



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

Thiago Laurentino Rial

**Nanopartículas de prata preparadas a partir do extrato da borra de café:  
avaliação como sensor colorimétrico para determinação de ferro**

Florianópolis

2025

Thiago Laurentino Rial

**Nanopartículas de prata preparadas a partir do extrato da borra de café:  
avaliação como sensor colorimétrico para determinação de ferro**

Trabalho de Conclusão de Curso submetido ao curso de Química Bacharelado do Centro de Ciências Físicas e Matemáticas da Universidade Federal de Santa Catarina como requisito parcial para a obtenção do título de Bacharel em Química,

Orientador: Prof. Eduardo Sidinei Chaves, Dr.  
Coorientadora: Morgana Lurdes da Rocha, Ma.

Florianópolis

2025

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor, através do Programa de Geração Automática da Biblioteca Universitária da UFSC.

Rial, Thiago Laurentino

Nanopartículas de prata preparadas a partir do extrato da borra de café como sensor colorimétrico para determinação de ferro / Thiago Laurentino Rial ; orientador, Eduardo Sidinei Chaves, coorientador, Morgana Lurdes da Rocha, 2025.

61 p.

Trabalho de Conclusão de Curso (graduação) - Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências Físicas e Matemáticas, Graduação em Química - Bacharelado, Florianópolis, 2025.

Inclui referências.

1. Química - Bacharelado. 2. Nanopartículas de prata. 3. Extrato de borra de café. 4. Determinação de ferro em suplementos alimentares. 5. Sensor colorimétrico. I. Chaves, Eduardo Sidinei. II. da Rocha, Morgana Lurdes . III. Universidade Federal de Santa Catarina. Graduação em Química - Bacharelado. IV. Título.

Thiago Laurentino Rial

**Nanopartículas de prata preparadas a partir do extrato da borra de café:  
avaliação como sensor colorimétrico para determinação de ferro**

Este Trabalho de Conclusão de Curso foi julgado adequado para obtenção do título de Bacharel e aprovado em sua forma final pelo Curso Química Bacharelado.

Florianópolis, 02 de Julho de 2025.



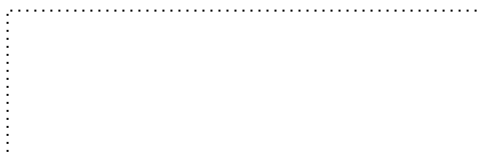
Coordenação do Curso

**Banca examinadora**



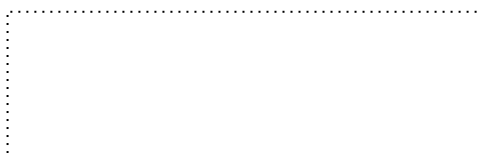
Prof. Dr. Eduardo Sidinei Chaves

Orientador



Dr. João Paulo Winiarski

Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC)



Prof. Dr. Diego Galvan

Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC)

Florianópolis, 2025.

## **AGRADECIMENTOS**

Começo expressando profunda gratidão a todos que de alguma forma contribuíram para eu chegar até aqui.

Agradeço meu pai Fernando e minha tia Carmen por todo incentivo e apoio durante o percurso.

À minha parceira Renata, deixo registrado todo o meu amor e minha eterna gratidão, você foi essencial em cada passo, meu apoio nos dias bons e, principalmente, nos dias difíceis. Obrigado por ser abrigo, força, paciência e coragem quando tudo parecia pesado demais. Sua presença tornou esta jornada possível e infinitamente mais leve. Sou e serei eternamente grato por tudo o que vivemos e construímos juntos.

Aos meus amigos Lucas, Arthur, Pedro, Bernardo, Maria, Lucas P., Ana Beatriz, Andreyana, Matheus e Luix, sou profundamente grato por tornarem este caminho mais leve e cheio de riso por cada conversa que acalmou o coração, por cada momento que transformou o peso em alegria.

À Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC) e ao departamento de química, pela infraestrutura que me foi disponibilizada.

Agradeço meu orientador Eduardo Chaves por toda paciência e incentivo ao longo do trajeto. Agradeço minha coorientadora Morgana pela parceria e conhecimento compartilhado.

Por fim, à Coordenação de Pessoal de Nível Superior (CAPES) e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelo apoio financeiro.

## RESUMO

A determinação de ferro em alimentos é fundamental para assegurar a adequação nutricional e a segurança alimentar, especialmente em países de baixo e médio desenvolvimento, onde a deficiência de ferro é um problema significativo. Métodos tradicionais de análise, utilizando técnicas como a espectrometria de absorção atômica (AAS) e a espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado (ICP OES), espectrometria de massa com plasma indutivamente acoplado (ICP-MS) são amplamente empregados. Entretanto, apesar das suas vantagens, algumas limitações, especialmente, o alto custo instrumental e de operação, restringe as aplicações para análises de rotina em muitos laboratórios. Neste contexto, métodos alternativos, tais como os sensores colorimétricos baseados em nanopartículas de prata (AgNPs) podem ser uma alternativa promissora para a detecção de metais em alimentos. Entre as principais vantagens destes sensores estão a simplicidade, baixo custo instrumental e operacional e potencial para aplicação em laboratórios de rotina. Utilizando métodos verdes para obtenção das AgNPs, como o extrato de borra de café como agente redutor e estabilizante, torna-se uma abordagem sustentável e eficiente. A caracterização das nanopartículas e a avaliação de sua sensibilidade e seletividade frente a diferentes metais e ânions foram realizadas para assegurar a confiabilidade e precisão do método. O espectro de absorção das C-AgNPs apresentou uma banda plasmônica com absorvância máxima em 413 nm, indicando a formação de nanopartículas com diâmetro aproximado de 55 nm. O pH 4, selecionado para realização das determinações, visando maximizar a sensibilidade do sensor, mostrou-se eficaz e proporcionou um coeficiente de determinação para  $\text{Fe}^{3+}$  com  $R^2 = 0,9971$ , além de limites de detecção e quantificação de  $0,032 \text{ mg L}^{-1}$  e  $0,089 \text{ mg L}^{-1}$ , respectivamente. Na aplicação em amostras reais, especificamente suplementos alimentares, observou-se forte efeito da matriz, com interação dos constituintes da formulação com as C-AgNPs, o que inviabilizou o uso da curva de calibração com padrões aquosos. Para contornar essa limitação, foi adotada a calibração por adição de analito, que permitiu a quantificação mesmo em presença de interferentes. Apesar disso, os percentuais de recuperação foram baixos (12,6% para amostra A e 7,1% para amostra B), indicando que compostos como proteínas, excipientes e complexantes dificultam a interação entre o ferro e as nanopartículas. Tais resultados estão de acordo com a literatura, que aponta a adsorção de macromoléculas como fator limitante na detecção colorimétrica baseada em AgNPs. Como perspectivas, sugere-se o uso de estratégias de pré-tratamento das amostras (como precipitação de proteínas ou extração em fase sólida), funcionalização das nanopartículas com ligantes seletivos e aplicação de ferramentas quimiométricas para compensação de interferências. Apesar das limitações, o sistema desenvolvido apresenta grande potencial como ferramenta analítica sustentável e acessível para análise de ferro em matrizes complexas

**Palavras-chave:** Nanopartículas de prata; Extrato de borra de café; ferro; Sensor colorimétrico; Adição de analito; Suplementos alimentares.

## ABSTRACT

The determination of iron in food is essential to ensure nutritional adequacy and food safety, especially in developing countries where iron deficiency represents a significant public health issue. Traditional analytical techniques, such as atomic absorption spectrometry (AAS), inductively coupled plasma optical emission spectrometry (ICPOES), and inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS), are widely used. However, despite their analytical advantages, these techniques present limitations such as high equipment and operational costs, which restrict their application in routine analyses in many laboratories. In this context, alternative methods such as colorimetric sensors based on silver nanoparticles (AgNPs) have been explored as promising solutions for metal detection in food. Among the main advantages of these sensors are simplicity, low instrumental and operational costs, and the possibility of application in laboratories with limited infrastructure. The use of green methods for the synthesis of AgNPs, such as coffee grounds extracted as a reducing and stabilizing agent, represents a sustainable and effective approach. The characterization of the nanoparticles, as well as the evaluation of their sensitivity and selectivity toward different metal ions and anionic species, was carried out to ensure the reliability and accuracy of the method. The absorption spectrum of the synthesized nanoparticles (C-AgNPs) showed a plasmonic band with maximum absorbance at 413 nm, indicating the formation of particles with an average diameter of approximately 55 nm. pH 4 was selected for the determinations to maximize the sensor's sensitivity, resulting in a determination coefficient ( $R^2$ ) of 0.9971 for  $\text{Fe}^{3+}$ , with detection and quantification limits (LOD and LOQ) of  $0,032 \text{ mol L}^{-1}$  and  $0.089 \text{ mol L}^{-1}$ , respectively. In the application of the method to real samples, specifically dietary supplements, a strong matrix effect was observed due to the interaction of the formulation components with the C-AgNPs, which made it impossible to use the conventional calibration curve with aqueous standards. To overcome this limitation, the standard addition calibration method was adopted, which allowed the quantification of iron even in the presence of interferences. However, the recovery percentages were low (12.6% for sample A and sample B 7.1%), suggesting that compounds such as proteins, excipients, and complexing agents hinder the interaction between iron and nanoparticles. These results agree with the literature, which indicates the adsorption of macromolecules as a limiting factor in AgNP-based colorimetric detection. As future perspectives, the implementation of sample pretreatment strategies (such as protein precipitation or solid-phase extraction), the functionalization of nanoparticles with selective ligands, and the application of chemometric tools to correct interferences are recommended. Despite the observed limitations, the developed system shows great potential as a sustainable, accessible, and effective analytical tool for iron determination in complex matrices.

**Keywords:** Silver nanoparticles; Coffee grounds extract; Iron determination; Colorimetric sensor; Standard addition; Dietary supplements.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Representação da Ressonância de Plasmon de Superfície Localizada em NPs metálicas. ....	23
Figura 2 - Ilustração dos métodos <i>bottom-up</i> e <i>top-down</i> para síntese de nanopartículas metálicas.....	24
Figura 3 - Representação estrutural (a) cafeína e (b) ácido cafeico.....	26
Figura 4 – Representação esquemática da obtenção do extrato da borra de café. ..	30
Figura 5 – Síntese das nanopartículas de prata a partir do extrato da borra de café	32
Figura 6 - Espectro de absorção na região do visível dos reagentes, AgNO <sub>3</sub> (0,01 mol L <sup>-1</sup> ) e extrato da borra de café, e das C-AgNPs. ....	36
Figura 7 - (a) Histograma de distribuição de tamanho usado para determinar tamanho médio hidrodinâmico das C-AgNPs; (b) imagens de TEM 100 kV das CAgNPs, escala de 500 nm. Ampliação aproximada de 200x; (c) histograma de distribuição de tamanho usado para determinar o tamanho médio das C-AgNPs .....	38
Figura 8 - Espectro na região do visível referente a otimização univariada do volume do extrato da borra de café na síntese das C-AgNPs. ....	39
Figura 9 - Influência do pH na banda de absorção das C-AgNPs. (a) Banda de absorção das C-AgNPs em diferentes pHs; (b) variação da absorvância máxima da banda de absorção na presença de íons Fe <sup>3+</sup> . ....	40
Figura 10 - Mudanças de coloração do sistema com C-AgNPs na presença de Al <sup>3+</sup> , Ba <sup>2+</sup> , Be <sup>2+</sup> , Cd <sup>2+</sup> , Ce <sup>3+</sup> , Co <sup>2+</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> , Zn <sup>2+</sup> NH <sup>4+</sup> , I <sup>-</sup> , S <sup>2-</sup> e CN <sup>-</sup> (20 mg L <sup>-1</sup> ).....	42
Figura 11 - Variação da absorvância da banda de absorção das C-AgNPs na presença de diferentes íons metálicos na concentração (1,0 mg L <sup>-1</sup> ). ....	43
Figura 12 - Variação de absorvância da banda de absorção das C-AgNPs na presença de íons Fe <sup>3+</sup> onde (a) variação da absorvância máxima das C-AgNPs em função da concentração de Fe e (b) curva de calibração para Fe <sup>3+</sup> .....	44
Figura 13 - Espectro de absorvância na região do visível para acompanhar a estabilidade das C-AgNPs ao longo do tempo de 336 h. ....	46
Figura 14 - Espectro de absorvância da banda de absorção na presença de suplementos de Ferro.....	48
Figura 15 - (a) Espectro das bandas de absorção da amostra A (b) curva de calibração por adição de analito. ....	49

Figura 16 - (a) Espectro de absorvância da amostra de B; (b) Curva de calibração por adição de analito. ....50

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Valores de LOD reportados em diferentes estudos referente a análise de Fe em amostras alimentícias.....	45
--	----

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

(em ordem alfabética)

<b>AAS</b>	Espectrometria de absorção atômica (do inglês <i>atomic absorption spectrometry</i> )
<b>ADF</b>	Anemia por Deficiência de Ferro
<b>AgNPs</b>	Nanopartículas de prata
<b>AuNPs</b>	Nanopartículas de ouro
<b>C-AgNPs</b>	Nanopartícula de prata a partir do extrato da borra de café
<b>Conab</b>	Companhia Nacional de Abastecimento
<b>DLS</b>	Espalhamento de luz dinâmico (do inglês <i>Dynamic Light Scattering</i> )
<b>Embrapa</b>	Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
<b>FAO</b>	Organização das nações unidas para alimentação e agricultura
<b>G6PD</b>	Glicose-6-fosfato desidrogenase
<b>GFAAS</b>	Espectrometria de absorção atômica em forno de grafite (do inglês <i>Graphite Furnance atomic absorption spectrometry</i> )
<b>ICP-MS</b>	Espectroscopia de massa com plasma indutivamente acoplado (do inglês <i>Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry</i> )
<b>ICP OES</b>	Espectrometria de emissão atômica com plasma indutivamente acoplado (do inglês <i>Inductively Coupled Plasma-Optical Emission Spectrometry</i> )
<b>IDH</b>	Índice de desenvolvimento humano
<b>IQ-USP</b>	Instituto de Química da Universidade de São Paulo
<b>LEMA</b>	Laboratório de Espectrometria Atômica e de Massa
<b>LSPR</b>	Superfície localizada de ressonância de plasmon (do inglês <i>Localized Surface Plasmon Resonance</i> )
<b>LOD</b>	Limite de detecção (do inglês <i>Limit of Detection</i> )
<b>LOQ</b>	Limite de quantificação (do inglês <i>Limit of Quantification</i> )
<b>MAPA</b>	Ministério da Agricultura e Pecuária
<b>NPs</b>	Nanopartículas
<b>OMS</b>	Organização mundial da saúde
<b>PDI</b>	Índice de Polidispersão (do inglês <i>Polydispersity Index</i> )
<b>Polimat</b>	Grupo de Estudos em Materiais Poliméricos
<b>TEM</b>	Microscopia eletrônica de transmissão (do inglês <i>Transmission Electron Microscopy</i> )
<b>UV-Vis</b>	Ultravioleta-visível.

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	<b>16</b>
<b>2</b>	<b>REVISÃO DA LITERATURA</b> .....	<b>18</b>
2.1	FERRO EM ALIMENTOS .....	18
2.2	DETERMINAÇÃO DE METAIS .....	20
<b>2.2.1</b>	<b>Sensor colorimétrico</b> .....	<b>21</b>
2.3	NANOPARTÍCULAS .....	23
<b>2.3.1</b>	<b>Borra de café</b> .....	<b>25</b>
<b>3</b>	<b>OBJETIVOS</b> .....	<b>28</b>
3.1	OBJETIVO GERAL .....	28
3.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	28
<b>4</b>	<b>METODOLOGIA</b> .....	<b>29</b>
4.1	INTRUMENTAÇÃO.....	29
4.2	SOLUÇÕES E REAGENTES.....	29
4.3	PREPARO DO EXTRATO DA BORRA DE CAFÉ .....	29
4.4	CARACTERIZAÇÃO DO EXTRATO DA BORRA DE CAFÉ.....	30
<b>4.4.1</b>	<b>Determinação de compostos fenólicos totais</b> .....	<b>30</b>
4.5	PREPARAÇÃO DAS NANOPARTÍCULAS DE PRATA A PARTIR DO EXTRATO DA BORRA DE CAFÉ .....	31
<b>4.5.1</b>	<b>Caracterização das C-AgNPs</b> .....	<b>32</b>
<b>4.5.2</b>	<b>Otimização univariada da síntese das AgNPs</b> .....	<b>32</b>
4.6	SENSOR COLORIMÉTRICO.....	33
<b>4.6.1</b>	<b>Sensibilidade e seletividade das C-AgNPs ao Fe</b> .....	<b>33</b>
<b>4.6.2</b>	<b>Aplicação do sensor em amostras de suplementos alimentares</b> .....	<b>33</b>
<b>5</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	<b>34</b>
5.1	CARACTERIZAÇÃO DO EXTRATO .....	34
<b>5.1.1</b>	<b>Compostos fenólicos totais</b> .....	<b>34</b>
5.2	CARACTERIZAÇÃO DAS NANOPARTÍCULAS DE PRATA A PARTIR DA BORRA DE CAFÉ .....	35
<b>5.2.1</b>	<b>Caracterização físico-química e morfologia</b> .....	<b>35</b>
<b>5.2.2</b>	<b>Otimização do preparo das nanopartículas</b> .....	<b>38</b>
<b>5.2.3</b>	<b>Influência do pH</b> .....	<b>40</b>
5.3	SENSOR COLORIMÉTRICO.....	41

5.3.1	Varição da absorvância da banda de absorção da C-AgNPs.....	41
5.3.2	Varição da absorvância da banda de absorção da C-AgNPs na presença de Fe <sup>3+</sup> .....	44
5.3.3	Estabilidade das C-AgNPs e da resposta como sensor colorimétrico	46
5.3.4	Determinação de Ferro em suplementos.....	47
5.3.4.1	<i>Curva de calibração em meio aquoso e por adição do analito.....</i>	<i>47</i>
6	<b>CONCLUSÃO</b> .....	<b>51</b>
7	<b>PERSPECTIVAS</b> .....	<b>52</b>
8	<b>REFERÊNCIAS</b> .....	<b>53</b>

## 1 INTRODUÇÃO

A deficiência de ferro é considerada a carência nutricional mais comum no mundo, afetando cerca de 5 bilhões de pessoas<sup>1</sup>. Nesse sentido, a determinação de ferro em alimentos é essencial para garantir a adequação nutricional e a segurança alimentar, especialmente em países com baixo e médio Índice de Desenvolvimento Humano (IDH)<sup>2-6</sup>.

Métodos tradicionais de detecção e quantificação de íons metálicos utilizam comumente técnicas espectrométricas, como a espectrometria de absorção atômica (AAS), a espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado (ICP-OES) e a espectrometria de massas com plasma indutivamente acoplado (ICP-MS)<sup>7-9</sup>. Apesar da alta sensibilidade e confiabilidade dessas técnicas, seus altos custos operacionais e de instrumentação limitam sua aplicação em análises de rotina em muitos laboratórios<sup>7,10</sup>.

Nesse contexto, a síntese de nanopartículas de prata (AgNPs) como sensores colorimétricos tem se destacado como uma alternativa promissora para a detecção de metais em alimentos<sup>11-13</sup>. Esses sensores oferecem vantagens como baixo custo instrumental, simplicidade de operação, versatilidade de síntese e possibilidade de aplicação em larga escala<sup>12-14</sup>.

A síntese de AgNPs pode ser realizada por metodologias verdes, que empregam materiais biológicos como extratos vegetais, resultando em processos mais sustentáveis e eficientes<sup>15-17</sup>. A borra de café, um resíduo agroindustrial abundante e de baixo custo, é rica em compostos fenólicos com propriedades redutoras e antioxidantes, tornando-se uma excelente matéria-prima para a síntese de AgNPs<sup>18-22</sup>. Essa matriz atua na redução dos íons prata ( $\text{Ag}^+$ ) a prata metálica ( $\text{Ag}^0$ ), proporcionando um método simples, rápido e ambientalmente amigável<sup>22-24</sup>.

Além disso, as AgNPs possuem forte interação com a radiação eletromagnética, sendo eficazes como sensores colorimétricos devido ao efeito de ressonância de plasmons de superfície<sup>25-27</sup>. Esses sensores se destacam por sua resposta visual imediata, simplicidade e por requererem instrumentação básica, o que representa uma vantagem significativa em comparação às técnicas espectrométricas convencionais<sup>26-28</sup>.

Dessa forma, este trabalho tem como objetivo otimizar os parâmetros de síntese de AgNPs utilizando extrato de borra de café, com o intuito de desenvolver um sensor colorimétrico eficiente para a determinação de  $\text{Fe}^{3+}$  em alimentos. Serão realizadas a caracterização das nanopartículas e a avaliação da sensibilidade e seletividade do sensor frente a diferentes metais e ânions. A adoção dessa metodologia poderá facilitar o monitoramento de micronutrientes em alimentos, promovendo saúde pública e contribuindo para o combate às deficiências nutricionais de maneira sustentável<sup>29-31</sup>.

## 2 REVISÃO DA LITERATURA

### 2.1 FERRO EM ALIMENTOS

A deficiência de ferro é relatada como a deficiência nutricional mais prevalente em todo o mundo, afetando cerca de 5 bilhões de pessoas. Isso porque o ferro é um oligoelemento essencial para o metabolismo humano,<sup>1,2</sup> cujo desempenha funções importantes em reações enzimáticas que ocorrem nas mitocôndrias para a produção de energia celular, transporte de oxigênio através das hemoglobinas e no processo de fortalecimento do sistema imunológico.<sup>3</sup>

Neste sentido o metabolismo humano possui uma faixa de concentração adequada do elemento, onde seu consumo inadequado pode acarretar consequências significativas na saúde do indivíduo. De acordo com Ganz (2013), o ser humano possui entre 3,0 a 4,0 g de ferro elementar no corpo humano, sendo distribuído principalmente na hemoglobina.<sup>3,4</sup> O ferro também pode ser armazenado na forma de ferritina ou hemossiderina, localizadas principalmente no fígado, baço, medula óssea e, na mioglobina nos tecidos musculares. A absorção do ferro ocorre predominantemente por meio da dieta, através de duas vias distintas: como ferro não-heme oriundo de vegetais ou outras fontes de alimentos à base de plantas, ou como ferro ligado ao heme proveniente de carnes ou alimentos de origem animal, o qual é geralmente mais biodisponível.<sup>4</sup> O excesso de Fe no organismo pode acarretar no aumento do risco de câncer e doenças cardíacas e a sua falta pode acarretar casos de anemia.<sup>4</sup>

A anemia é uma condição sanguínea que ocorre quando o organismo não possui quantidades adequadas de hemoglobina, presente nos glóbulos vermelhos, sendo as células responsáveis pelo transporte de oxigênio para todo o corpo.<sup>5</sup> As causas mais comuns da doença estão associadas a doenças hereditárias (talassemia, anemia falciforme e deficiência de glicose-6-fosfato desidrogenase (G6DP)), doenças infecciosas (infecções bacterianas, ancilostomídeos, vírus da imunodeficiência humana ou síndrome da imunodeficiência adquirida (HIV/AIDS), infecções parasitárias intestinais, malária e tuberculose) e deficiência nutricional (vitamina A, ácido fólico e principalmente ferro).<sup>5,6</sup> Os sintomas e complicações de anemia variam conforme o seu grau de intensidade, duração e causa subjacente. Em curto prazo o

indivíduo pode apresentar quadros de alta fadiga e fraqueza, problemas cardíacos, maior suscetibilidade a infecções e alteração no peso corporal. Já em longo prazo há prejuízo no desenvolvimento cognitivo em crianças, redução da capacidade de trabalho em adultos, aumento do risco de morbidez e indução de problemas gestacionais.<sup>6</sup>

De acordo com a Organização Mundial de Saúde (OMS), através do Relatório Global de Nutrição de 2014, tem-se como uma das principais metas a redução pela metade do número de casos de anemia no mundo até 2025.<sup>5,7</sup> O trabalho de Lee *et al* (2025) quantificou a carga global da deficiência de ferro na dieta dentre os anos de 1990 a 2021, com foco em onde a ingestão inadequada de ferro na dieta levou a manifestações clínicas como anemia.<sup>8</sup> Apresentando que países de baixo e médio índice de desenvolvimento humano (IDH), prevalecem como as regiões com maiores casos de anemia, devido a maior fragilidade alimentar e falta de recursos para tratamentos, além de que mulheres e crianças são a população mais afetada.<sup>6,8</sup> Apontando que os casos de anemia se relacionam diretamente com condições socioeconômicas.

Dessa forma, ao longo das últimas décadas estratégias para a prevenção e tratamento de anemia por deficiência de ferro (ADF), considerada a oitava maior causa modificável de anos vividos com incapacidade em todas as faixas etárias, são apontadas na literatura.<sup>4,8</sup> As cinco estratégias mais comumente usadas são (1) diversificação alimentar, (2) fortificação de alimentos com Fe, (3) suplementação de multimicronutrientes, (4) tratamento de infecções parasitárias que contribuem para a deficiência de ferro e (5) fortificação a água potável com ferro ferroso solúvel ( $\text{Fe}^{2+}$ ).<sup>9,10</sup>

Neste trabalho chama-se atenção para as estratégias que visam a fortificação de alimentos com Fe. De acordo com o guia de diretrizes sobre fortificação de alimentos com micronutrientes (2006) dirigido pela OMS e pela Organização das Nações Unidas para Alimentação e Agricultura (FAO), a fortificação é a prática de aumentar deliberadamente o conteúdo de um micronutriente essencial em um alimento, a fim de melhorar a qualidade nutricional da fonte alimentícia e fornecer um benefício para a saúde pública, com o mínimo de risco.<sup>11</sup> Na literatura são apontados diversos tipos de fortificação, sendo os mais comuns a fortificação em massa (a adição de micronutrientes a alimentos muito consumidos pela população durante o processo

industrial) e a biofortificação (técnica que melhoramento genético de sementes que possibilita elevar o teor de micronutrientes dos alimentos).<sup>9,12</sup>

A versatilidade da fortificação nos alimentos é bastante explorada na literatura durante várias décadas, Abdul-Razak *et al* (2012) realizaram um estudo com crianças de 5 a 12 anos de idade mantendo uma dieta com farinha de feijão-caupi fortificado com NaFeEDTA em uma área endêmica de malária, obtendo redução de 30% e 47% na prevalência de deficiência de ferro e anemia ferropriva.<sup>13</sup> Já Gupta *et al* (2020) propuseram o desenvolvimento de um novo composto de fitato férrico para fortificação de caldos com ferro, resultando em uma maior indução de ferritina celular apresentando uma maior estimativa de absorção de ferro.<sup>14</sup> Por sua vez, o trabalho realizado por Baumgartner *et al* (2022) avaliaram a absorção e biodistribuição de ferro do fosfato férrico nanoestrutura, atingindo 72% de biodisponibilidade relativo em comparação ao material não nanoestruturado.<sup>15</sup>

Dessa forma, a fortificação se apresenta como um dos principais meios para o aumento e maior biodisponibilidade de Fe em amostras alimentícias, o que auxilia e direciona a indústria alimentícia no desenvolvimento de novos componentes e metodologias de fortificação. Nesse sentido, método para determinação de ferro têm recebido atenção crescente, especialmente em países onde há grande ocorrência de doenças por deficiências nutricionais, como a anemia, sendo que estes apresentam baixo IDH e necessitam de técnicas simples, mas robustas para quantificação de micronutrientes. Sendo assim, necessário o desenvolvimento de métodos alternativos que utilizem técnicas simples, acessíveis e que possibilitem a quantificação de ferro e outros elementos em alimentos, visando o controle de qualidade no que se refere a concentração deste micronutriente.

## 2.2 DETERMINAÇÃO DE METAIS

As técnicas espectrométricas configuram entre as principais técnicas utilizadas para a determinação de metais em diferentes amostras. No trabalho de Dacol *et al* (2009), os autores utilizaram espectrometria de absorção atômica (AAS) para determinar Cd, Fe, Pb e Zn em amostras certificadas de fígado bovino (SRM1577b).<sup>16</sup> Rusin *et al* (2020), realizaram a determinação de metais potencialmente tóxicos em amostras de frutas e vegetais. Os autores analisaram 370

amostras preparadas de acordo com seu modo usual de consumo. Neste trabalho, as amostras foram tratadas com ácido nítrico e peróxido de hidrogênio, sendo posteriormente submetidas a um processo de mineralização por micro-ondas. A determinação de Cd e Pb foi realizada por espectrometria de absorção atômica com forno de grafite (GF AAS).<sup>17</sup> O trabalho desenvolvido por Farahani *et al* (2014) investigou a clara de ovos de 32 granjas avícolas industriais em diferentes regiões da cidade de Markari – Irã. Os autores avaliaram seis metais pesados, incluindo Al, As, Pb, Cd, Hg e Sb através da técnica de espectrometria de emissão ótica com plasma indutivamente acoplado (ICP OES).<sup>18</sup> Já no trabalho produzido por Catenza *et al* (2022), os autores prepararam amostras alimentícias à base de canabinoides por digestão assistida por micro-ondas usando apenas ácido nítrico para determinação de 14 metais pesados, incluindo As, Cd, Hg e Pb, usando a técnica de espectrometria de massa com plasma indutivamente acoplado (ICP-MS).<sup>19</sup>

As técnicas espectrométricas citadas são amplamente utilizadas na determinação de metais devido à sua elevada sensibilidade, permitindo alcançar detecção a ordem de  $\text{ng L}^{-1}$ . Ademais, ICP OES e ICP-MS são multielementares e possibilitam a vários elementos em uma mesma análise.<sup>20</sup> Apesar das vantagens citadas, as técnicas apresentam alto custo operacional, instrumental e de manutenção, além da necessidade do tratamento prévio de amostras, principalmente quando se trata de matrizes complexas como amostras alimentícias. Nesse sentido, o desenvolvimento de métodos alternativos que sejam mais simples e menos custosos para análise elementar de amostras é fundamental. Uma alternativa que vem crescendo na literatura são os métodos que utilizam sensores colorimétricos baseados em nanopartículas.

### **2.2.1 Sensor colorimétrico**

Sensores colorimétricos podem ser desenvolvidos a partir de diferentes materiais, mas todos apresentam o mesmo princípio fundamental: a mudança perceptível na coloração do sistema na presença de um determinado analito.<sup>21</sup> Essa alteração visual está geralmente associada a interações específicas entre sensor e p analito, como força de Van der Waals, ligações de hidrogênio e processos de adsorção física ou química.<sup>22</sup>

Dentre as abordagens mais promissoras, destaca-se a utilização de nanopartículas metálicas, como de Ag, Au e Pb, as quais apresentam forte interação com a radiação eletromagnética, permitindo a visualização da mudança de coloração a olho nu. A coloração pode se modificar por diversos mecanismos, incluindo anti-agregação, funcionalização por ligação direta com o analito ou ainda agregação induzida. Entretanto, para que o sensor opere de maneira eficiente, é essencial otimizar condições de análise, uma vez que a resposta do sensor pode ser influenciada por fatores como pH, temperatura e força iônica.<sup>23,24</sup>

Para além o comportamento do sensor colorimétrico constituído por nanopartículas pode ser analisado através da técnica de espectrofotometria na região do UV-Vis. Cujas se destaca por sua simplicidade de uso, capacidade de reduzir procedimentos complexos de preparação de amostras e sendo menos custosa em comparação com as técnicas espectrométricas citadas anteriormente, assim tornando-se uma opção acessível mesmo a laboratórios com recursos limitados.

A determinação tanto de moléculas orgânicas como íons metálicos através da síntese de sensores colorimétricos baseados em NPs já são consolidadas na literatura. O trabalho produzido por Scroccarello *et al* (2019) desenvolveu nanopartículas de prata (AgNPs) e de ouro (AuNPs) para determinação de açúcares e polifenóis em maçãs.<sup>25</sup> Já Dong *et al* (2017) determinaram a presença do íon  $\text{Cd}^{2+}$  a partir de AgNPs estabilizadas com chalcona. Observando que à medida que ocorria a adição de  $\text{Cd}^{2+}$  havia agregação das AgNPs e por consequência alteração da banda de plasmônica de absorção da NPs é observada.<sup>26</sup> Andreani *et al* (2021) propuseram o desenvolvimento de um sensor colorimétrico baseada em AuNPs revestidas com ácido orto-hidroxibenzóico para determinação de  $\text{Fe}^{3+}$ . Os resultados apontaram boa precisão e exatidão para a detecção do analito em campos de arroz, rios e águas do mar na região de Yogyakarta – Indonésia.<sup>27</sup>

Dessa forma, o uso de sensores colorimétricos baseados em NPs associado a determinações por espectrofotometria na região de UV-Vis tornar-se uma excelente alternativa para detecção de moléculas orgânicas e íons metálicos em diferentes matrizes. Nesse sentido, o sensor contorna algumas limitações das técnicas espectrométricas tradicionais, mostrando-se promissora para o desenvolvimento do trabalho aqui proposto, a fim de determinar a presença de  $\text{Fe}^{3+}$  em amostras alimentícias.

## 2.3 NANOPARTÍCULAS

O termo "nanopartículas" (NPs) refere-se a materiais com dimensões na escala nanométrica (1 – 100 nm), desempenhando um papel importante em diversas áreas da ciência. As NPs podem ser classificadas em duas grandes categorias: poliméricas e inorgânicas.<sup>28</sup> As NPs poliméricas incluem lipossomos, nanotubos e dendrímeros, com aplicações que variam desde capacitores até transportadores de medicamentos para tratamentos biológicos. Por outro lado, as NPs inorgânicas abrangem nanopartículas metálicas, óxidos metálicos e *quantum dots*, que encontram aplicações em áreas como catálise, citotoxicidade e sensores colorimétricos.<sup>21,28</sup>

Uma característica notável das nanopartículas metálicas, como ouro (Au), prata (Ag) e cobre (Cu), é a forte interação com a radiação eletromagnética devido à presença da Superfície Localizada de Ressonância de Plasmon (LSPR).<sup>29</sup> De acordo com LANGER 2015 Esse fenômeno ocorre quando elétrons na camada de valência do metal interagem em resposta à radiação incidente de ondas eletromagnéticas, gerando dipolos oscilantes na partícula, com frequência determinada pelo comprimento de onda da radiação incidente.<sup>29,30</sup> O comportamento mencionado está esquematicamente representado pela Figura 1.

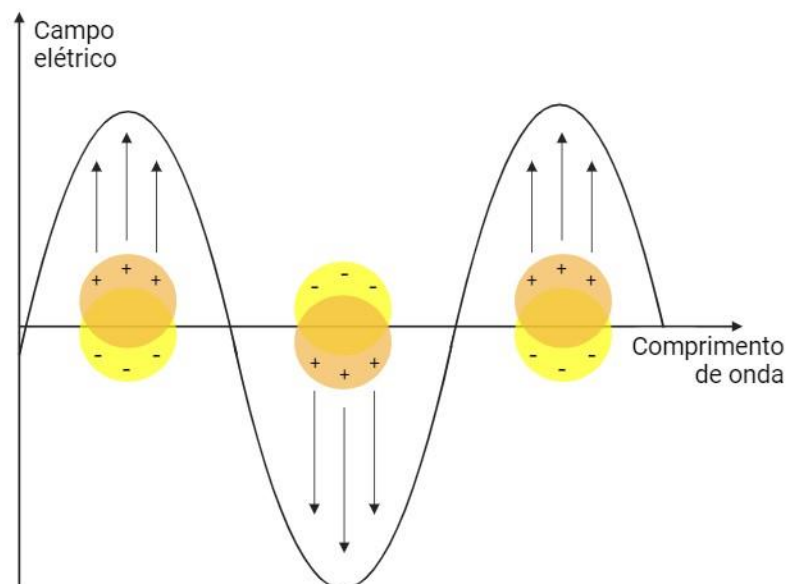


Figura 1 - Representação da Ressonância de Plasmon de Superfície Localizada em NPs metálicas. Fonte: Adaptado de Toma *et al*, 2010.<sup>29</sup>

Além da densidade eletrônica da superfície, a morfologia das NPs metálicas e a constituição da NPs influenciam na frequência de oscilação dos dipolos. Dessa

forma, a banda de absorção das NPs pode variar conforme ocorra alteração nos aspectos citados. Assim, sendo possível sua análise através da técnica de UV-Vis como já mencionada anteriormente. Logo a capacidade de interagir fortemente com a radiação torna as NPs metálicas interessantes em diversas aplicações, especialmente para atuarem como sensores colorimétricos em áreas que exploram propriedades ópticas, como a detecção de substâncias e processos químicos.<sup>28</sup>

Para se obter NPs metálicas, podem ser utilizados dois métodos: “*Bottom-up*” e “*Top-down*”.<sup>31</sup> De forma geral, o método “*Top-down*” significa reduzir o tamanho da estrutura em direção à nanoescala. Já o método “*Bottom-up*” é a formação de uma grande nanoestrutura a partir de átomos, moléculas ou aglomerados.<sup>31</sup> A Figura 2 exemplifica os métodos “*Bottom-up*” e “*Top-down*” para síntese de NPs metálicas.

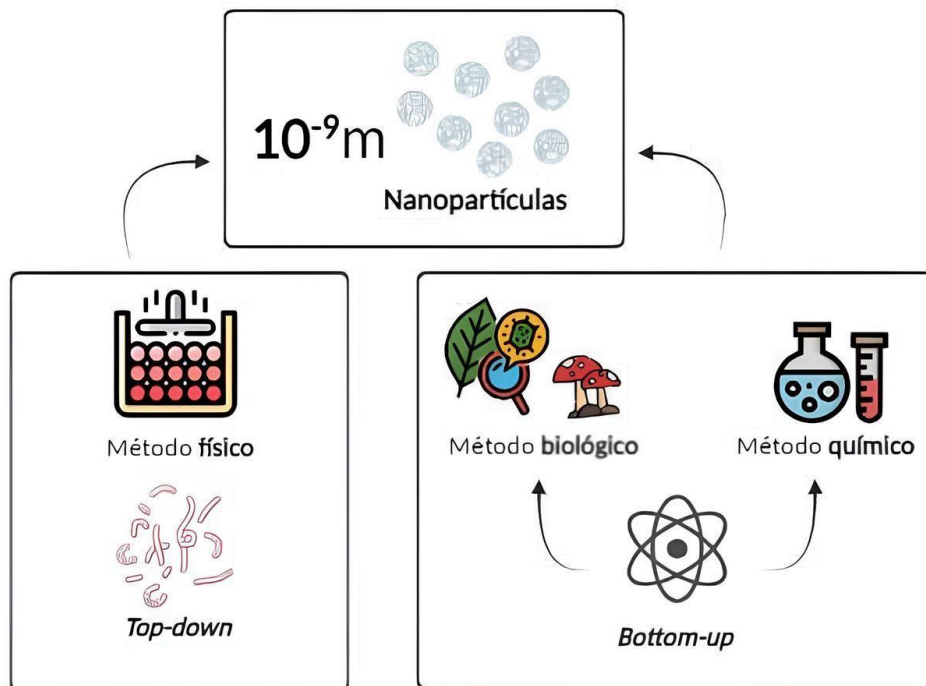


Figura 2 - Ilustração dos métodos *bottom-up* e *top-down* para síntese de nanopartículas metálicas. Fonte: Adaptado de Rocha, 2023.<sup>32</sup>

As abordagens “*Top-down*” inclui técnicas físicas que frequentemente demandam uma quantidade substancial de energia para transformar um material de escala macroscópica em NPs, como por exemplo métodos de atrito (trituração e moagem), além de métodos mais complexos que envolvem quebras microfluídicas e litografia.<sup>31</sup> Para além está abordagem geralmente são mais diretas, envolvendo a eliminação de material em excesso ou a miniaturização de técnicas de fabricação em larga escala para criar uma estrutura específica com as propriedades desejadas.<sup>31</sup>

Para as abordagens “*Bottom-up*” envolvem a redução do tamanho dos componentes do material, seguida por um processo de automontagem resultando na formação de nanoestruturas maiores.<sup>31,33</sup> Esse processo possibilita a criação de formas, tamanhos e distribuições uniformes em diversos materiais em escala nanométrica. Por outro lado, os métodos químicos recorrem frequentemente a solventes orgânicos na fabricação de NPs, o que pode resultar na produção de resíduos de difícil tratamento. No entanto, entre as diversas abordagens biológicas, algumas utilizam extratos de plantas como agentes redutores e estabilizadores das NPs, sem gerar quantidades significativas de resíduos tóxicos.

O método mais tradicional de realizar a síntese de NPs é a utilização da abordagem “*Bottom-up*” através métodos físicos e químicos, que embora sejam eficazes na criação de NPs definidas, eles apresentam algumas limitações, como um longo tempo de síntese, custos de produção mais elevados, desafios na purificação e principalmente a geração de subprodutos perigosos e poluentes.<sup>31</sup> Por outro lado, a abordagem “*Bottom-up*” pode ser menos invasiva ao meio ambiente ao se atrelar a métodos de síntese verde, oferecendo vantagem devido a utilização de agentes biológicos para a síntese de NPs, como por exemplo o uso de plantas, empregando seus extratos obtidos de diferentes tecidos vegetais, na produção de NPs metálicas.<sup>34</sup>

### **2.3.1 Borra de café**

Devido à preocupação em obtenção das NPs metálicas de forma mais verde, a base de compostos vegetais, faz-se necessário a indagação por insumos abundantes no Brasil como frutas, ervas, e até mesmo resíduos provenientes da produção de bebidas como chás e café.

De acordo Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Embrapa) atualmente o Brasil detém a posição de maior produtor e exportador global de café.<sup>35</sup> Em 2023, o país possuía uma área total de cultivo destinada ao café arábica (*Coffea arabica*) e conilon (*Coffea canephora*) de 2,26 milhões de hectares, o que gerou de acordo com a Companhia Nacional de Abastecimento (Conab) uma produção de 54,94 milhões de sacas de café.<sup>36</sup> Para além, o Brasil ocupa a posição de segundo maior consumidor de café do mundo, perdendo apenas para os Estados Unidos, conforme o Ministério da Agricultura e Pecuária (MAPA).<sup>36</sup>

Aliado a esses dados, o estudo feito por Miranda *et al* (2021) mostra que o brasileiro consome em média 3 xícaras de café por dia, equivalente a 150 mL/dia.<sup>37</sup> Portanto, deve-se considerar a quantidade de resíduos gerados nesses preparos, os quais são descartados sem nenhum tipo de reaproveitamento. A produção de café gera um subproduto inevitável: a borra de café usada, que surge tanto na indústria do café solúvel quanto no consumo em estabelecimentos de alimentação e residências. De acordo com Murthy e Naidu (2012) estima-se que para cada tonelada de café verde processado sejam gerados 650 kg de borra de café e para cada quilo de café solúvel produzido, sejam gerados 2 kg desse mesmo resíduo.<sup>38</sup> Esse tipo resíduo além de volumoso, e por vezes considerados não estáveis, têm um alto potencial poluente devido à presença de ingredientes como cafeína, e polifenóis além de demandar grande quantidade de oxigênio para ser degerada.<sup>37,39</sup>

Dentre as moléculas constituintes da borra de café, destacam-se o ácido cafeico e seus derivados, os quais pertencem ao grupo dos compostos fenólicos (respectivas estruturas são mostradas através da Figura 3). Esses compostos são amplamente reconhecidos por suas propriedades antioxidantes o que podem torna-lo um agente redutor e estabilizante para a produção de NPs metálicas. O caráter estabilizante se deve à presença de grupos hidroxila fenólicos e carboxílicos em suas estruturas, que permitem que essas moléculas se adsorvam na superfície das nanopartículas recém-formadas, criando uma camada protetora que impede a aglomeração das partículas. Dessa forma, além de reduzirem os íons metálicos à forma elementar, os compostos fenólicos também mantêm as nanopartículas estáveis e dispersas no meio reacional.

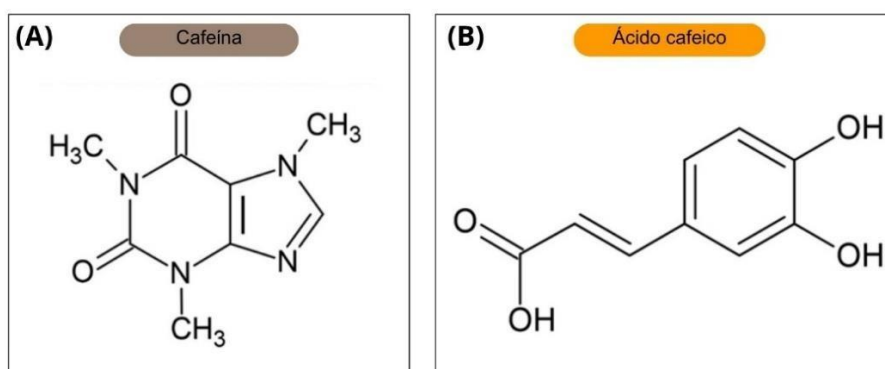


Figura 3 - Representação estrutural (a) cafeína e (b) ácido cafeico.  
Fonte: Elaborado pelo autor.

A síntese biológica de NPs utilizando extratos vegetais, como a borra de café apresenta diversas vantagens, principalmente no que diz respeito a não utilização de reagentes químicos tóxicos e condições extremas de temperatura e pressão. Utilizando extratos vegetais, a síntese biológica promove a formação de NPs em condições suaves e ambientalmente amigáveis, além de incorporar as propriedades antioxidantes dos compostos fenólicos, conferindo funcionalidades adicionais às NPs.

### 3 OBJETIVOS

#### 3.1 OBJETIVO GERAL

Sintetizar e caracterizar nanopartículas de prata (AgNPs) a partir de extrato da borra de café e avaliar o potencial sensor colorimétrico visando a aplicação para determinação de ferro em amostras de suplementos alimentares.

#### 3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Avaliar a influência dos parâmetros relacionados a produção de extrato aquoso de borra de café para preparação de AgNPs;
- Caracterizar por meio de análises de DLS, potencial zeta e espectrofotometria na região do UV-Vis as AgNPs produzidas a partir do extrato aquoso da borra de café;
- Avaliar a sensibilidade e seletividade das AgNPs para íons inorgânicos;
- Estabelecer a condição ótima para maximizar a resposta do sensor na presença do analito;
- Avaliar o potencial para aplicação do sensor colorimétrico baseado em AgNPs para determinação de Fe em amostras suplementos alimentares.

## 4 METODOLOGIA

### 4.1 INSTRUMENTAÇÃO

O preparo do extrato aquoso da borra de café foi realizado utilizando chapa magnética de aquecimento e agitação mecânica da Dist, modelo D103 e balança analítica da Bel Equipamentos Analíticos modelo M254Ai. As C-AgNPs foram preparadas utilizando banho de aquecimento e refrigeração da MicroQuímica, modelo MQBTC 99-20 e bomba peristáltica automática da Ismatec, modelo ISM935C. As medições foram realizadas no espectrofotômetro de absorção molecular na região do visível da Phox, modelo V3210. A verificação e ajuste de pH foi realizada utilizando medidor de pH da Oakton, modelo ION700. As micrografias foram realizadas utilizando um microscópio eletrônico de transmissão da JEOL, modelo Neoscope JCM-5000 (IQ-USP). As análises de espelhamento dinâmico de luz e do potencial zeta foram realizadas utilizando o Zetasizer Nano ZS da Malvern, modelo ZEN3500 (Polimat - UFSC).

### 4.2 SOLUÇÕES E REAGENTES

A borra de café utilizada provém de uma mesma marca, sendo obtida a partir do consumo doméstico. Para o preparo das nanopartículas e ajustes de pH, foram utilizados ácido nítrico ( $\text{HNO}_3$ ), hidróxido de sódio ( $\text{NaOH}$ ) e o tampão utilizado para diluição das C-AgNPs são da marca Neon. O nitrato de prata ( $\text{AgNO}_3$ ) utilizado para o preparo das C-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 C-AgNPs de  $\text{Al}^{3+}$ ,  $\text{Ba}^{2+}$ ,  $\text{Be}^{2+}$ ,  $\text{Cd}^{2+}$ ,  $\text{Ce}^{3+}$ ,  $\text{Co}^{2+}$ ,  $\text{Cr}^{3+}$ ,  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Fe}^{2+}$ ,  $\text{Fe}^{3+}$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Mn}^{2+}$ ,  $\text{Mo}^{6+}$ ,  $\text{Pb}^{2+}$ ,  $\text{Sb}^{3+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$   $\text{NH}_4^+$ ,  $\text{I}^-$ ,  $\text{V}^{2+}$ ,  $\text{S}^{2-}$  e  $\text{CN}^-$  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 dos suplementos alimentares comerciais (Amostras A e B) foram adquiridas em farmácias locais da região de Florianópolis.

### 4.3 PREPARO DO EXTRATO DA BORRA DE CAFÉ

O preparo do extrato aquoso foi baseado no trabalho proposto por Panzella *et al* (2020).<sup>40</sup> A borra de café, obtida a partir do consumo doméstico, de uma mesma marca, foi seca a 50 °C durante 24 h. Os extratos foram preparados com aproximadamente 50 g de borra de café seca, adicionadas a 100 mL de água a temperatura de ebulição e, mantidas sob agitação mecânica durante 20 min. Posteriormente, o extrato foi filtrado ainda quente usando funil e papel filtro. Esse extrato aquoso foi utilizado para a preparação das AgNPs. O esquema citado foi representado pela Figura 4.

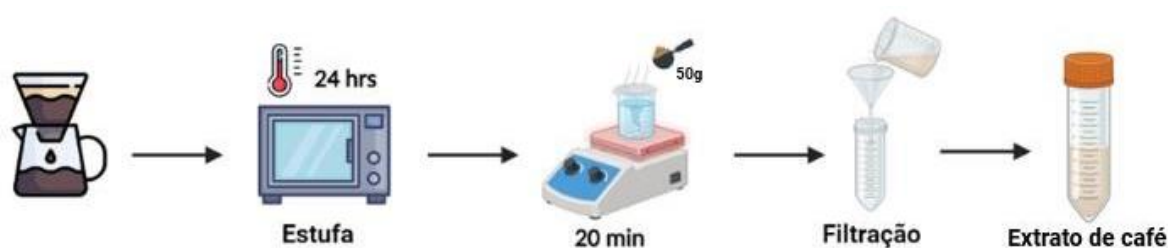


Figura 4 – Representação esquemática da obtenção do extrato da borra de café.  
Fonte: Elaborado pelo autor

#### 4.4 CARACTERIZAÇÃO DO EXTRATO DA BORRA DE CAFÉ

##### 4.4.1 Determinação de compostos fenólicos totais

A quantificação dos compostos fenólicos totais (CFT) presentes no extrato aquoso da borra de café foi realizada utilizando o método colorimétrico baseado na reação com o reagente de Folin–Ciocalteu. Este método, originalmente descrito por Singleton e Rossi (1965), é amplamente utilizado para avaliar o teor de fenóis totais em matrizes alimentares e extratos vegetais, devido à sua sensibilidade e reprodutibilidade.<sup>41,42</sup>

O procedimento experimental consistiu na preparação de uma mistura contendo 100 µL do extrato aquoso, 500 µL de água destilada e 500 µL do reagente de Folin–Ciocalteu previamente diluído (1:10). Após cinco minutos de reação inicial, foram adicionados 500 µL de uma solução de carbonato de sódio ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ) a 7,5% (m/v). A mistura foi homogeneizada e incubada à temperatura ambiente, protegida da luz, por um período de 60 minutos, conforme protocolos descritos na literatura.<sup>43</sup>

As leituras de absorvância foram realizadas em espectrofotômetro UV-Vis no comprimento de onda de 765 nm, utilizando como referência um branco de reagentes preparado sob as mesmas condições, com substituição do extrato por água ultrapura. As análises foram conduzidas em quadruplicata, e os valores finais de absorvância foram obtidos pela média das leituras com correção pelo branco, seguindo metodologia validada para análises espectrofotométricas de fenólicos.<sup>42</sup>

A quantificação dos fenólicos totais foi realizada com base em uma curva padrão construída com soluções de ácido gálico em concentrações entre 10 e 80 mg L<sup>-1</sup>, preparadas em água ultrapura. As soluções-padrão foram submetidas ao mesmo procedimento reacional descrito para as amostras. A equação da reta obtida foi utilizada para calcular a concentração dos compostos fenólicos no extrato, expressa em gramas de equivalentes de ácido gálico por litro de solução (g GAE L<sup>-1</sup>), como proposto por Murthy e Naidu (2012) em estudos envolvendo subprodutos da indústria do café.<sup>44</sup>

#### 4.5 PREPARAÇÃO DAS NANOPARTÍCULAS DE PRATA A PARTIR DO EXTRATO DA BORRA DE CAFÉ

As nanopartículas de prata a partir do extrato da borra de café (C-AgNPs) foram preparadas baseadas no método proposto por Bhagat *et al* (2022)<sup>45</sup> e as condições e concentrações propostas basearam-se no trabalho de Rocha (2023)<sup>32</sup> e estiveram sujeitas a otimização devido ao fato de que o extrato escolhido possuía diferente composição. Foram adicionados 750 µL do extrato, 400 µL 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 ± 2 °C utilizando banho térmico com béquer encamisado. Então, a esta mistura foram adicionados, por gotejamento, 1250 µL de AgNO<sub>3</sub> (0,01 mol L<sup>-1</sup>), com uma vazão aproximada de 200 µL min<sup>-1</sup>. Passados 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 indicou a formação de nanopartículas. A Figura 5 ilustra o processo de preparo de nanopartículas de prata utilizando extrato da borra de café.

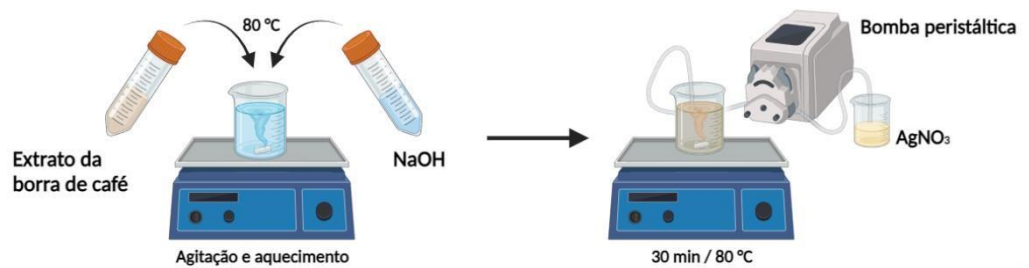


Figura 5 – Síntese das nanopartículas de prata a partir do extrato da borra de café  
Fonte: Elaborado pelo autor.

#### 4.5.1 Caracterização das C-AgNPs

Para a caracterização e avaliação das C-AgNPs, foi utilizado a espectrofotometria de absorção molecular na região do UV-Vis, aplicando uma varredura entre 350 - 700 nm. Sendo que a estabilidade coloidal das C-AgNPs foi avaliada através da variação de absorção da banda plasmônica, dessa forma permitindo acompanhar o comportamento e avaliar a possibilidade das C-AgNPs em dias posteriores a sua síntese. Além de avaliar a influência do pH na banda de absorção das C-AgNPs, utilizando uma faixa de pH entre 2 a 6.

A definição do diâmetro médio e morfologia das nanopartículas foi realizada por meio da Microscopia Eletrônica de Transmissão (TEM). As micrografias obtidas foram processadas no *software* livre ImageJ®, por meio de 100 medidas. O tamanho hidrodinâmico médio e o índice de polidispersão (PDI) do sistema também foram avaliados através da análise por DLS, e em conjunto medidas do potencial-zeta, a fim de investigar a carga superficial da NPs, foram realizadas.

#### 4.5.2 Otimização univariada da síntese das AgNPs

Visando a melhoria e otimização do método de preparação de C-AgNPs, foi empregada uma abordagem de otimização univariada. Nesse contexto, o volume do extrato foi ajustado variando-se uma variável por vez, enquanto os volumes das soluções de NaOH 0,1 mol L<sup>-1</sup> e o tempo de aquecimento foram mantidos constantes. A escolha desses fatores se baseia em estudos anteriores, conduzidos Sharma *et al* (2008) que revisaram métodos de síntese verde com avaliação paramétrica univariada,<sup>46</sup> e Ajitha *et al* (2014), que aplicaram otimização univariada para configurar propriedades de AgNPs produzidos com extrato de *Plectranthus amboinicus*.<sup>47</sup> Isso

não apenas economizou recursos, mas também contribuiu para a obtenção de resultados mais consistentes e confiáveis no processo de síntese.

## 4.6 SENSOR COLORIMÉTRICO

### 4.6.1 Sensibilidade e seletividade das C-AgNPs ao Fe

Para verificar a sensibilidade das C-AgNPs na presença de diferentes íons metálicos e ânions, utilizou-se como base o método proposto por Bhagat *et al* (2022)<sup>45</sup>, onde foram preparadas soluções contendo diferentes íons na concentração de 10 mg L<sup>-1</sup>. A cada solução foi adicionado 500 µL da dispersão de AgNP, 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>2+</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>, Zn<sup>2+</sup> NH<sub>4</sub><sup>+</sup>, I<sup>-</sup>, V<sup>2+</sup>, S<sup>2-</sup> e CN<sup>-</sup>. Após a leitura avaliou-se a variação na absorvância da banda plasmônica da AgNPs em relação a solução sem os analitos.

Para determinação do 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 1 abaixo.

$$LOD = \frac{LOQ}{3,3} \quad \text{Equação 1}$$

### 4.6.2 Aplicação do sensor em amostras de suplementos alimentares

A aplicação das C-AgNPs foi realizada na determinação de ferro em amostras de suplementos alimentares. Para isso, foram selecionados dois suplementos comercialmente disponíveis: Amostra A 30 mg e Amostra B 40 mg, adquiridos em farmácias locais.

Inicialmente, visando avaliar a viabilidade da aplicação direta do sensor, foram construídas curvas de calibração em meio aquoso, seguindo metodologia baseada no trabalho de Bhagat *et al* (2022).<sup>45</sup> As soluções padrão de ferro foram preparadas a

partir de  $\text{Fe}^{3+}$  em concentrações conhecidas, sendo misturadas com as C-AgNPs e analisadas por espectrofotometria UV-Vis.

Considerando que a matriz dos suplementos poderia apresentar componentes interferentes como proteínas, açúcares, excipientes e antioxidantes, foi posteriormente adotada a estratégia de adição de analito, técnica frequentemente recomendada em sistemas complexos.<sup>48</sup> Nesse procedimento, porções da amostra diluída foram preparadas e volumes crescentes de solução padrão de  $\text{Fe}^{3+}$  foram adicionados diretamente à amostra. Em cada alíquota, manteve-se constante a composição da matriz e o volume final de reação foi fixado em 1300  $\mu\text{L}$ .

Para cada ensaio, foram adicionados 10  $\mu\text{L}$  da amostra, 300  $\mu\text{L}$  da suspensão de C-AgNPs e volumes variáveis da solução padrão de ferro com concentração de 0,10  $\text{mmol L}^{-1}$ . O volume restante foi completado com tampão pH 4, de acordo com as condições previamente otimizadas para o sensor, conforme reportado por Yao *et al* (2024).<sup>49</sup> A escolha do pH 4 baseou-se na maior sensibilidade do sistema colorimétrico das C-AgNPs frente ao  $\text{Fe}^{3+}$  nessa condição.<sup>45,50</sup>

As absorvâncias medidas em espectrofotômetro UV-Vis na faixa de 350 a 700 nm, monitorando a banda de plasmônica de superfície característica das AgNPs. As curvas de adição foram construídas correlacionando os valores de absorvância obtidos com as concentrações adicionadas de ferro. Os dados obtidos posteriormente foram utilizados para a extrapolação e quantificação da concentração de ferro originalmente presente nas amostras. Este procedimento visou minimizar potenciais interferências de matriz, garantindo maior confiabilidade na determinação de ferro por sensores colorimétricos baseados em NPs metálicas.<sup>51,52</sup>

## **5 RESULTADOS E DISCUSSÃO**

### **5.1 CARACTERIZAÇÃO DO EXTRATO**

#### **5.1.1 Compostos fenólicos totais**

A concentração de compostos fenólicos totais no extrato aquoso de borra de café foi determinada utilizando o reagente de Folin-Ciocalteu. As leituras de

absorvância foram obtidas por espectrofotometria UV-Vis, resultando em valores médios corrigidos (com subtração do branco) de  $0,2558 \pm 0,016$ . Aplicando a equação da curva padrão de ácido gálico ( $y = 0,0072x + 0,0098$ ), foi calculada uma concentração de  $0,034 \text{ g GAE L}^{-1}$  de compostos fenólicos totais no extrato. Considerando-se o rendimento de extração e a massa utilizada, esse valor equivale aproximadamente a  $6,8 \text{ mg GAE/g}$  de borra de café seca.

A presença de compostos fenólicos no extrato aquoso de borra de café reforça seu potencial como fonte de moléculas bioativas. Vamanu et al. destacaram a ocorrência de ácidos clorogênicos e outros polifenóis nesse resíduo<sup>53</sup>. Além disso, os resultados obtidos são compatíveis com os valores reportados por Cruz et al., que observaram concentrações de 6 a 18 mg GAE/g em borra de café extraída com métodos ecoeficientes, indicando que o teor de fenólicos pode variar em função da matriz vegetal e do método de extração aplicado<sup>54</sup>.

Com o objetivo de garantir maior homogeneidade na composição do extrato, além de facilitar seu armazenamento e aplicação, foi utilizada borra de café previamente seca e triturada. Essa preparação serviu como base para estudos subsequentes, como a síntese de nanopartículas de prata (C-AgNPs), nas quais compostos fenólicos podem atuar como agentes redutores e estabilizantes.

## 5.2 CARACTERIZAÇÃO DAS NANOPARTÍCULAS DE PRATA A PARTIR DA BORRA DE CAFÉ

### 5.2.1 Caracterização físico-química e morfologia

Os indícios da formação de C-AgNPs em um primeiro momento podem ser observados de forma macroscópica devido à alteração da coloração da solução. Essa mudança é consequência da geração da banda plasmônica de superfície do metal, a qual pode ser identificada através da espectroscopia eletrônica de absorção. 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 máxima absorção relatada é entre 400 e 500 nm.<sup>55</sup> A Figura 6 mostra o espectro de absorção na região do visível dos reagentes, extrato da borra de café e  $\text{AgNO}_3$ , e das C-AgNPs.

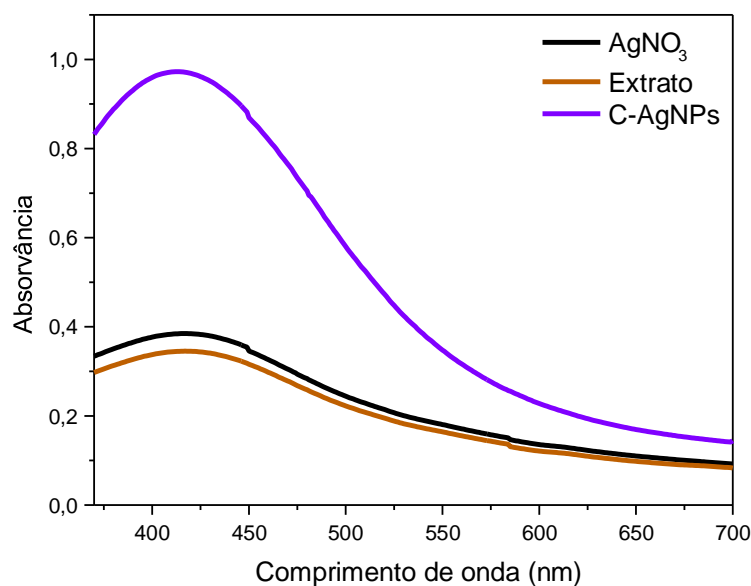


Figura 6 - Espectro de absorção na região do visível dos reagentes, AgNO<sub>3</sub> (0,01 mol L<sup>-1</sup>) e extrato da borra de café, e das C-AgNPs.

O perfil dos espectros de absorção dos reagentes, sal precursor (AgNO<sub>3</sub>) e do extrato da borra de café, na faixa de comprimento de onda avaliada, são similares apresentando o mesmo comportamento. Contudo, observa-se que o perfil do espectro obtido para as C-AgNPs é distinto, com a presença de uma banda bem definida e intensa, com absorvância máxima em 413 nm. Dessa forma, pode-se afirmar que há fortes indícios da formação das C-AgNPs, dado que a banda de absorção obtida está dentro da faixa estimada para as AgNPs em geral, logo pode ser atribuída a presença da banda plasmônica das C-AgNPs.

Para além, o espectro de absorção pode estipular a estabilidade e aproximação do tamanho médio 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.<sup>56</sup> O trabalho desenvolvido por Pal *et al* (2007), os autores obtiveram AgNPs com absorção máxima em aproximadamente 420 nm e com diâmetro médio próximo de 55 nm.<sup>57</sup> Dessa forma, considerando o comprimento de onda de absorção máxima obtido para as C-AgNPs, espera-se um diâmetro médio inferior a 55 nm.

Na sequência, medidas de espalhamento dinâmico de luz permitiram determinar o tamanho hidrodinâmico médio das C-AgNPs, resultando em  $55,7 \pm 4,42$  nm. As C-AgNPs apresentaram um PDI moderado de  $0,70 \pm 0,04$  indicando que as C-AgNPs podem estar em solução em diferentes populações de tamanhos, o que

indica que possíveis agregações de C-AgNPs de tamanhos menores possam estar ocorrendo, o que pode ser visualizado no histograma presente na Figura 7a.

O tamanho também foi analisado através de medidas de Microscopia Eletrônica de Transmissão (TEM). As imagens de TEM revelaram que as C-AgNPs possuem formato esférico (Figura 7b). Um histograma de distribuição de tamanhos (Figura 7c) foi construído, medindo-se o tamanho de cada uma das nanopartículas contidas na Figura 7b, com auxílio do *software* ImageJ®, e um tamanho médio de 55 nm, foi determinado. O valor obtido de tamanho hidrodinâmico é superior devido a presença da camada orgânica externa dos grupos fenólicos envolvendo as C-AgNPs (não visível nas micrografias de TEM), além da camada de solvatação.

Ao comparar os histogramas obtidos através das técnicas de DLS e TEM é possível visualizar que a população com tamanho médio de 100 nm não foi observada nas micrografias, estando então relacionadas a possíveis agregações em solução.

As medidas de potencial Zeta mostraram que as C-AgNPs possuem carga superficial negativa, em torno de -38,2 mV, atribuída a presença dos grupos ácidos carboxílicos dos compostos fenólicos presentes no café, como por exemplo o ácido cafeico, clorogênico e ferúlico ( $pka = 3,5 - 4,5$ ), os quais em pH 4 estão presentes em sua forma aniônica ou parcialmente aniônica.<sup>58</sup>

Logo, as caracterizações realizadas apontam o comportamento das C-AgNPs. Através do UV-Vis esperava-se obter NPs com valores menores que 55 nm, devido a máxima absorção estar em 413 nm. Assim, relacionando os valores de tamanho médio obtidos pelas técnicas de DLS e TEM e valores de PDI e potencial zeta é possível afirmar que as C-AgNPs apresentam agregações em solução, o que pode acarretar na perda de suas propriedades. Neste sentido faz-se necessário um estudo de otimização e estabilidade das C-AgNPs, o qual será discutido no item 5.2.2 e 5.3.2, respectivamente deste trabalho.

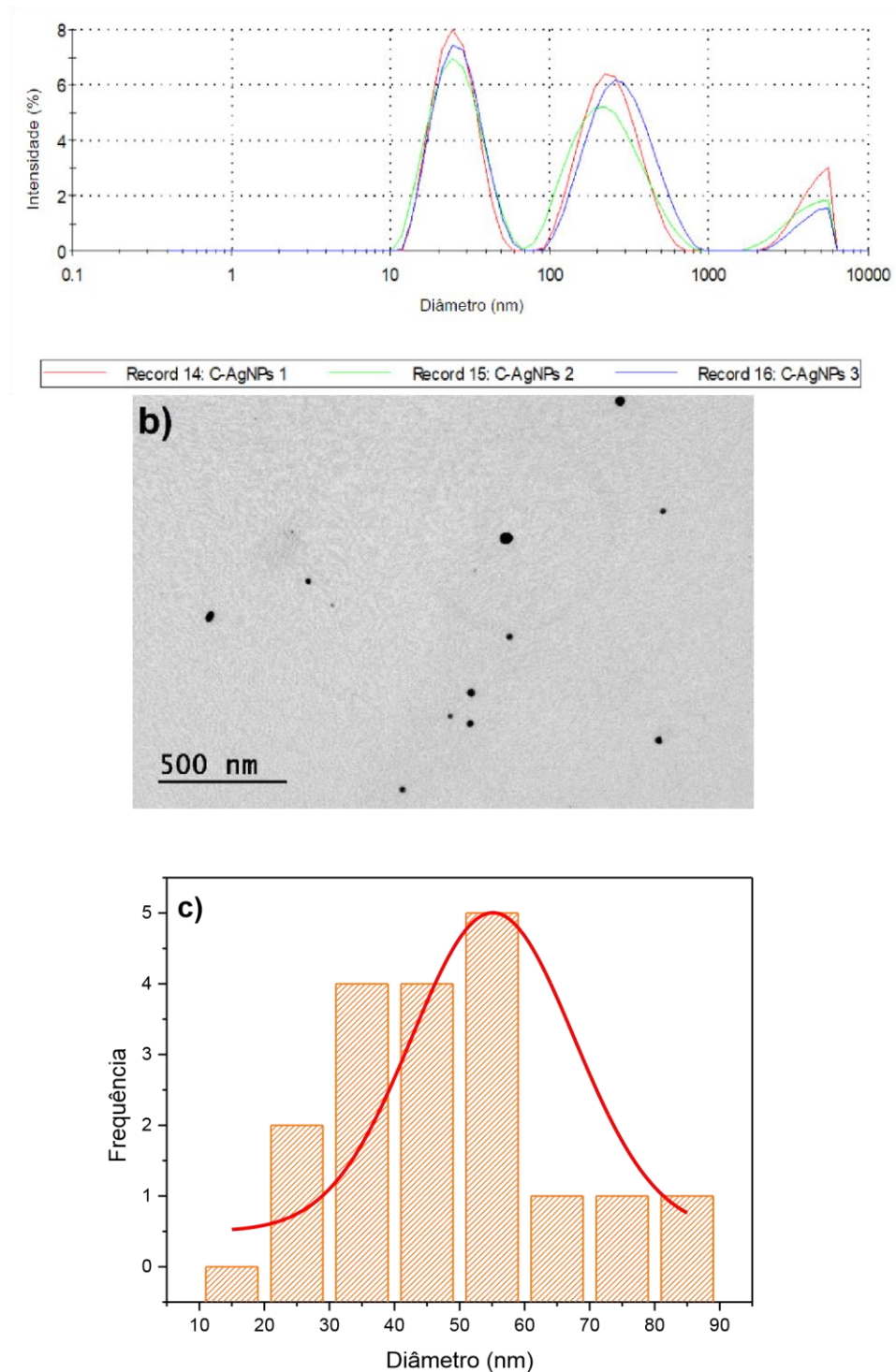


Figura 7 - (a) Histograma de distribuição de tamanho usado para determinar tamanho médio hidrodinâmico das C-AgNPs; (b) imagens de TEM 100 kV das CAgNPs, escala de 500 nm. Ampliação aproximada de 200x; (c) histograma de distribuição de tamanho usado para determinar o tamanho médio das C-AgNPs

### 5.2.2 Otimização do preparo das nanopartículas

A otimização da síntese das C-AgNPs foi realizada por meio de uma análise univariada, na qual o volume de extrato adicionado variou entre 100 e 500  $\mu\text{L}$ . Os

resultados mostraram que a banda de absorção fica mais intensa à medida que ocorre o aumento do volume do extrato adicionado. Dessa maneira, a menor eficiência da síntese foi para o volume de 100  $\mu\text{L}$  do extrato. O aumento progressivo na intensidade da absorvância no comprimento de onda de máxima absorção atinge o valor mais elevado com adição de 500  $\mu\text{L}$ . O comportamento descrito é observado por meio da Figura 8.

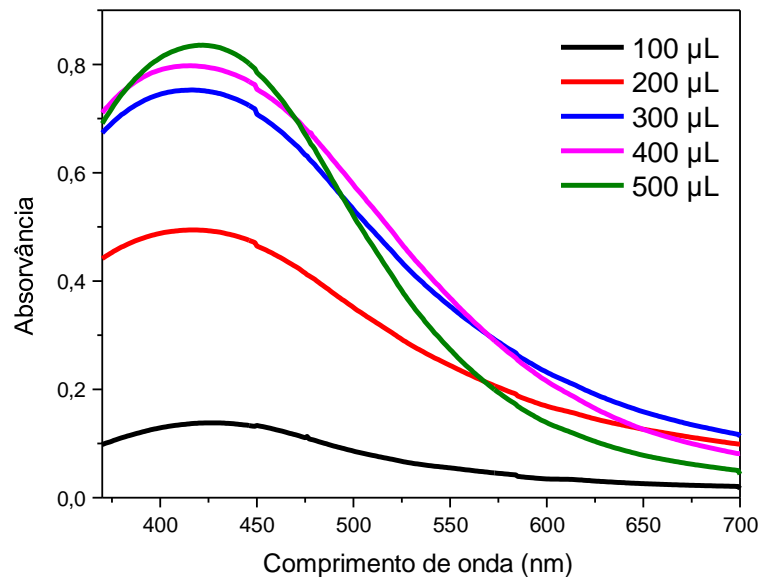


Figura 8 - Espectro na região do visível referente a otimização univariada do volume do extrato da borra de café na síntese das C-AgNPs.

Isso sugere que o volume ideal do extrato de borra de café é de 500  $\mu\text{L}$ , onde há um equilíbrio adequado entre a quantidade de agentes redutores presentes no extrato e os íons prata. Em volumes mais baixos, como 100  $\mu\text{L}$ , a quantidade insuficiente de agentes redutores resulta em uma síntese ineficiente. Na literatura, Wang *et al* (2017) demonstraram que o extrato aquoso de grãos de café (*Coffea arabica*) age como redutor eficiente e que a concentração do extrato impacta diretamente o tamanho e rendimento das NPs formadas.<sup>59</sup> Já Ahmed *et al* (2016) estudaram o efeito de diferentes parâmetros na síntese de AgNPs com agentes redutores naturais, enfatizando a importância da concentração do agente redutor para controlar a morfologia e a eficiência da síntese.<sup>60</sup> A síntese de C-AgNPs foi realizada com o volume de 500  $\mu\text{L}$  de extrato, volumes menores indicam que possivelmente há menor quantidade de AgNPs formadas.

### 5.2.3 Influência do pH

O efeito do pH do sistema sobre a absorvância e variação da banda de absorção das C-AgNPs na presença de  $\text{Fe}^{3+}$  é mostrado na Figura 9. 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. Esse comportamento pode ser atribuído ao fato de que, em pH mais elevado, há uma maior ionização dos grupos funcionais presentes no extrato, como fenóis e ácidos carboxílicos, o que favorece a estabilização das nanopartículas e a interação com os íons  $\text{Fe}^{3+}$ , intensificando a resposta óptica. O efeito do pH sobre a intensidade da banda de absorção das CAgNPs corrobora com a pesquisa realizada por Annadhasan *et al* (2014), os quais 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.<sup>61</sup>

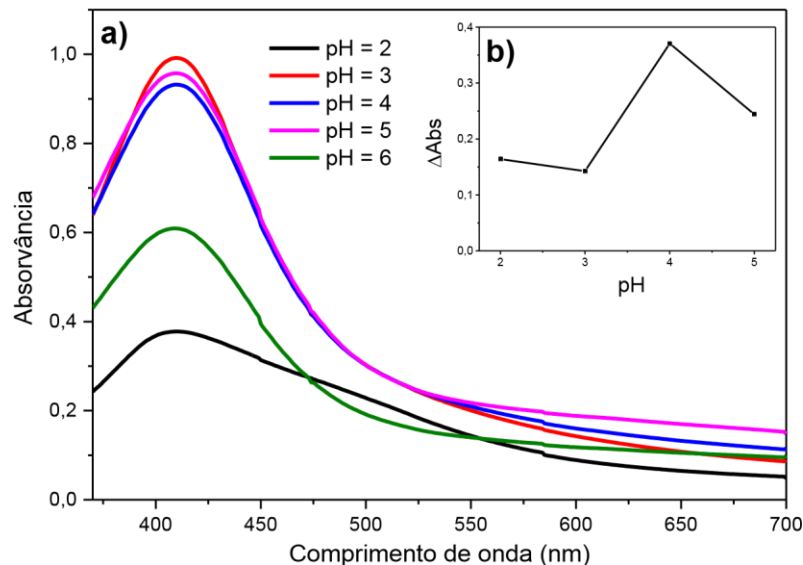


Figura 9 - Influência do pH na banda de absorção das C-AgNPs. (a) Banda de absorção das C-AgNPs em diferentes pHs; (b) variação da absorvância máxima da banda de absorção na presença de íons  $\text{Fe}^{3+}$ .

Para além de avaliar apenas o comportamento das C-AgNPs sob determinados valores de pH é necessário avaliar as características do analito de maneira conjunta.

Considerando que o objetivo é produzir um sensor colorimétrico para determinação de  $\text{Fe}^{3+}$  há um limite a se considerar na alcalinidade do meio, devido à natureza do analito. Em pHs alcalinos a concentração de íons  $\text{OH}^-$  aumenta,

favorecendo a formação de um precipitado de hidróxido de ferro (III) ( $\text{Fe}(\text{OH})_3$ ,  $K_{ps} = 2,79 \times 10^{-39}$ ).<sup>58</sup> Neste sentido, é necessário manter o pH em valores inferiores a 6. A variação da banda de absorção também foi avaliada na presença de íons  $\text{Fe}^{3+}$ . Para tal, o valor do pH do sistema variou de 2 a 5, avaliando-se os espectros do sistema contendo apenas as C-AgNPs e contendo C-AgNPs +  $\text{Fe}^{3+}$  ( $0,5 \text{ mg L}^{-1}$ ). Assim, observa-se que o pH 4 foi o que proporcionou a maior variação da absorvância. Neste pH, a formação de  $\text{Fe}(\text{OH})_3$  é pouco provável, devido à acidez do meio, no entanto, pode haver formação de espécies hidroxicomplexadas solúveis, como  $[\text{Fe}(\text{OH})]^{2+}$  e  $[\text{Fe}(\text{OH})_2]^+$ , que são compatíveis com a permanência do  $\text{Fe}^{3+}$  em solução. Dessa forma, espera-se que não haja formação de precipitados que causem interferência significativa na determinação de  $\text{Fe}^{3+}$  em pH 4, determinado como ótimo para proporcionar maior sensibilidade do sensor colorimétrico no sistema em questão.

### 5.3 SENSOR COLORIMÉTRICO

#### 5.3.1 Variação da absorvância da banda de absorção da C-AgNPs

A presença das C-AgNPs pode ser observada, a olho nu, pela sua coloração marrom clara. As alterações na coloração são uma evidência de que há alteração no comportamento e na absorvância da banda de máxima absorção das C-AgNPs.

Dessa forma, a dispersão contendo C-AgNPs foi exposta a presença de diferentes íons metálicos, a fim de avaliar o efeito destas espécies sobre a coloração da dispersão. Já que é possível que esta alteração possa ser atribuída às modificações e complexações na superfície das NPs. Essas interações resultam em mudanças na ressonância de plasmon de superfície, que são evidentes como mudanças na cor da solução.

A Figura 10 mostra a aparente redução na intensidade de cor das dispersões com a presença dos íons  $\text{Hg}^{2+}$ ,  $\text{Fe}^{2+}$ ,  $\text{Fe}^{3+}$  e  $\text{CN}^-$  onde há uma redução visível na intensidade da cor marrom, indicando a sensibilidade das C-AgNPs a estas espécies.



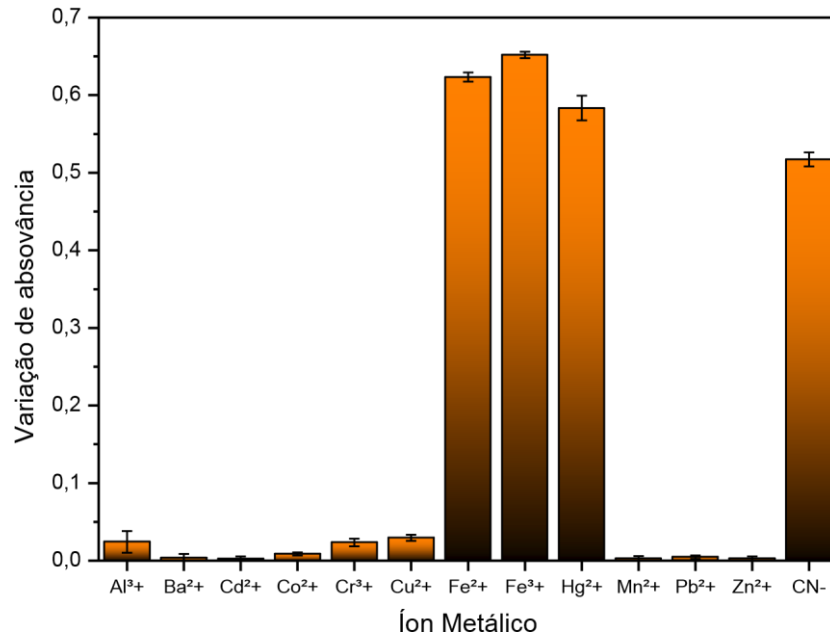


Figura 11 - Variação da absorvância da banda de absorção das C-AgNPs na presença de diferentes íons metálicos na concentração ( $1,0 \text{ mg L}^{-1}$ ).

Nesse sentido, é necessário avaliar os resultados já obtidos para as C-AgNPs e avaliar o seu caráter de sensibilidade para apenas um íon metálico, além de levar em consideração o objetivo do trabalho proposto, sendo o desenvolvimento de um sensor colorimétrico para amostras alimentícias.

Com base nas informações já destacadas, observa-se que o Ferro tende a precipitar em meio básico, formando hidróxidos insolúveis, o que exige a manutenção de um meio ácido para que o  $\text{Fe}^{3+}$  permaneça em solução e possa ser analisado corretamente. Em contrapartida, o íon cianeto forma ácido cianídrico em meio ácido, que é volátil e se volatiliza, minimizando assim sua interferência na determinação de  $\text{Fe}^{3+}$ .

A determinação de  $\text{Fe}^{3+}$  em alimentos e suplementos é crucial devido à sua importância nutricional. Diferente do mercúrio, o qual é altamente tóxico para a saúde humana, sendo assim sua concentração em alimentos geralmente são baixas devido às regulamentações rigorosas que limitam sua presença. Isso torna a análise de mercúrio menos relevante na análise nutricional rotineira de alimentos e suplementos, sendo mais pertinente em contextos específicos de segurança alimentar ou ambiental.

Portanto, ao escolher um meio ácido para melhor atuação das C-AgNPs, como foi observado no item 5.2.3 deste trabalho, para a análise de  $\text{Fe}^{3+}$ , não apenas evita a precipitação do ferro, como também minimiza a interferência do cianeto. Assim,

torna o meio ácido ideal para a determinação de  $\text{Fe}^{3+}$ , garantindo a precisão da análise sem interferências significativas.

Em resumo, a análise das interações das C-AgNPs com diferentes espécies químicas destaca a importância de determinar  $\text{Fe}^{3+}$  em alimentos e suplementos devido à sua relevância nutricional e alta concentração esperada, enquanto a análise de  $\text{Hg}^{2+}$  é menos crítica em análises nutricionais de rotina.

### 5.3.2 Variação da absorvância da banda de absorção da C-AgNPs na presença de $\text{Fe}^{3+}$

Com base na supressão da banda de absorção ocasionada pela presença de íons  $\text{Fe}^{3+}$ , foi avaliada a linearidade da resposta do sensor em função da concentração ( $\text{mg L}^{-1}$ ) do analito na mistura (Figura 12a). A partir da variação de absorvância foi possível obter uma curva de calibração (Figura 12b) com equação linear de  $y = 0,11317x - 0,00151$ , com coeficiente de correlação de  $R^2 = 0,9971$ . Nessas condições, foram obtidos, o limite de detecção (LOD) foi estimado em  $0,032 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  e o limite de quantificação (LOQ) em  $0,089 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ , com base na razão entre o desvio padrão do sinal e a sensibilidade da curva de calibração.

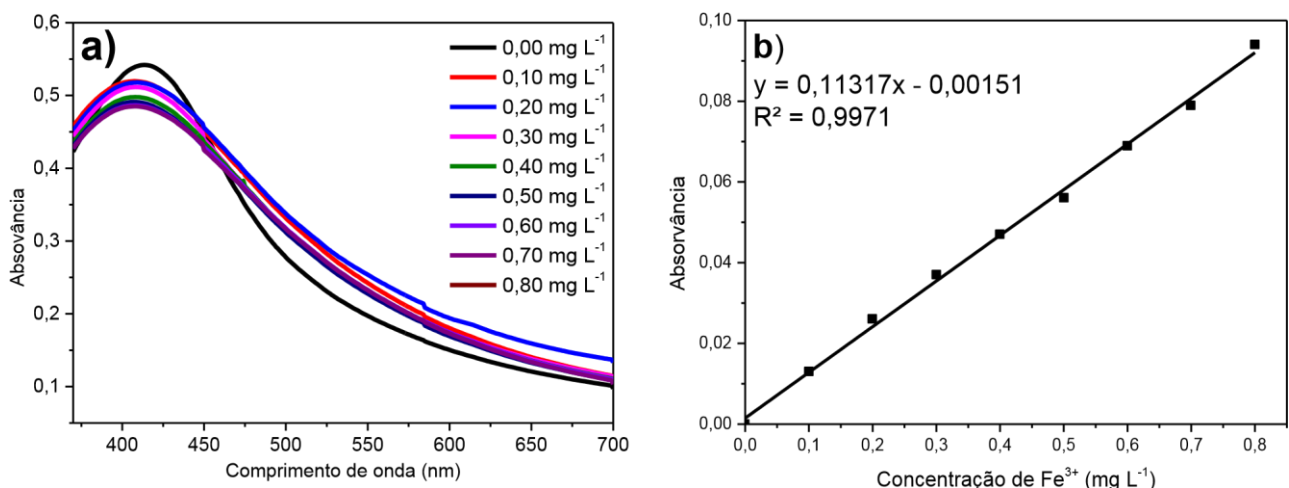


Figura 12 - Variação de absorvância da banda de absorção das C-AgNPs na presença de íons  $\text{Fe}^{3+}$  onde (a) variação da absorvância máxima das C-AgNPs em função da concentração de Fe e (b) curva de calibração para  $\text{Fe}^{3+}$ .

Tais valores demonstram a capacidade do sensor em detectar e quantificar  $\text{Fe}^{3+}$  em baixos níveis, sendo compatíveis com aplicações em amostras alimentícias,

conforme evidenciado por estudos relatados na literatura. Conforme mostrado pela Tabela 1.

Tabela 1 - Valores de LOD reportados em diferentes estudos referente a análise de Fe em amostras alimentícias.

Trabalho	Metodologia	LOD (mg Fe/L)
Gao <i>et al</i> (2015) <sup>62</sup>	Sensor colorimétrico com AgNPs funcionalizados com N-acetil-L-cisteína	0,0045
Proposito <i>et al</i> (2020) <sup>63</sup>	Sensor colorimétrico com AgNPs revestidas com amido	0,10
Azizi-Khereshki <i>et al</i> (2022) <sup>64</sup>	Sensor colorimétrico com AgNPs através do extrato da folha de oliveira	0,27
<b>Este trabalho</b>	Sensor colorimétrico com C-AgNPs obtidas a partir de extrato de café	0,032

Em comparação com sensores colorimétricos descritos na literatura, que apresentam LODs variando entre 0,0045 e 0,27 mg Fe L<sup>-1</sup>, o método desenvolvido neste trabalho apresenta um desempenho satisfatório para a aplicação proposta. Ainda que técnicas mais sensíveis, como espectrometria de absorção atômica ou sensores eletroquímicos, possam atingir limites de detecção mais baixos (µg L<sup>-1</sup>), os sensores baseados em C-AgNPs mostram-se adequados para a análise de suplementos alimentares, cujas concentrações de ferro encontram-se geralmente na faixa de dezenas a centenas de mg L<sup>-1</sup>. Portanto, os LODs obtidos neste estudo (0,032 mg L<sup>-1</sup>) não representam uma limitação relevante dentro do contexto de aplicação pretendido. No entanto, a detecção direta de Fe<sup>3+</sup> em determinadas amostras alimentícias não foi possível, o que pode estar relacionado à ausência de um preparo de amostra adequado, ou à presença de compostos interferentes e complexantes na matriz, que reduzem a disponibilidade do íon para interação com as nanopartículas. Adicionalmente, é possível que os teores de Fe<sup>3+</sup> presentes estejam abaixo do limite de quantificação do método (0,089 mg L<sup>-1</sup>), o que reforça a necessidade de etapas prévias de tratamento ou concentração da amostra para aplicação em matrizes com baixos teores de ferro.

### 5.3.3 Estabilidade das C-AgNPs e da resposta como sensor colorimétrico

Para verificar a estabilidade das C-AgNPs acompanhou o comportamento via espectro de absorção ao longo de um período de 336 horas, como mostrado na Figura 13.

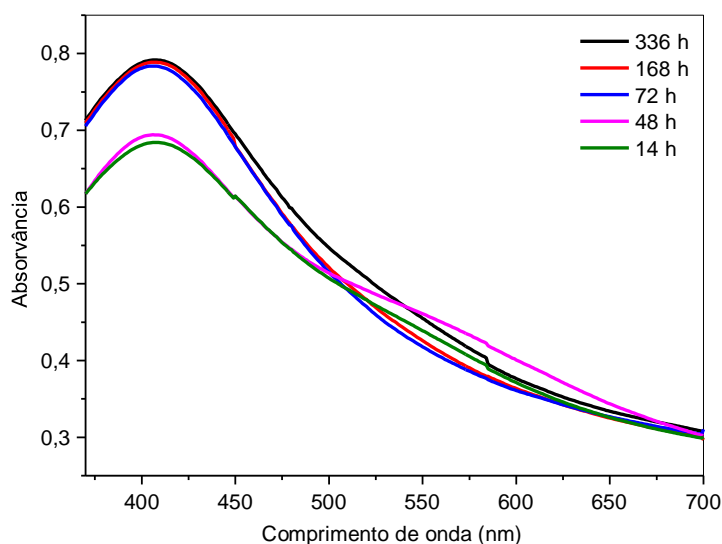


Figura 13 - Espectro de absorvância na região do visível para acompanhar a estabilidade das C-AgNPs ao longo do tempo de 336 h.

O gráfico de absorvância das C-AgNPs, sintetizadas com extrato de borra de café, revela um padrão de estabilidade ao longo do tempo, conforme descrito nas diferentes avaliações da estabilidade realizadas. Inicialmente, após 14 horas, a absorvância é relativamente baixa, indicando um estágio inicial de estabilização das nanopartículas. Após 48 horas, há um aumento significativo na absorvância, sugerindo uma maturação e reorganização coloidal das C-AgNPs como descrito no trabalho de Iravani et al. (2011). Este processo continua até 72 horas, onde a absorvância se estabiliza, com variações mínimas até 336 horas, quando atinge o pico mais alto de absorvância.

Tais resultados estão de acordo com Zuurro *et al* (2022), que demonstraram síntese verde de AgNPs com extrato de borra de café, destacando a alta estabilidade das C-AgNPs devido aos compostos fenólicos presentes no extrato de borra de café. Este fator é crucial para a funcionalidade das nanopartículas ao longo do tempo.<sup>65</sup>

### 5.3.4 Determinação de Ferro em suplementos

#### 5.3.4.1 *Curva de calibração em meio aquoso e por adição do analito*

Inicialmente, foi construída uma curva de calibração em meio aquoso para a determinação de ferro utilizando C-AgNPs como sensor colorimétrico. No entanto, o método apresentou inconsistências já que o sinal espectrofotométrico ultrapassou o valor de 1,0 de absorvância. Para investigar a origem desse comportamento, testou-se o branco zerando o equipamento com a própria amostra, com o objetivo de anular o sinal proveniente da coloração da matriz. Ainda assim, o valor obtido foi de aproximadamente 1,9, indicando que as NPs estavam interagindo significativamente com componentes presentes na amostra.

Esse resultado demonstra que há uma interação entre as C-AgNPs e a matriz da amostra, que altera a coloração das partículas por efeitos de agregação, estabilização superficial ou mesmo redução parcial das nanopartículas. Tais mudanças afetam diretamente a absorvância registrada, impedindo uma quantificação precisa por meio de curva de calibração em solução padrão. Esse tipo de interferência é conhecido como efeito de matriz, em que compostos presentes na amostra como proteínas, como proteínas como albumina e caseína, sais minerais como cloretos e sulfatos, além de compostos orgânicos como ácidos ascórbico e cítrico e antioxidantes comumente adicionados aos suplementos de ferro, podem interagir com as nanopartículas de prata utilizadas na detecção. Essas substâncias podem adsorver-se à superfície das nanopartículas, modificar suas características de carga, induzir aglomeração ou mesmo competir com os íons de ferro pelos sítios de interação, afetando diretamente a resposta analítica do sensor colorimétrico. Dessa forma, a presença desses interferentes pode comprometer a seletividade e a sensibilidade do método, sendo necessário considerar estratégias de controle ou correção dos efeitos de matriz durante as análises.<sup>58</sup>

Diante disso, optou-se pela aplicação da curva de adição de analito, uma técnica clássica utilizada para corrigir efeitos de matriz e melhorar a exatidão em métodos espectrofotométricos. Nesse procedimento, alíquotas conhecidas de uma solução padrão de ferro foram adicionadas diretamente a porções da própria amostra, mantendo constante a composição da matriz em todos os pontos da curva. A concentração de ferro presente originalmente foi determinada pela extrapolação da

curva até o ponto de absorvância zero, de forma que o sinal registrado reflete apenas a resposta ao ferro adicionado, descontando interferências.

A curva de adição é recomendada quando o comportamento do analito não pode ser reproduzido adequadamente em soluções-padrão, como ocorre em sistemas complexos ou biológicos, sendo reconhecida como uma técnica confiável para melhorar a exatidão e compensar interferências.<sup>48</sup> Assim, a adoção dessa abordagem foi fundamental para garantir resultados mais consistentes na quantificação de ferro por meio das nanopartículas desenvolvidas, como apresentado no gráfico na Figura 14.

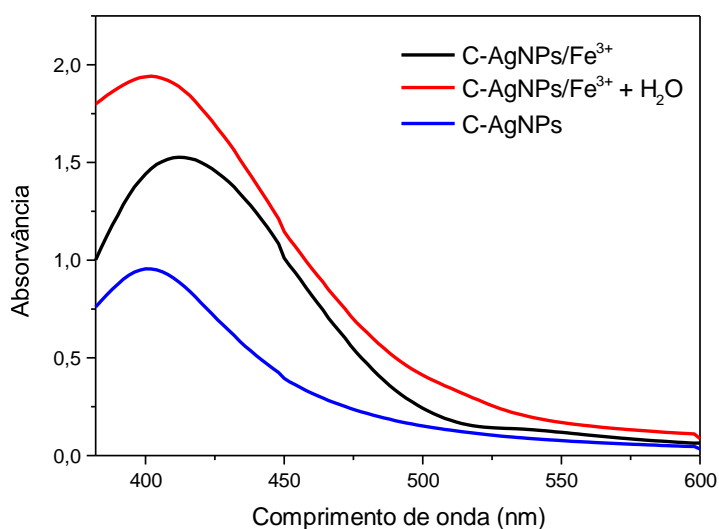


Figura 14 - Espectro de absorvância da banda de absorção na presença de suplementos de Ferro.

Para a determinação do teor de ferro nos suplementos A 30 mg e B 40 mg, foi utilizada a metodologia de adição e recuperação, com o objetivo de minimizar possíveis interferências de matriz. As análises foram realizadas por espectrofotometria UV-Vis, utilizando C-AgNPs como sensor colorimétrico. Essas nanopartículas são sensíveis à presença de íons metálicos como o Fe<sup>3+</sup>, provocando mudanças de cor detectáveis na região do visível, devido a alterações na banda de plasmon de superfície.<sup>29</sup>

As curvas de adição foram construídas utilizando uma solução padrão de ferro com concentração de 0,10 mmol·L<sup>-1</sup>. Foram adicionados volumes crescentes desta solução (de 0 a 91 µL) em cubetas com volume final fixo de 1300 µL. Em todas as análises, foram adicionados 10 µL da amostra diluída, 300 µL da suspensão de CAgNPs, volumes variáveis de solução tampão de pH 4 (entre 899 e 990 µL), e o volume complementar da solução padrão de ferro. A finalidade do tampão foi

estabilizar as nanopartículas no meio reacional, como recomendado por Yao *et al.* (2024), visto que parâmetros como pH e força iônica afetam diretamente a estabilidade e seletividade dos sensores baseados em nanopartículas metálicas.<sup>49</sup>

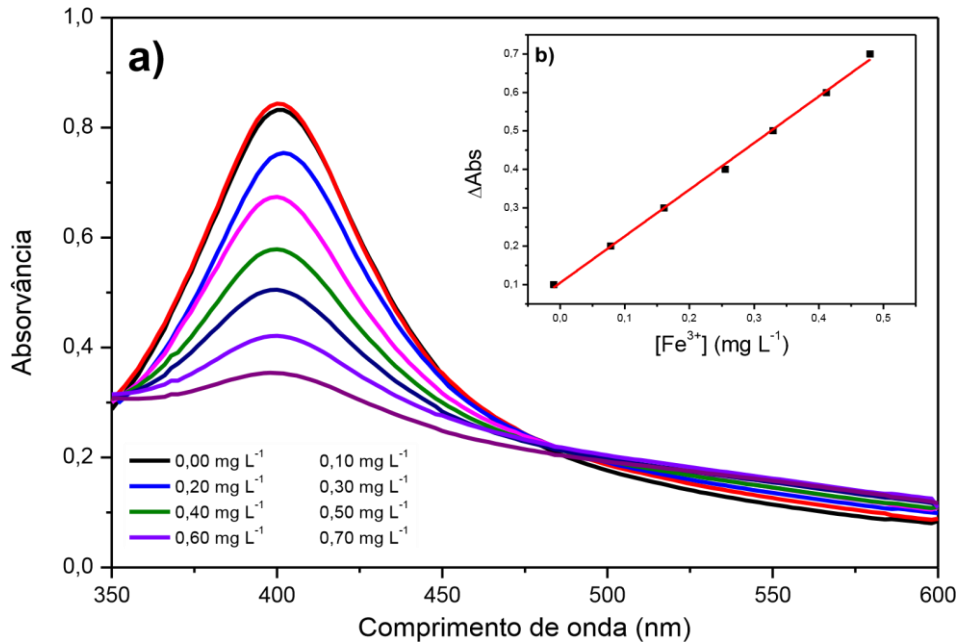


Figura 15 - (a) Espectro das bandas de absorção da amostra A (b) curva de calibração por adição de analito.

As curvas de absorvância em função da concentração adicionada apresentaram comportamento linear satisfatório. Para o suplemento A, a equação da reta foi  $y = 0,8237x - 0,0861$   $R^2 = 0,9982$ , enquanto para o suplemento B foi  $y = 0,475x + 0,0374$   $R^2 = 0,9742$ . A extrapolação até  $y = 0$  fornece os interceptos no eixo x estimativas da concentração de ferro na cubeta sem adição de padrão que são  $0,1045 \text{ mg L}^{-1}$  para o suplemento a A e  $0,0787 \text{ mg L}^{-1}$  para o B.

Considerando-se a cubeta de  $1,3 \text{ mL}$  e  $10 \text{ }\mu\text{L}$  de amostra, o valor de  $0,1045 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  no x corresponde a  $13,6 \text{ mg L}^{-1}$  na solução original, ou  $758,8 \text{ mg L}^{-1}$ , o que representa  $37,94 \text{ mg}$  de ferro em  $50 \text{ mL}$ . Ao comparar com os  $30 \text{ mg}$  declarados, a recuperação foi de apenas  $16,9\%$ , indicando significativa interferência da matriz possivelmente pela presença de proteínas, excipientes que reduzem a interação do ferro com as nanopartículas como evidenciado nos trabalhos de Ravindran *et al.* (2013) e López-Lorente & Mizaikoff (2016).<sup>51,52</sup>

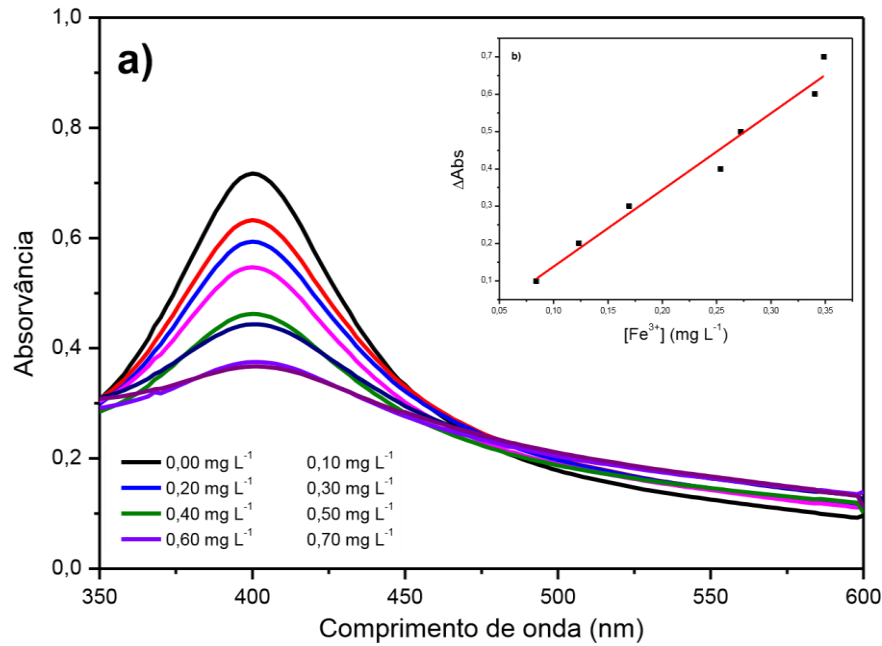


Figura 16 - (a) Espectro de absorvância da amostra de B; (b) Curva de calibração por adição de analito.

De forma similar, para o suplemento B, o intercepto de  $0,0787 \text{ mg L}^{-1}$  resultou em  $10,2 \text{ mg L}^{-1}$ , ou  $571,4 \text{ mg L}^{-1}$ , equivalendo a  $28,6 \text{ mg}$  de ferro em  $50 \text{ mL}$ . Em comparação com os  $40 \text{ mg}$  informados, a recuperação foi de apenas  $1,3\%$ , novamente sugerindo forte interferência da matriz no desempenho do sensor.

Diversos estudos apontam que a interação de proteínas, açúcares e outros constituintes das matrizes alimentares e farmacêuticas com as nanopartículas de prata pode promover a formação de camadas adsorvidas, afetando tanto a estabilidade coloidal quanto a acessibilidade dos sítios de adsorção de íons metálicos como evidenciado nos trabalhos de Ravindran *et al* (2013) e López-Lorente & Mizaikoff (2016).<sup>51,52</sup> Essa adsorção de macromoléculas modifica as propriedades ópticas e reduz a eficiência de detecção, o que justifica os baixos percentuais de recuperação observados.

## 6 CONCLUSÃO

O presente estudo demonstrou que as nanopartículas de prata sintetizadas com extrato aquoso de borra de café (C-AgNPs) são estáveis e eficientes como sensores colorimétricos para detecção de íons férricos em solução aquosa. A metodologia apresentou boa sensibilidade e seletividade em meio padrão, com desempenho otimizado em pH ácido. No entanto, a aplicação em suplementos alimentares foi limitada pelo forte efeito de matriz, evidenciando a necessidade de estratégias adicionais, como pré-tratamento das amostras, modificação superficial das nanopartículas ou uso de ferramentas quimiométricas, para garantir maior seletividade e acurácia. Assim, as C-AgNPs mostram-se promissoras como sensores colorimétricos, desde que sejam realizados ajustes para uso eficaz em matrizes complexas.

## 7 PERSPECTIVAS

Os resultados obtidos neste estudo demonstraram que o método de detecção de ferro utilizando C-AgNPs apresentou desempenho satisfatório em soluções padrão, com boa linearidade e sensibilidade. No entanto, sua aplicação direta em amostras reais de suplementos alimentares foi prejudicada por efeitos significativos de matriz, dificultando a quantificação exata do analito. Este comportamento pode ser atribuído à interação de componentes da matriz como proteínas, açúcares, sais e compostos orgânicos com as NPs, promovendo alterações na agregação, estabilização superficial e propriedades ópticas das C-AgNPs, conforme já reportado por Ravindran et al. (2013) e López-Lorente & Mizaikoff (2016).<sup>51,52</sup> Essas interações reduzem a disponibilidade dos sítios ativos de adsorção de íons metálicos, afetando diretamente a resposta espectrofotométrica e, conseqüentemente, a recuperação do ferro.

Como perspectivas para o aprimoramento do método, sugerem-se estudos adicionais visando a minimização dos efeitos de matriz. Uma abordagem inicial seria o pré-tratamento das amostras, com remoção seletiva de proteínas e complexantes por técnicas como precipitação, diálise ou extração em fase sólida, reduzindo as interferências antes da etapa analítica.<sup>66</sup> Outra estratégia promissora envolve a modificação superficial das nanopartículas, por meio de funcionalização com ligantes seletivos ou revestimentos poliméricos, capazes de aumentar a seletividade pelas espécies férricas e reduzir a adsorção de interferentes.<sup>27</sup> Além disso, o emprego de ferramentas quimiométricas, como calibração multivariada e modelagem matemática dos dados espectrais, pode oferecer alternativas viáveis para compensação estatística das interferências e aprimoramento da acurácia.<sup>67</sup>

Dessa forma, embora o método tenha apresentado limitações frente à complexidade das matrizes analisadas, os resultados obtidos demonstram seu potencial como uma ferramenta analítica promissora. Com otimizações adicionais, é possível expandir sua aplicabilidade para controle de qualidade de suplementos alimentares e análise de ferro em diversas matrizes alimentícias complexas.

## 8 REFERÊNCIAS

1. CHEREDDY, Narendra Reddy; SUMAN, Koorathota; KORRAPATI, Purna Sai; THENNARASU, Sathiah; MANDAL, Asit Baran. Design and synthesis of rhodamine based chemosensors for the detection of Fe<sup>3+</sup> ions. **Dyes And Pigments**, v. 95, n. 3, p. 606-613, dez. 2012. Elsevier BV.
2. QIU, Lili; FRAZER, David M.; HU, Mengxiao; SONG, Rui; LIU, Xiaoxue; QIN, Xiyu; MA, Jie; ZHOU, Jun; TAN, Zidi; REN, Fazheng. Mechanism and regulation of iron absorption throughout the life cycle. **Journal Of Advanced Research**, p. 1-12, jan. 2025. Elsevier BV.
3. GANZ, Tomas. Systemic Iron Homeostasis. **Physiological Reviews**, v. 93, n. 4, p. 1721-1741, out. 2013. American Physiological Society
4. PISKIN, Elif; CIANCIOSI, Danila; GULEC, Sukru; TOMAS, Merve; CAPANOGLU, Esra. Iron Absorption: factors, limitations, and improvement methods. **Acs Omega**, v. 7, n. 24, p. 20441-20456, 10 jun. 2022. American Chemical Society (ACS).
5. Organização Mundial da Saúde. **Metas globais de nutrição para 2025: resumo da política de amamentação**. 2014. Disponível em: <https://www.who.int/publications/i/item/WHO-NMH-NHD-14.7>. Acesso em: 10 maio 2025.
6. CHAPARRO, Camila M.; SUCHDEV, Parminder S.. Anemia epidemiology, pathophysiology, and etiology in low- and middle-income countries. **Annals Of The New York Academy Of Sciences**, v. 1450, n. 1, p. 15-31, 22 abr. 2019. Wiley.
7. Instituto Internacional de Pesquisa em Política Alimentar. **Relatório sobre a Nutrição Mundial de 2014: Medidas e Responsabilização para Acelerar o Progresso Mundial da Nutrição**. 2014. Washington, DC.
8. LEE, Sooji; SON, Yejun; HWANG, Jiyoung; KIM, Min Seo; SHIN, Jae Il; KASSEBAUM, Nicholas J.; ABATE, Semagn Mekonnen; ABATE, Yohannes Habtegiorgis; ELHAFEEZ, Samar Abd. Global, regional and national burden of dietary iron deficiency from 1990 to 2021: a global burden of disease study. **Nature Medicine**, p. 1-39, 22 abr. 2025. Springer Science and Business Media LLC
9. MANNAR, M.G. Venkatesh; GARRETT, Greg S.; HURRELL, Richard F.. Future Trends and Strategies in Food Fortification. In: MANNAR, M.G. Venkatesh; HURRELL, Richard F. (ed.). **Food Fortification in a Globalized World**.: Academic Press, 2018.

Cap. 40. p. 375-381.

10. ÇAKMAKÇđ, Songül; POLATOđLU, Bilgehan; ÇAKMAKÇđ, Ramazan. Foods of the Future: challenges, opportunities, trends, and expectations. **Foods**, v. 13, n. 17, p. 2663-2686, 23 ago. 2024. MDPI AG.
11. Organização Mundial da Saúde e Organização das Nações Unidas para a Alimentação e Agricultura. **Diretrizes sobre fortificação de alimentos com micronutrientes**. 2006. Disponível em: <https://www.who.int/publications/i/item/9241594012>. Acesso em: 10 maio 2025.
12. HURRELL, Richard F.. Ensuring the Efficacious Iron Fortification of Foods: a tale of two barriers. **Nutrients**, v. 14, n. 8, p. 1609, 12 abr. 2022. MDPI AG.
13. ABIZARI, Abdul-Razak; MORETTI, Diego; ZIMMERMANN, Michael B.; ARMAR-KLEMESU, Margaret; BROUWER, Inge D.. Whole Cowpea Meal Fortified with NaFeEDTA Reduces Iron Deficiency among Ghanaian School Children in a Malaria Endemic Area. **The Journal Of Nutrition**, v. 142, n. 10, p. 1836-1842, out. 2012. Elsevier BV.
14. GUPTA, Swarnim; HABEYCH, Edwin; SCHEERS, Nathalie; MERINAT, Sylvie; REY, Brigitte; GALAFFU, Nicola; SANDBERG, Ann-Sofie. The development of a novel ferric phytate compound for iron fortification of bouillons (part I). **Scientific Reports**, v. 10, n. 1, p. 5340-5350, 24 mar. 2020. Springer Science and Business Media LLC.
15. BAUMGARTNER, Jeannine; WINKLER, Hans Christian; ZANDBERG, Lizelle; TUNTIPOPIPAT, Siriporn; MANKONG, Phatchari; BESTER, Cor; HILTY, Florentine; ZEEVAART, Jan Rijn; GOWACHIRAPANT, Sueppong; ZIMMERMANN, Michael B.. Iron from nanostructured ferric phosphate: absorption and biodistribution in mice and bioavailability in iron deficient anemic women. **Scientific Reports**, v. 12, n. 1, p. 2792-2806, 18 fev. 2022. Springer Science and Business Media LLC.
16. DA-COL, José Augusto; DOMENE, Semíramis M. A.; PEREIRA-FILHO, Edenir R.. Fast Determination of Cd, Fe, Pb, and Zn in Food using AAS. **Food Analytical Methods**, v. 2, n. 2, p. 110-115, 22 jul. 2008. Springer Science and Business Media LLC.
17. RUSIN, Monika; DOMAGALSKA, Joanna; ROGALA, Danuta; RAZZAGHI, Mehdi; SZYMALA, Iwona. Concentration of cadmium and lead in vegetables and fruits. **Scientific Reports**, v. 11, n. 1, p. 11913-11923, 7 jun. 2021.

Springer Science and Business Media LLC.

18. FARAHANI, Shima; ESHGHI, Navid; ABBASI, Abolfazl; KARIMI, Fereshteh; MALEKABAD, Ebadallah Shiri; REZAEI, Mohammad. Determination of heavy metals in albumen of hen eggs from the Markazi Province (Iran) using ICP-OES technique. **Toxin Reviews**, v. 34, n. 2, p. 96-100, 3 abr. 2015. Informa UK Limited

19. CATENZA, Karizza F.; DONKOR, Kingsley K.. Determination of Heavy Metals in Cannabinoid-Based Food Products Using Microwave-Assisted Digestion and ICP-MS. **Food Analytical Methods**, v. 15, n. 9, p. 2537-2546, 4 mai. 2022. Springer Science and Business Media LLC.

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

21. KAUR, Baljeet; KAUR, Navneet; KUMAR, Subodh. Colorimetric metal ion sensors – A comprehensive review of the years 2011–2016. **Coordination Chemistry Reviews**, v. 358, p. 13-69, mar. 2018. Elsevier BV.

22. JIA, Xiaoxue; MA, Peihua; TARWA, Kevin; MAO, Yimin; WANG, Qin. 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, set. 2023. Elsevier BV

23. BURNS, C; SPENDEL, W; PUCKETT, S; PACEY, G. Solution ionic strength effect on gold nanoparticle solution color transition. **Talanta**, v. 69, n. 4, p. 873-876, 15 jun. 2006. Elsevier BV.

24. CHEN, Cuie; SONG, Guangtao; REN, Jinsong; QU, Xiaogang. A simple and sensitive colorimetric pH meter based on DNA conformational switch and gold nanoparticle aggregation. **Chemical Communications**, n. 46, p. 6149, 2008. Royal Society of Chemistry (RSC).

25. SCROCCARELLO, Annalisa; DELLA PELLE, Flavio; NERI, Lilia; PITTIA, Paola; COMPAGNONE, Dario. Silver and gold nanoparticles based colorimetric assays for the determination of sugars and polyphenols in apples. **Food Research International**, v. 119, p. 359-368, maio 2019. Elsevier BV.

26. DONG, Yangjun; DING, Lingling; JIN, Xin; ZHU, Ningning. Silver nanoparticles capped with chalcon carboxylic acid as a probe for colorimetric determination of cadmium(II). **Microchimica Acta**, v. 184, n. 9, p. 3357-3362, 10 jun.

2017. Springer Science and Business Media LLC.

27. ANDREANI, Agustina Sus; KUNARTI, Eko Sri; HASHIMOTO, Takeshi; HAYASHITA, Takashi; SANTOSA, Sri Juari. Fast and selective colorimetric detection of Fe<sup>3+</sup> based on gold nanoparticles capped with ortho-hydroxybenzoic acid. **Journal Of Environmental Chemical Engineering**, v. 9, n. 5, p. 105962, out. 2021. Elsevier BV.

28. SHNOUDEH, Abeer Jabra; HAMAD, Islam; ABDO, Ruwaida W.; QADUMII, Lana; JABER, Abdulmutallab Yousef; SURCHI, Hiba Salim; ALKELANY, Shahd Z.. Synthesis, Characterization, and Applications of Metal Nanoparticles. **Biomaterials And Bionanotechnology**, p. 527-612, 2019. Elsevier.

29. TOMA, Henrique E.; ZAMARION, Vitor M.; TOMA, Sergio H.; ARAKI, Koiti. The coordination chemistry at gold nanoparticles. **Journal Of The Brazilian Chemical Society**, v. 21, n. 7, p. 1158-1176, 2010. FapUNIFESP (SciELO).

30. LANGER, Judith; NOVIKOV, Sergey M; LIZ-MARZÁN, Luis M. Sensing using plasmonic nanostructures and nanoparticles. **Nanotechnology**, v. 26, n. 32, p. 322001, 24 jul. 2015. IOP Publishing.

31. ABID, Namra; KHAN, Aqib Muhammad; SHUJAIT, Sara; CHAUDHARY, Kainat; IKRAM, Muhammad; IMRAN, Muhammad; HAIDER, Junaid; KHAN, Maaz; KHAN, Qasim; MAQBOOL, Muhammad. Synthesis of nanomaterials using various topdown and bottom-up approaches, influencing factors, advantages, and disadvantages: a review. **Advances In Colloid And Interface Science**, v. 300, p. 102597, fev. 2022.

Elsevier BV.

32. 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<sup>2+</sup> em amostras de interesse ambiental**. 2023. 91 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Química, Química, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2023.

33. USMAN, Ken Aldren S.; MAINA, James W.; SEYEDIN, Shayan; CONATO, Marlon T.; PAYAWAN, Leon M.; DUMÉE, Ludovic F.; RAZAL, Joselito M.. Downsizing metal-organic frameworks by bottom-up and top-down methods. **Npg Asia Materials**, v. 12, n. 1, p. 58-76, 4 set. 2020. Springer Science and Business Media LLC.

34. HABIBULLAH, Giyauallah; VIKTOROVA, Jitka; RUMML, Tomas. Current Strategies for Noble Metal Nanoparticle Synthesis. **Nanoscale Research Letters**, v. 16, n. 1, p. 1-12, 15 mar. 2021. Springer Science and Business Media LLC.
35. EMBRAPA. **Produção mundial de café para safra 2023-2024 totaliza 171,4 milhões de sacas de 60kg**. 2024. Disponível em: <https://l1nq.com/NtCx0>. Acesso em: 12 maio 2025.
36. Ministério da Agricultura e Pecuária. **Brasil é o maior produtor mundial e o segundo maior consumidor de café**. 2023. Disponível em: <https://l1nk.dev/t6lhL>. Acesso em: 12 maio 2025.
37. MIRANDA, Andreia Machado; GOULART, Alessandra C.; BENSEÑOR, Isabela M.; LOTUFO, Paulo A.; MARCHIONI, Dirce Maria. Coffee consumption and risk of hypertension: a prospective analysis in the cohort study. **Clinical Nutrition**, v. 40, n. 2, p. 542-549, fev. 2021. Elsevier BV
38. MURTHY, Pushpa S.; NAIDU, M. Madhava. Sustainable management of coffee industry by-products and value addition — A review. **Resources, Conservation And Recycling**, v. 66, p. 45-58, set. 2012. Elsevier BV.
39. SILVA, M.A.; NEBRA, S.A.; SILVA, M.J. Machado; SANCHEZ, C.G.. The use of biomass residues in the brazilian soluble coffee industry. **Biomass And Bioenergy**, v. 14, n. 5-6, p. 457-467, maio 1998. Elsevier BV.
40. PANZELLA, Lucia; CERRUTI, Pierfrancesco; APREA, Paolo; PAOLILLO, Rossella; PELLEGRINO, Giovanna; MOCCIA, Federica; CONDORELLI, Guglielmo Guido; VOLLARO, Adriana; AMBROGI, Veronica; CATANIA, Maria Rosaria. Silver nanoparticles on hydrolyzed spent coffee grounds (HSCG) for green antibacterial devices. **Journal Of Cleaner Production**, v. 268, p. 122352, set. 2020. Elsevier BV.
41. SINGLETON, V. L.; ROSSI, Joseph A.. Colorimetry of Total Phenolics with Phosphomolybdic-Phosphotungstic Acid Reagents. **American Journal Of Enology And Viticulture**, v. 16, n. 3, p. 144-158, 1965. American Society for Enology and Viticulture.
42. PÉREZ, Maria; DOMINGUEZ-LÓPEZ, Inés; LAMUELA-RAVENTÓS, Rosa M.. The Chemistry Behind the Folin–Ciocalteu Method for the Estimation of (Poly)phenol Content in Food: total phenolic intake in a mediterranean dietary pattern.

**Journal Of Agricultural And Food Chemistry**, v. 71, n. 46, p. 17543-17553, 10 nov. 2023. American Chemical Society (ACS).

43. ZUORRO, Antonio; LAVECCHIA, Roberto. Influence of extraction conditions on the recovery of phenolic antioxidants from spent coffee grounds.

**American Journal Of Applied Sciences**, v. 10, n. 5, p. 478-486, 1 maio 2013. Science Publications.

44. MURTHY, Pushpa S.; NAIDU, M. Madhava. Recovery of Phenolic Antioxidants and Functional Compounds from Coffee Industry By-Products. **Food And Bioprocess Technology**, v. 5, n. 3, p. 897-903, 22 maio 2010. Springer Science and Business Media LLC.

45. BHAGAT, Shabana; SHAIKH, Huma; NAFADY, Ayman; SIRAJUDDIN; SHERAZI, Syed Tufail Hussain; BHANGER, Muhammad Iqbal; SHAH, Muhammad Raza; ABRO, Muhammad Ishaque; MEMON, Roomia; BHAGAT, Rehana. 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**, v. 33, n. 5, p. 1865-1875, 16 jun. 2021. Springer Science and Business Media LLC.

46. SHARMA, Virender K.; YNGARD, Ria A.; LIN, Yekaterina. Silver nanoparticles: green synthesis and their antimicrobial activities. **Advances In Colloid And Interface Science**, v. 145, n. 1-2, p. 83-96, jan. 2009. Elsevier BV.

47. AJITHA, B.; REDDY, Y. Ashok Kumar; REDDY, P. Sreedhara. Biosynthesis of silver nanoparticles using Plectranthus amboinicus leaf extract and its antimicrobial activity. **Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, v. 128, p. 257-262, jul. 2014. Elsevier BV.

48. GÖSSLER, Gerhard; HOFER, Vera; GOESSLER, Walter. Evaluation of four different standard addition approaches with respect to trueness and precision. **Analytical And Bioanalytical Chemistry**, v. 417, n. 6, p. 1187-1197, 10 jan. 2025. Springer Science and Business Media LLC.

49. YAO, Di; ZHOU, Liuyan; HU, Shengqiang; ZHAO, Shulin; ZHANG, Liangliang. Improving the sensing sensitivity of silver nanoparticle-based colorimetric biosensors from the point of salt. **Microchimica Acta**, v. 191, n. 5, p. 1-10, 5 abr. 2024. Springer Science and Business Media LLC.

50. AZIMPANAH, Razieh; SOLATI, Zahra; HASHEMI, Majid. Green synthesis of silver nanoparticles and their applications as colorimetric probe for

determination of Fe<sup>3+</sup> and Hg<sup>2+</sup> ions. **IET Nanobiotechnology**, v. 12, n. 5, p. 673-677, 12 abr. 2018. Institution of Engineering and Technology (IET).

51. RAVINDRAN, Aswathy; CHANDRAN, Preethy; KHAN, S. Sudheer. Biofunctionalized silver nanoparticles: advances and prospects. **Colloids And Surfaces B: Biointerfaces**, v. 105, p. 342-352, maio 2013. Elsevier BV.

52. LÓPEZ-LORENTE, Ángela I.; MIZAIKOFF, Boris. Recent advances on the characterization of nanoparticles using infrared spectroscopy. **Trac Trends In Analytical Chemistry**, v. 84, p. 97-106, nov. 2016. Elsevier BV.

53. VAMANU, Emanuel; GATEA, Florentina; PELINESCU, Diana Roxana. Bioavailability and Bioactivities of Polyphenols Eco Extracts from Coffee Grounds after In Vitro Digestion. **Foods**, v. 9, n. 9, p. 1281, 12 set. 2020. MDPI AG.

54. CRUZ, Rebeca; CARDOSO, Maria M.; FERNANDES, Luana; OLIVEIRA, Marta; MENDES, Eulália; BAPTISTA, Paula; MORAIS, Simone; CASAL, Susana. Espresso Coffee Residues: a valuable source of unextracted compounds. **Journal Of Agricultural And Food Chemistry**, v. 60, n. 32, p. 7777-7784, 31 jul. 2012. American Chemical Society (ACS).

55. NAGANTHRAN, Ashwini; VERASOUNDARAPANDIAN, Gayathiri; KHALID, Farah Eryssa; MASARUDIN, Mas Jaffri; ZULKHARNAIN, Azham; NAWAWI, Norazah Mohammad; KARIM, Murni; ABDULLAH, Che Azurahaman Che; AHMAD, Siti Aqlima. Synthesis, Characterization and Biomedical Application of Silver Nanoparticles. **Materials**, v. 15, n. 2, p. 427, 6 jan. 2022. MDPI AG.

56. SAKAI, Toshio; ALEXANDRIDIS, Paschalis. Mechanism of Gold Metal Ion Reduction, Nanoparticle Growth and Size Control in Aqueous Amphiphilic Block Copolymer Solutions at Ambient Conditions. **The Journal Of Physical Chemistry B**, v. 109, n. 16, p. 7766-7777, 31 mar. 2005. American Chemical Society (ACS).

57. PAL, Sukdeb; TAK, Yu Kyung; SONG, Joon Myong. 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, 15 mar. 2007. American Society for Microbiology.

58. SKOOG, Douglas; WEST, Donald; HOLLER, James; CROUCH, Stanley. **Fundamentos De Química Analítica**. 2. ed. Cengage Learning, 2014. 1088 p.

59. WANG, Mengmeng; ZHANG, Wenjing; ZHENG, Xuesong; ZHU, Peizhi. Antibacterial and catalytic activities of biosynthesized silver nanoparticles prepared by using an aqueous extract of green coffee bean as a reducing agent. **Rsc Advances**, v. 7, n. 20, p. 12144-12149, 2017. Royal Society of Chemistry (RSC).
60. AHMED, Shakeel; SAIFULLAH; AHMAD, Mudasir; SWAMI, Babu Lal; IKRAM, Saiqa. Green synthesis of silver nanoparticles using *Azadirachta indica* aqueous leaf extract. **Journal Of Radiation Research And Applied Sciences**, v. 9, n. 1, p. 1-7, jan. 2016. Elsevier BV.
61. ANNADHASAN, M.; MUTHUKUMARASAMYVEL, T.; BABU, V. R. Sankar; RAJENDIRAN, N.. Green Synthesized Silver and Gold Nanoparticles for Colorimetric Detection of  $Hg^{2+}$ ,  $Pb^{2+}$ , and  $Mn^{2+}$  in Aqueous Medium. **Acs Sustainable Chemistry & Engineering**, v. 2, n. 4, p. 887-896, 10 fev. 2014. American Chemical Society (ACS).
62. GAO, Xiaohui; LU, Yizhong; HE, Shuijian; LI, Xiaokun; CHEN, Wei. Colorimetric detection of iron ions (III) based on the highly sensitive plasmonic response of the N-acetyl-L-cysteine-stabilized silver nanoparticles. **Analytica Chimica Acta**, v. 879, p. 118-125, jun. 2015. Elsevier BV.
63. PROSPOSITO, Paolo; BURRATTI, Luca; VENDITTI, Iole. Silver Nanoparticles as Colorimetric Sensors for Water Pollutants. **Chemosensors**, v. 8, n. 2, p. 26, 31 mar. 2020. MDPI AG.
64. AZIZI-KHERESHKI, Nasibeh; MOUSAVI, Hassan Zavvar; FARSADROOH, Majid; EVAZALIPOUR, Mehdi; FEIZI-DEHNAYEBI, Mehran; ZIARANI, Ghodsi Mohammadi; HENARY, Maged; RTIMI, Sami; AMINABHAVI, Tejraj M.. Biogenic synthesis of silver nanoparticles for colorimetric detection of  $Fe^{3+}$  in environmental samples: dft calculations and molecular docking studies. **Journal Of Environmental Management**, v. 387, p. 125880, jul. 2025. Elsevier BV.
65. ZUORRO, Antonio; IANNONE, Annalaura; MIGLIETTA, Selenia; LAVECCHIA, Roberto. Green Synthesis of Silver Nanoparticles Using Spent Coffee Ground Extracts: process modelling and optimization. **Nanomaterials**, v. 12, n. 15, p. 2597, 28 jul. 2022. MDPI AG.
66. KOLE, Prashant Laxman; VENKATESH, Gantala; KOTECHA, Jignesh; SHESHALA, Ravi. Recent advances in sample preparation techniques for effective bioanalytical methods. **Biomedical Chromatography**, v. 25, n. 1-2, p. 199-217, 10 dez. 2010. Wiley.

67. ALLEGRINI, Franco; OLIVIERI, Alejandro C.. Linear or non-linear multivariate calibration models? That is the question. **Analytica Chimica Acta**, v. 1226, p. 340-248, set. 2022. Elsevier BV.
68. IRAVANI, S. Green synthesis of metal nanoparticles using plants. **Green Chemistry**, v. 13, n. 10, p. 2638-2650, out. 2011. Royal Society of Chemistry.