection**, v. 133, p. 369–386, 1 jan. 2020.

OZBEK, N.; AKMAN, S. Determination of fluorine in milk samples via calcium-monofluoride by electrothermal molecular absorption spectrometry. **Food Chemistry**, v. 138, n. 1, p. 650–654, 1 maio 2013.

PADOAN, E. et al. An empirical model to predict road dust emissions based on pavement and traffic characteristics. **Environmental Pollution**, v. 237, p. 713–720, 1 jun. 2018.

PAL, M. et al. Recycling of wastewater from tannery industry through membrane-integrated hybrid treatment using a novel graphene oxide nanocomposite. **Journal of Water Process Engineering**, v. 36, p. 101324, 1 ago. 2020.

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

PALANQUES, A. et al. Effects of flushing flows on the transport of mercury-polluted particulate matter from the Flix Reservoir to the Ebro Estuary. **Journal of Environmental Management**, v. 260, p. 110028, 15 abr. 2020.

PARVEEN, N. et al. Nanocrystals as an emerging nanocarrier for the management of dermatological diseases. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, p. 113231, 28 fev. 2023.

PAVITHRA, K. G. et al. Mercury sources, contaminations, mercury cycle, detection and treatment techniques: A review. **Chemosphere**, v. 312, p. 137314, 1 jan. 2023.

QING, W. et al. Functionalization of silver nanoparticles with mPEGylated luteolin for selective visual detection of Hg<sup>2+</sup> in water sample. **RSC Advances**, v. 8, n. 51, p. 28843–28846, 14 ago. 2018.

RAHMAN, Z.; SINGH, V. P. The relative impact of toxic heavy metals (THMs) (arsenic (As), cadmium (Cd), chromium (Cr)(VI), mercury (Hg), and lead (Pb)) on the total environment: an overview. **Environmental Monitoring and Assessment**, v. 191, n. 7, p. 419, 8 jun. 2019.

RAJAM, B. M.; RAMASAMY, P.; MAHALINGAM, U. Monodispersed gold nanoparticles as a probe for the detection of Hg<sup>2+</sup> ions in water. **Acta Chimica Slovenica**, v. 64, n. 1, p. 186–192, 12 mar. 2017.

RAMACHANDIRAN, D.; RAJESH, K. Selective colorimetric and fluorimetric sensor of Hg (II) ion from silver nanoparticles using Acacia chundra leaves extract. **Materials Chemistry and Physics**, v. 287, p. 126284, 1 ago. 2022.

RAMCHANDER, J. et al. Quantitative Determination of Heavy Metals in the Water Samples of Four Areas of Hyderabad in Telangana State. 2015.

RAMOS, D. DE B. M. et al. Antinociceptive activity of Schinus terebinthifolia leaf lectin (SteLL) in sarcoma 180-bearing mice. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 259, p. 112952, 15 set. 2020.

SADJADI, S.; MALMIR, M.; HERAVI, M. M. A novel magnetic heterogeneous catalyst based on decoration of halloysite with ionic liquid-containing dendrimer. **Applied Clay Science**, v. 168, p. 184–195, 1 fev. 2019.

SAENCHOOPA, A. et al. Colorimetric detection of Hg(II) by  $\gamma$ -aminobutyric acid-silver nanoparticles in water and the assessment of antibacterial activities. **Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, v. 251, p. 119433, 15 abr. 2021.

SAHU, C.; BASTI, S. Trace metal pollution in the environment: a review. **International Journal of Environmental Science and Technology**, v. 18, n. 1, p. 211–224, 1 jan. 2021.

SALIMI, F. et al. Colorimetric sensor of detection of Cr (III) and Fe (II) ions in aqueous solutions using gold nanoparticles modified with methylene blue. **Optik**, v. 158, p. 813–825, 1 abr. 2018.

SAMUEL, V. R.; RAO, K. J. A rapid colorimetric dual sensor for the detection of mercury and lead ions in water using cysteine capped silver nanoparticles. **Chemical Physics Impact**, v. 6, p. 100161, 1 jun. 2023.

SCHULTE, H. L. et al. Degradation evaluation and toxicity profile of bilobol, a promising eco-friendly larvicide. **Chemosphere**, v. 263, p. 128323, 1 jan. 2021.

SCHULZ, M. et al. Chemical composition, bioactive compounds and antioxidant capacity of juçara fruit (*Euterpe edulis* Martius) during ripening. **Food Research International**, FOOD BIOACTIVE COMPOUNDS: QUALITY CONTROL AND BIOACTIVITY. v. 77, p. 125–131, 1 nov. 2015.

SEBASTIAN, M.; ARAVIND, A.; MATHEW, B. Green silver-nanoparticle-based dual sensor for toxic Hg(II) ions. **Nanotechnology**, v. 29, n. 35, p. 355502, jun. 2018.

SERRANO-LEÓN, J. S. et al. Chitosan active films containing agro-industrial residue extracts for shelf life extension of chicken restructured product. **Food Research International**, v. 108, p. 93–100, 1 jun. 2018.

SHAH, A. Q. et al. Simultaneously determination of methyl and inorganic mercury in fish species by cold vapour generation atomic absorption spectrometry. **Food Chemistry**, v. 134, n. 4, p. 2345–2349, 15 out. 2012.

SHARMA, G.; KANDASUBRAMANIAN, B. Molecularly Imprinted Polymers for Selective Recognition and Extraction of Heavy Metal Ions and Toxic Dyes. **Journal of Chemical & Engineering Data**, v. 65, n. 2, p. 396–418, 13 fev. 2020.

SHIRALIPOUR, R.; LARKI, A. Pre-concentration and determination of tartrazine dye from aqueous solutions using modified cellulose nanosponges. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 135, p. 123–129, 31 jan. 2017.

SHNOUDEH, A. J. et al. Chapter 15 - Synthesis, Characterization, and Applications of Metal Nanoparticles. Em: TEKADE, R. K. (Ed.). **Biomaterials and Bionanotechnology**. Advances in Pharmaceutical Product Development and Research. [s.l.] Academic Press, 2019. p. 527–612.

SILVA, J. H. S. DA et al. Anti-Escherichia coli activity of extracts from Schinus terebinthifolius fruits and leaves. **Natural Product Research**, 3 jul. 2017.

SINGH, A. K. et al. Green synthesis of gold nanoparticles from Dunaliella salina, its characterization and in vitro anticancer activity on breast cancer cell line. **Journal of Drug Delivery Science and Technology**, v. 51, p. 164–176, 1 jun. 2019.

SOARES CARNEIRO, T. et al. Phenolic compounds in peel, seed and cold pressed pink pepper (Schinus terebinthifolia R.) oil and bioaccessibility of peel using a digestion model with intestinal barrier simulation. **Food Bioscience**, v. 49, p. 101930, 1 out. 2022.

SOUZA, M. D. D. **Conteúdo Jurídico**. Disponível em: <<https://conteudojuridico.com.br/>>. Acesso em: 29 maio. 2023.

SUN, H. et al. Hypophosphorous acid functionalized nanoporous silicon for selective adsorption of Hg(II) in industrial waste water. **Chemical Engineering Research and Design**, v. 197, p. 264–273, 1 set. 2023.

SWAIN, T.; HILLIS, W. E. The phenolic constituents of Prunus domestica. I.—The quantitative analysis of phenolic constituents. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 10, n. 1, p. 63–68, 1959.

TCHOUNWOU, P. B. et al. Heavy Metals Toxicity and the Environment. **EXS**, v. 101, p. 133–164, 2012.

TLILI, N. et al. Schinus terebinthifolius vs Schinus molle: A comparative study of the effect of species and location on the phytochemical content of fruits. **Industrial Crops and Products**, v. 122, p. 559–565, 15 out. 2018.

TOMA, H. E. et al. The coordination chemistry at gold nanoparticles. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 21, p. 1158–1176, 2010.

UNEP, U. N. E. P. **Global Mercury Assessment 2018**. Disponível em: <<http://www.unep.org/resources/publication/global-mercury-assessment-2018>>. Acesso em: 2 jun. 2023.

VIEIRA, J. DE S. et al. Phenolic composition and insights into the use of pink pepper (Schinus terebinthifolius Raddi) fruit against lipid oxidation in food systems. **Food Bioscience**, v. 53, p. 102556, 1 jun. 2023.

VIEVARD, J. et al. Extraction and quantification of pesticides and metals in palm wines by HS-SPME/GC–MS and ICP–AES/MS. **Food Chemistry**, v. 393, p. 133352, 1 nov. 2022.

WANG, L. et al. The role of zinc in metakaolin-based geopolymers. **Cement and Concrete Research**, v. 136, p. 106194, 1 out. 2020.

WHO. **10 Chemicals of Public Health Concern**. Disponível em: <<https://www.who.int/news-room/photo-story/photo-story-detail/10-chemicals-of-public-health-concern>>. Acesso em: 19 jul. 2022.

WHO. **Exposure to Mercury: a major public health concern, second edition**. 2. ed. [s.l.] World Health Organization, 2021.

WILHELM, S. M.; BLOOM, N. Mercury in petroleum. **Fuel Processing Technology**, v. 63, n. 1, p. 1–27, 1 mar. 2000.

XIE, T. et al. Graphene-based supercapacitors as flexible wearable sensor for monitoring pulse-beat. **Ceramics International**, v. 45, n. 2, Part A, p. 2516–2520, 1 fev. 2019.

ZHAN, X. et al. Enhanced geopolymeric co-disposal efficiency of heavy metals from MSWI fly ash and electrolytic manganese residue using complex alkaline and calcining pre-treatment. **Waste Management**, v. 98, p. 135–143, 1 out. 2019.

ZHANG, H. et al. Ecological risk assessment of metals in small craft harbour sediments in Nova Scotia, Canada. **Marine Pollution Bulletin**, v. 146, p. 466–475, 1 set. 2019.

ZHANG, Y. et al. Study of inhibition mechanism of NO<sub>3</sub><sup>-</sup> on photoreduction of Hg(II) in artificial water. **Chemosphere**, v. 87, n. 2, p. 171–176, 1 abr. 2012.

ZHANG, Y. et al. Colorimetric detection based on localised surface plasmon resonance of gold nanoparticles: Merits, inherent shortcomings and future prospects. **Talanta**, v. 152, p. 410–422, 15 maio 2016.

ZHANG, Y. et al. Removal of vanadium from petroleum coke by microwave and ultrasonic-assisted leaching. **Hydrometallurgy**, v. 191, p. 105168, 1 jan. 2020.

ZHAO, X.-M. et al. Distribution and ecological risk assessment of cadmium in water and sediment in Longjiang River, China: Implication on water quality management after pollution accident. **Chemosphere**, v. 194, p. 107–116, 1 mar. 2018.

ZHUO, H. et al. Source, Distribution and Potential Risk of Antimony in Water and Sediments of Danjiangkou Reservoir: Impact from Dam. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, v. 19, n. 19, p. 12367, 28 set. 2022.