

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
INSTITUTO DE CIÊNCIAS EXATAS
ESCOLA DE ENGENHARIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM INOVAÇÃO TECNOLÓGICA

Thelmo Gonçalves de Souza Oliveira

**BIOSSÍNTESE DE NANOPARTÍCULAS DE PRATA COM PRÓPOLIS VERDE E
SUA ATIVIDADE ANTIFÚNGICA**

Belo Horizonte
2023

Thelmo Gonçalves de Souza Oliveira

**BIOSSÍNTESE DE NANOPARTÍCULAS DE PRATA COM PRÓPOLIS VERDE E
SUA ATIVIDADE ANTIFÚNGICA**

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Inovação Tecnológica da Universidade de Minas Gerais, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Inovação Tecnológica.

Orientador(a): Prof. Luiz Carlos Alves de Oliveira

Belo Horizonte

2023

Ficha Catalográfica

O481b Oliveira, Thelmo Gonçalves de Souza.
2023 Biossíntese de nanopartículas de prata com própolis verde e sua atividade
antifúngica [manuscrito] / Thelmo Gonçalves de Souza Oliveira. 2023.
D 1 recurso online (62 f. : il., gráfs., tabs., color.) : pdf.

Orientador: Luiz Carlos Alves de Oliveira.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Minas Gerais – Departamento de Química (Programa de Pós-Graduação em Inovação Tecnológica).
Bibliografia: f. 54-62.

1. Inovações tecnológicas – Teses. 2. Nanopartículas – Teses. 3. Prata – Teses. 4. Propole – Teses. 5. Biossíntese – Teses. 6. Atividade antifúngica – Teses. 7. Nanotecnologia – Teses. I. Oliveira, Luiz Carlos Alves de, Orientador. II. Título.

CDU 043



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
Programa de Pós-graduação em Inovação Tecnológica

ATA DA SESSÃO DE DEFESA DA 12ª DISSERTAÇÃO DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM INOVAÇÃO TECNOLÓGICA DA UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS, DO DISCENTE THELMO GONÇALVES DE SOUZA OLIVEIRA Nº DE REGISTRO 2020726739.

Aos 05 (cinco) dias do mês de abril de 2023, às 14 horas, online, via plataforma Microsoft Teams, reuniu-se a Comissão Examinadora composta pelos Professores Doutores: Luiz Carlos Alves de Oliveira do Programa de Pós-graduação em Inovação Tecnológica da UFMG (Orientador), Carla Regina Guimarães Brighenti da Universidade Federal de São João del-Rei e Cinthia de Castro Oliveira do Departamento de Química da UFMG, para julgamento da Dissertação do Mestrado em Inovação Tecnológica - Área de Concentração: Novos Materiais, Nanotecnologia e Química, do discente Thelmo Gonçalves de Souza Oliveira, Dissertação intitulada: **“BIOSÍNTESE DE NANOPARTÍCULAS DE PRATA COM PRÓPOLIS VERDE E SUA ATIVIDADE ANTIFÚNGICA.”** O Presidente da Banca abriu a sessão e apresentou a Comissão Examinadora, bem como esclareceu sobre os procedimentos que regem da defesa pública de dissertação. Após a exposição oral do trabalho pelo discente, seguiu-se com arguição pelos membros da Banca Examinadora, com a respectiva defesa do candidato. Finda a arguição, a Banca Examinadora se reuniu, sem a presença do discente e do público, tendo deliberado unanimemente pela sua **APROVAÇÃO**. Nada mais havendo para constar, lavrou-se e fez a leitura pública da presente Ata que segue assinada por mim e pelos membros da Comissão Examinadora e pelo coordenador do PPGIT. Belo Horizonte, 05 de abril de 2023.

Professor Doutor Luiz Carlos Alves de Oliveira (Orientador)
(PPG em Inovação Tecnológica da UFMG)

Professora Doutora Carla Regina Guimarães Brighenti
(Universidade Federal de São João del-Rei)

Professora Doutora Cinthia de Castro Oliveira
(Departamento de Química da UFMG)

Professor Doutor Ado Jório de Vasconcelos
Coordenador do PPG em Inovação Tecnológica da UFMG



Documento assinado eletronicamente por **Cinthia de Castro Oliveira, Membro**, em 06/04/2023, às 16:21, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Luiz Carlos Alves de Oliveira, Professor do Magistério Superior**, em 06/04/2023, às 16:50, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Carla Regina Guimarães Brighenti, Usuária Externa**, em 11/04/2023, às 17:02, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Ado Jorio de Vasconcelos, Coordenador(a)**, em 13/04/2023, às 10:12, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site https://sei.ufmg.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador **2210211** e o código CRC **439D8199**.

DEDICATÓRIA

À minha família, em especial à minha esposa, pelo incentivo e apoio incondicional.

Aos meus professores de graduação, Carla R. Brighenti e Deodoro M. Brighenti, pela iniciação científica e inspiração, pelos ensinamentos, confiança, dedicação e exemplo.

AGRADECIMENTOS

Agradeço em primeiro lugar a Deus, que me concedeu saúde, força e sabedoria para superar os desafios ao longo deste processo e me guiou durante toda a jornada.

Em segundo lugar, meu sincero agradecimento ao meu orientador, prof. Luiz Carlos Alves de Oliveira, por sua orientação, pela oportunidade, apoio, paciência e sabedoria durante todo o período de desenvolvimento deste trabalho. Sem sua confiança, disposição e incentivo, este trabalho não seria possível.

À minha esposa Paula, agradeço por sua paciência, compreensão, amor e apoio incondicional durante todo o período de minha formação. Seu amor e cuidado foram fundamentais para que eu pudesse me dedicar plenamente aos estudos nos horários vagos e finais de semana, para alcançar este objetivo.

Aos meus irmãos, pais e familiares, agradeço pelo amor, apoio e incentivo constantes, em especial ao meu irmão e sócio Theo, pela amizade e apoio nos meus momentos de ausência no trabalho. Sem a ajuda e o suporte de cada um de vocês, não teria sido possível chegar até aqui.

Gostaria também de agradecer aos professores e alunos do PPGIT, cuja contribuição e troca de conhecimentos foram fundamentais para o desenvolvimento deste estudo, em especial à Ana e ao Samuel pelas ajudas no laboratório, bem como aos colaboradores da Vivenda Imóveis e Real Própolis, pela paciência, compreensão e dedicação no dia a dia laboral e seus imprevistos.

Enfim, minha eterna gratidão a todos que contribuíram direta ou indiretamente para este trabalho. Que esta dissertação possa ser útil e trazer contribuições para a sociedade e para a ciência.

“Se preparar para eventos inesperados e aproveitar as oportunidades para crescer é uma necessidade.” (Nassim Nicholas Taleb, *Iludidos pelo Acaso*, 2019)

RESUMO

A nanotecnologia tem sido amplamente utilizada no desenvolvimento de novas terapias antifúngicas, e entre elas, as nanopartículas de prata (AgNPs) têm se destacado. A própolis verde, coletada por abelhas africanizadas a partir dos brotos do alecrim-do-campo (*Baccharis dracunculifolia*), é valorizada devido à sua composição química distinta. Apesar da reconhecida eficácia das AgNPs contra diferentes patógenos, ainda há poucos estudos sobre as AgNPs modificadas com extrato de própolis verde e seus potenciais aplicações antifúngicas. Este estudo propõe a biossíntese, caracterização e avaliação da atividade antifúngica de AgNPs modificadas com extrato de própolis verde. Utilizando um planejamento fatorial 2^3 , o estudo buscou determinar as condições ideais para a síntese de AgNPs, considerando três variáveis: concentração de nitrato de prata (AgNO_3) (250 e 500 μM), velocidade de agitação (500 e 1500 rpm) e concentração de extrato de própolis verde (EPV) (240 e 480 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$). A formação de AgNPs foi confirmada pelo surgimento da característica banda de ressonância de Plásmon de superfície da prata no espectro UV-visível e pela mudança de cor da solução. A análise por Espalhamento de Luz Dinâmico (DLS) mostrou que a maioria das partículas tinham tamanhos entre 10 e 100 nm, com um pico de intensidade em torno de 40-50 nm. Além disso, a adsorção dos compostos fenólicos e flavonoides presentes no extrato de própolis verde resultou em um Potencial Zeta médio negativo de 41 a 68 mV, sugerindo uma alta estabilidade da suspensão coloidal. As AgNPs modificadas com própolis verde demonstraram atividade antifúngica eficaz contra *Candida albicans* em estudos in vitro. Os resultados indicaram que a concentração de nitrato de prata influencia a estabilidade da suspensão e a capacidade de as AgNPs resistirem à aglomeração e à sedimentação. Estes achados destacam o potencial das AgNPs modificadas com extrato de própolis verde para futuras aplicações em ambientes biológicos e industriais.

Palavras-chave: nanopartículas de prata (AgNPs); própolis verde; biossíntese de nanopartículas; atividade antifúngica; compostos fenólicos; flavonoides.

ABSTRACT

Nanotechnology has been widely used in the development of new antifungal therapies, among which silver nanoparticles (AgNPs) have stood out. Green propolis, collected by Africanized bees from the buds of the field rosemary (*Baccharis dracunculifolia*), is valued for its distinctive chemical composition. Despite the recognized effectiveness of AgNPs against various pathogens, there are still few studies on AgNPs modified with green propolis extract and their potential antifungal applications. This study proposes the biosynthesis, characterization, and evaluation of the antifungal activity of AgNPs modified with green propolis extract. Using a 2³ factorial design, the study sought to determine the ideal conditions for the synthesis of AgNPs, considering three variables: silver nitrate (AgNO₃) concentration (250 and 500 μM), stirring speed (500 and 1500 rpm), and green propolis extract (EPV) concentration (240 and 480 μg.mL⁻¹). The formation of AgNPs was confirmed by the emergence of the characteristic silver surface Plasmon resonance band in the UV-Visible spectrum and by the color change of the solution. Analysis by Dynamic Light Scattering (DLS) showed that most particles had sizes between 10 and 100 nm, with a peak intensity around 40-50 nm. Furthermore, the adsorption of phenolic and flavonoid compounds presents in the green propolis extract resulted in a negative average Zeta Potential of 41 to 68 mV, suggesting a high stability of the colloidal suspension. The AgNPs modified with green propolis showed effective antifungal activity against *Candida albicans* in in vitro studies. The results indicated that the silver nitrate concentration influences the suspension stability and the ability of AgNPs to resist agglomeration and sedimentation. These findings highlight the potential of AgNPs modified with green propolis extract for future applications in biological and industrial environments.

Keywords: silver nanoparticles (AgNPs); green propolis. nanoparticle biosynthesis; antifungal activity; phenolic compounds; flavonoids.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1. Comparação de tamanho de objetos, nanomateriais e biomoléculas.

Figura 2. Exemplos típicos mostrando dimensionalidade variada em nanomateriais: (a) fulereno; (b) ponto quântico; (c) aglomerado metálico; (d) nanotubo de carbono; (e) nanotubo de óxido metálico; (f) grafeno; (g) nanofitas de óxido metálico; (h) nanodiamante; (i) estruturas metálicas orgânicas (MOFs).

Figura 3. Os princípios de síntese de AgNPs.

Figura 4. Diferentes tipos de própolis coletadas no município de Itaúna/MG, Brasil.

Figura 5. Processo de coleta de resina e produção de própolis verde por abelhas africanizadas.

Figura 6. Rede bibliométrica e ocorrência da literatura para síntese de nanopartículas metálicas, para todo tipo de documento entre os anos de 2012 a 2022.

Figura 7. Rede bibliométrica e ocorrência da literatura para síntese de nanopartículas metálicas com escala de cor, segundo o ano de publicação para todo tipo de documento.

Figura 8. Rede bibliométrica e ocorrência da literatura para as palavras “nano” e “própolis”, para todo tipo de documento entre os anos de 2012 a 2022.

Figura 9. Processo de coleta de resina e produção de própolis verde por abelhas africanizadas.

Figura 10. Processo ilustrativo para formação de AgNP-mPV.

Figura 11. Cor da solução após a biossíntese das AgNP-mPV.

Figura 12. Distribuição de intensidade em relação ao seu tamanho (diâmetro) em nanômetros (nm) por DLS das amostras de AgNP-mPV.

Figura 13. Espectros UV-Vis de AgNP-mPV em função do tempo.

Figura 14. Potencial Zeta médio no dia inicial (d0) e no oitavo dia (d8).

Figura 15. Estudo In vitro da capacidade antifúngica de de AgNP-mPV.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Classificação das Própolis Brasileiras.

Tabela 2. Estruturas químicas dos compostos mais representativos da própolis verde brasileira: *Artepillin C* (A), drupanina (B) e ácido p-cumárico (C).

Tabela 3. Parâmetros de busca dos tipos de síntese de NPMs.

Tabela 4. Parâmetros de busca para nanopartículas de prata com própolis.

Tabela 5. Variáveis do planejamento fatorial 2^3 .

Tabela 6. Matriz de planejamento fatorial 2^3 .

Tabela 7. Planejamento fatorial com resposta obtida através do Diâmetro Médio de Partícula e Percentual por DLS.

SIGLAS E ABREVIATURAS

AgNPs	Nanopartículas de Prata
AgNP-mPV	Nanopartículas de Prata modificadas com Própolis Verde
DLS	Espalhamento de Luz Dinâmico
EPV	Extrato de Própolis Verde
Nm	Nanômetros
NPMs	Nanopartículas Metálicas
PZ	Potencial Zeta
SPR	Ressonância de Plásmon de Superfície

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	14
1.1	Objetivo geral	15
1.2	Justificativa	15
2	REVISÃO DE LITERATURA.....	17
2.1	Nanomateriais	17
2.2	Nanopartículas metálicas	19
2.3	Nanopartículas de prata	20
2.4	Síntese de Nanopartículas Metálicas.....	20
2.5	Biossíntese de AgNPs.....	21
2.6	Própolis.....	22
2.6.1	Própolis Verde Brasileira	26
3	MATERIAIS E MÉTODOS	29
3.1	Prospecção Tecnológica	29
3.2	Reagentes e Materiais	31
3.3	Biossíntese de AgNPs.....	32
3.4	Planejamento fatorial.....	33
3.5	Caracterização das nanopartículas	34
3.5.1	Análise visual e tamanho de partícula	34
3.5.2	Análise do espectro UV-Vis.....	35
3.5.3	Potencial Zeta	35
3.6	Avaliação da atividade antifúngica	36
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO	37
4.1	Propecção Tecnológica.....	37
4.2	Biossíntese de AgNPs-mPV	42
4.3	Caracterização das nanopartículas	43
4.3.1	Análise Visual e Tamanho de Partícula	44
4.3.2	Análise do espectro UV-visível.....	48
4.3.3	Determinação do Potencial Zeta	50
4.4	Atividade antifúngica	51
5	CONCLUSÕES.....	53
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	54

1 INTRODUÇÃO

Recentes avanços e descobertas em nanociência e nanotecnologia mudaram radicalmente vários aspectos na vida dos seres humanos, desde sua introdução em 1959 por Richard Feynman (WYSER *et al.*, 2016).

As nanopartículas metálicas (NPMs) são foco intensivo de pesquisas, devido às suas propriedades optoeletrônicas, físico-químicas e grande campo de aplicações (GANAIE S. U. *et al.*, 2015). No centro das pesquisas estão a síntese, caracterização e aplicação de novos nanomateriais e nanopartículas (HUANG *et al.*, 2018).

Em particular, as nanopartículas de prata (AgNPs) são cada vez mais utilizadas para diversas aplicações, por exemplo, como agentes antibacterianos, na indústria de alimentos como componentes de embalagens e como agentes anticâncer, na indústria farmacêutica, devido às suas propriedades físicas, químicas e biológicas exclusivas (ZHANG *et al.*, 2016; CHERNOUSOVA S. AND EPPLE M., 2013).

Diante da crescente demanda, diversos métodos de síntese foram desenvolvidos, dentre eles métodos químicos, físicos e biológicos. Embora os métodos químicos e físicos existentes sejam satisfatórios, esses processos geralmente envolvem grandes gastos de energia e são perigosos, exigindo controles rigorosos. Além disso, a síntese de AgNPs usando métodos químicos pode gerar algumas espécies químicas tóxicas nos AgNPs, o que pode afetar seu uso na fabricação de alimentos ou na medicina (GANAIE S. U. *et al.*, 2015).

Entre os vários métodos de síntese de AgNPs, os métodos biológicos parecem ter abordagens simples, rápidas, atóxicas, confiáveis e ecologicamente corretas, que podem produzir tamanhos bem definidos e morfologia em condições otimizadas para pesquisa translacional. Além disso, os AgNPs biologicamente preparados mostram altos rendimento, solubilidade e estabilidade (GURUNATHAN, *et al.*, 2015).

A gama de materiais biológicos utilizados na síntese de NPMs é bastante diversificada, abrangendo desde folhas, flores e cascas de plantas até fungos e bactérias (GANAIE, S. U. *et al.*, 2015; SIERRA *et al.*, 2016). Dentre esses, a própolis ganha destaque, principalmente devido à sua rica composição química que inclui compostos fenólicos e flavonoides. Esses componentes são capazes de reduzir íons metálicos, agindo como eficazes agentes redutores (ABBASI, 2015).

Produzida pelas abelhas há milhões de anos, a própolis é um produto natural das colmeias que vem sendo valorizado e utilizado pela humanidade desde os primórdios das civilizações. Seu valor advém de suas conhecidas propriedades

farmacológicas e benefícios para a saúde (GHISALBERTI 1979; MARCUCCI 1995; PARK *et al.*, 2000).

No Brasil, os tipos de própolis mais estudados são a verde e a vermelha, escolhidos principalmente por suas composições químicas e princípios ativos. A própolis verde, em particular, é especialmente encontrada no sudeste do país e é conhecida por seu componente chave, o Artepillin C. Graças à sua eficácia no combate a vários microrganismos e à sua potente atividade antioxidante, é altamente valorizada no mercado internacional, movimentando milhões de dólares anualmente (FERREIRA J. M. *et al.*, 2018; NISHIKAWA *et al.*, 2020).

A integração da própolis verde com a nanotecnologia na medicina abre um amplo espectro de possibilidades, derivadas das características inerentes aos nano-aditivos, que proporcionam novas funcionalidades. Nesse contexto, a biossíntese de AgNPs utilizando própolis verde é promissora e possui grande potencial de aplicação. Além disso, a própolis verde é conhecida por suas propriedades antifúngicas, que podem aumentar ainda mais a eficácia das AgNPs em diversas aplicações médicas.

1.1 Objetivo geral

O presente trabalho tem como objetivo principal avaliar a biossíntese e caracterização de nanopartículas de prata modificadas com própolis verde (AgNPs-mPV) para maximizar a sua eficácia antifúngica.

De forma mais específica, os objetivos são otimizar o processo de biossíntese das AgNPs-mPV utilizando análise estatística multivariada, caracterizar as AgNPs-mPV em termos de tamanho, distribuição e carga superficial, usando técnicas como o Espalhamento de Luz Dinâmico (DLS), espectroscopia UV-Visível para identificar as bandas de Ressonância de Superfície Plasmônica (SPR), e análise do potencial Zeta para determinar a estabilidade das partículas em solução. Além disso, avaliar a atividade antifúngica das AgNPs-mPV contra a *Candida Albicans*, um fungo patogênico comum e através de análise bibliométrica conhecer o estado da arte da tecnologia do presente trabalho.

1.2 Justificativa

O surgimento recente de microrganismos resistentes, incluindo certos tipos de fungos, vírus e bactérias, tem se acelerado de maneira preocupante, representando um potencial risco à saúde de humanos, animais e plantas. As nanopartículas metálicas têm atraído grande atenção devido ao seu pequeno tamanho e à extensa

área de superfície em relação ao volume, que conferem propriedades físico-químicas únicas a essas partículas. Entre as nanopartículas metálicas, as nanopartículas de prata (AgNPs) têm sido objeto de pesquisa em diversas áreas, graças a suas características notáveis, tais como condutividade elétrica, estabilidade química, atividades catalítica e antibiótica (ABDELGHANY T. M. et al., 2018; NISAR A. et al., 2022; OLEKSANDRA P. et al., 2020).

Diante da crescente demanda por processos não tóxicos e *eco-friendly* para a síntese de nanopartículas metálicas (NPMs), que visam minimizar ou eliminar o uso de energia e compostos orgânicos prejudiciais, os métodos de síntese biológicos se destacam. Conhecidos também como biossíntese, estes procedimentos são geralmente simples, rápidos, atóxicos, confiáveis e ecologicamente viáveis, sendo capazes de produzir nanopartículas com tamanhos e morfologia bem definidos sob condições otimizadas para pesquisa translacional (ABDELGHANY T. M. et al., 2018; ROY, A., et al. 2019).

Diversos materiais são utilizados na biossíntese de AgNPs, abrangendo folhas, flores, frutos e cascas de plantas até fungos e bactérias. Esses processos são mediados por componentes biológicos com capacidade de reduzir íons metálicos (ABBASI, 2015). A própolis verde, produzida por abelhas africanizadas, através da coleta de brotos do alecrim do campo (*Baccharis dracunculifolia*) tem despertado interesse de cientistas no mundo inteiro recentemente, graças às suas vastas propriedades biológicas, da composição rica em compostos bioativos, e do componente chave, *Artepillin C*, substância com propriedades antioxidantes e antiangiogênicas (AHN *et al.*, 2009; MENEZES H., 2005; PARK Y. K. *et al.*, 2004).

Neste contexto, a própolis verde surge como uma alternativa promissora na biossíntese de AgNPs, contribuindo para o desenvolvimento de novos produtos inovadores e aprimoramento de produtos comerciais existentes destinados ao uso medicinal.

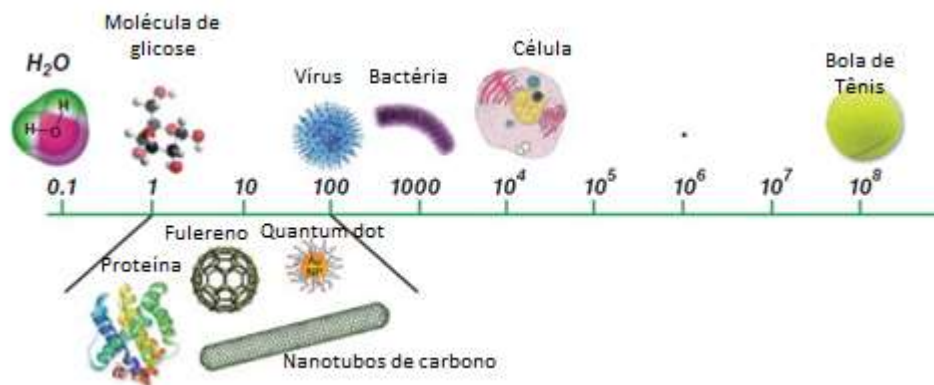
2 REVISÃO DE LITERATURA

A revisão de literatura sobre biossíntese de nanopartículas de prata foi feita utilizando a plataforma Web of Science e Lens.org.

2.1 Nanomateriais

Nanomateriais são criados a partir de blocos de nanopartículas e podem ser definidos como um conjunto de substâncias em que pelo menos uma dimensão é menor que 100nm. Contudo, entidades de algumas áreas, como o meio ambiente e saúde por exemplo, preferem uma faixa de tamanho mais ampla, que vai de 0,3 a 300 nanômetros para delimitar os nanomateriais, oferecendo assim mais oportunidades para pesquisas e um entendimento mais aprofundado de todos os nanomateriais. Além disso, possibilita avaliar se algum nanomaterial apresenta preocupações para a saúde humana e em que faixa de tamanho isso ocorre. A Figura 1 apresenta uma comparação do tamanho dos nanomateriais com algumas espécies naturais e biológicas. (KUMAR, N. AND KUMBHAT, S., 2016).

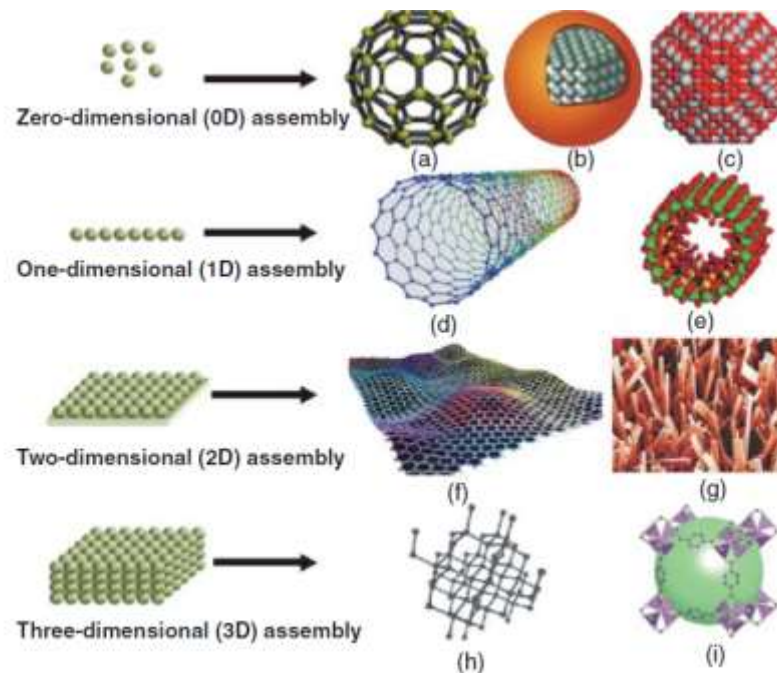
Figura 1. Comparação de tamanho de objetos, nanomateriais e biomoléculas.



Fonte: Adaptado de KUMAR, N. AND KUMBHAT, S., 2016.

As nanoestruturas são sistemas de nanomateriais organizados em escala nanométrica com um padrão específico, que podem incluir nanoesferas, nanotubos, nanorods, nanofios e nanobelts. Esses materiais são classificados de acordo com a sua dimensionalidade, podendo ser zero, uma, duas ou três dimensões (usar nos resultados) (NARENDAR, S. *et al.*, 2010; KUMAR, N. AND KUMBHAT, S., 2016), com exemplos típicos ilustrados na Figura 2.

Figura 2. Exemplos típicos mostrando dimensionalidade variada em nanomateriais: (a) fulereno; (b) ponto quântico; (c) aglomerado metálico; (d) nanotubo de carbono; (e) nanotubo de óxido metálico; (f) grafeno; (g) nanofitas de óxido metálico; (h) nanodiamante; (i) estruturas metálicas orgânicas (MOFs).



Fonte: KUMAR, *et al.*, 2016.

As nanopartículas têm sido objeto de estudo desde o início dos anos 90, e vêm ganhando destaque devido a sua importância tecnológica, sendo utilizadas por exemplo como nanocarreadores de drogas, podendo ser encapsuladas dentro ou na superfície de moléculas pequenas, tais como genes, biofármacos e agentes de diagnóstico e imagem (CRAUSTE-MANCIET S. *et al.* 2013; HADINOTO K. *et al.*, 2013; SUN X. *et al.*, 2008).

Os nanocarreadores comumente empregam diferentes sistemas matriciais (materiais nanoestruturados) e arquitetura composta por polímeros (nanopartículas poliméricas), lipossomas (nanopartículas lipídicas sólidas, cubossomos, niossomos, dentre outros) (BZYLINSKA U. *et al.*, 2014; DO NASCIMENTO T. G. *et al.*, 2016), nanopartículas metálicas (nanopartículas de silício, ouro e prata por exemplo), nanotubos de carbono e pontos quânticos (HUANG P. *et al.*, 2011; KABA S. I. *et al.*, 2015).

Nos últimos 10 anos, os pesquisadores deram grande atenção ao campo da nanotecnologia, que trabalha com a síntese, caracterização e aplicação de

nanodispositivos e nanomateriais (ROCO M. C., 2003; SHAMELI K. *et al.*, 2015; SILVA G. A., 2004).

Os nanomateriais podem sofrer novas mudanças químicas e físicas em sua estrutura como resultado de seu tamanho menor, indicando aumento da reatividade e solubilidade (BARSOLA B. AND KUMARI P., 2022).

2.2 Nanopartículas metálicas

Os metais nobres, tais como platina, ouro, paládio, prata, ródio, rutênio, irídio e ósmio, são comumente empregados na síntese de NPMs devido às suas propriedades de resistência à corrosão e à oxidação em condições de ar úmido. Adicionalmente, em comparação com metais de transição, como ferro, níquel e cobalto, as NPMs obtidas a partir de metais nobres apresentam uma menor citotoxicidade para aplicações em áreas como a biologia e o meio ambiente (BARBOSA V. T. *et al.*, 2019; KAGITHOJU, S. *et al.*, 2015).

A síntese e aplicação de NPMs têm atraído o interesse de diversos setores da indústria devido às suas propriedades elétricas, magnéticas e ópticas, principalmente ciências biomédicas e engenharia por causa de seu enorme potencial em nanotecnologia, abrindo uma ampla gama de aplicações em biotecnologia, biomedicina e farmacologia (AHMAD M. B. *et al.*, 2009; KOGAN M. J. *et al.*, 2007; MODY V.V. *et al.*, 2010).

As propriedades ópticas se destacam pela banda SPR que permite a absorção na região visível do espectro para nanopartículas maiores que 2 nm. O fenômeno de SPR é causado pela oscilação coletiva de elétrons em resposta a um campo elétrico de luz, resultando em uma absorção na região visível do espectro que varia dependendo do tamanho e forma da nanopartícula. As NPMs possuem núcleos iônicos com elétrons livres, que quando iluminados geram um dipolo elétrico na superfície, causando a oscilação coletiva de elétrons (BARBOSA V. T. *et al.*, 2019; GARCIA, M. A., 2011; SIGNORI *et al.*, 2010; ZHANG J. Z. AND NOGUEZ C., 2008).

Apesar de todos os metais na forma de nanopartículas possuírem essa propriedade, Au, Ag e Cu mostram um aumento na magnitude e nitidez da banda de SPR, o que dá uma melhor resolução de detecção apesar da resposta do SPR semelhante. As nanopartículas de ouro e prata são as mais estudadas nessa área devido à sua facilidade de síntese e robustez, além disso as AgNPs têm uma

vantagem adicional como melhores dispersores em comparação com nanopartículas de ouro do mesmo tamanho (LEE K. S. *et al.*, 2006; MOORES *et al.*, 2006).

2.3 Nanopartículas de prata

Dentre as várias NPMs, as de prata têm se destacado devido à sua excelente atividade antimicrobiana a partir de uma abordagem baseada na nanotecnologia. Por exemplo, os íons de prata podem se ligar a paredes de peptidoglicanos bacterianos carregados negativamente e podem se difundir em células bacterianas e se ligar a bases de DNA, levando à morte bacteriana e/ou inibindo os processos de replicação e transcrição, impedindo assim a produção bacteriana adicional (SHRIVASTAVA S., *et al.*, 2007).

Além disso, a geração de espécies reativas de oxigênio, que levam a processos de nanotoxicidade também é um mecanismo antimicrobiano bem estabelecido. As principais desvantagens que limitam o uso da AgNPs são sua facilidade de agregação e a liberação descontrolada de íons de prata e seu potencial de citotoxicidade (SILVA A. R. AND UNALI G., 2011).

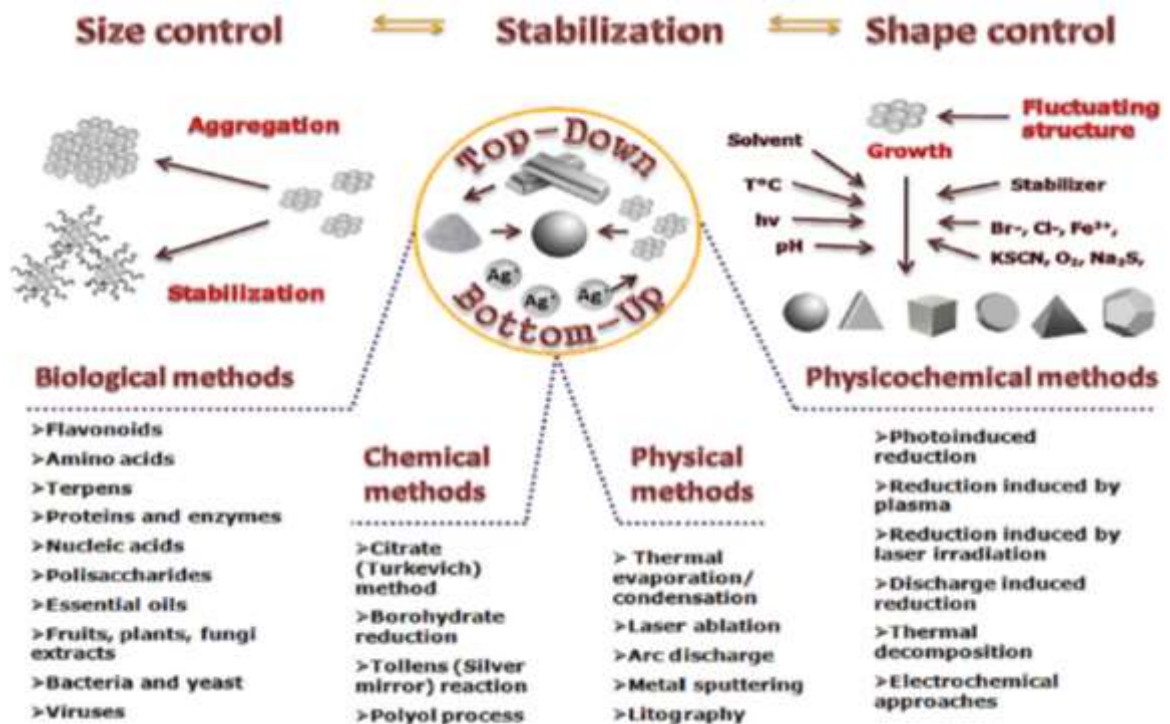
Entretanto, a biossíntese de nanopartículas de prata surgiu como uma alternativa para reduzir os problemas citotóxicos e ambientais decorrentes de sua síntese química, utilizando produtos naturais como agente redutor e estabilizador (PFEIFFER P. M., *et al.*, 2022).

Em 2021, o valor do mercado mundial de nanopartículas de prata foi de US\$ 2.052,10 milhões. A perspectiva futura indica que esse mercado movimentará cerca de US\$ 5.291,10 milhões em 2027, com uma taxa de crescimento de 16,50% durante o período de 2022 a 2027 (IMARC, 2022).

2.4 Síntese de Nanopartículas Metálicas

As rotas para a síntese de nanopartículas metálicas podem ser divididas em duas abordagens básicas de síntese, “top-down” e “bottom-up”. Os métodos “top-down” envolvem a criação de estruturas em nanoescala a partir de material particulado, reduzindo seu tamanho por meio de “cortes” para atingir as dimensões desejadas. Em vez disso, abordagens “bottom-up” são técnicas sintéticas que utilizam os componentes moleculares, atômicos ou iônicos para produzir nanopartículas. Além disso, as técnicas de síntese podem ser categorizadas de acordo com os processos usados, sejam eles métodos físicos, químicos ou biológicos (Figura 3) (BISWAS A. *et al.*, 2012; PRYSHCHEPA O. *et al.*, 2020).

Figura 3. Os princípios de síntese de AgNPs.



Fonte: PRYSHCHEPA O. *et al.*, 2020.

Embora os métodos químicos e físicos existentes sejam satisfatórios, esses processos geralmente envolvem grandes gastos de energia e são perigosos, exigindo controles rigorosos. Além disso, a síntese de AgNPs utilizando os métodos químicos, podem gerar toxicidade nas AgNPs, o que pode afetar seu uso na fabricação de alimentos ou na medicina (GANAIE S. U. *et al.*, 2015) e gerar resíduos tóxicos derivados dos agentes redutores e estabilizantes que são usados em sua fabricação (ROY A. *et al.*, 2019).

O método químico para a síntese de AgNPs geralmente utiliza um método de redução química (GUZMÁN M. G. *et al.*, 2009; SHAMELI K., 2010). Métodos físicos para preparar nanopartículas podem ser feitas utilizando a irradiação como um agente redutor (ELSUPIKHE R.F. *et al.*, 2015).

2.5 Biossíntese de AgNPs

A biossíntese refere-se à produção de nanopartículas por meio de um processo envolvendo uma molécula natural como agente redutor e sais metálicos (PINAR T.S. *et al.*, 2018).

Os métodos biológicos para síntese de AgNPs parecem ter abordagens simples, rápidas, atóxicas, confiáveis e ecologicamente corretas, que podem produzir

tamanhos bem definidos e morfologia em condições otimizadas para pesquisa translacional. Além disso, os AgNPs biologicamente preparados mostram altos rendimento, solubilidade e estabilidade (GURUNATHAN *et al.*, 2015). A principal diferença da biossíntese, é a escolha do material biológico para uso, que podem ter ambas as capacidades de redução e estabilização, reduzindo os processos em comparação aos métodos químicos e físicos (BARBOSA V. T. *et al.*, 2019).

Os materiais biológicos usados são muito diversificados, variando desde extratos vegetais de folhas, flores e cascas, até algas e microrganismos como fungos e bactérias (GANAIE S. U. *et al.*, 2015; HASAM K.M.F. *et al.*, 2022; SIERRA *et al.*, 2016; VIJAY P., *et al.*, 2015).

O uso de plantas como montagem de produção de AgNPs tem chamado a atenção, devido ao seu protocolo rápido, ecologicamente correto, não patogênico e econômico, fornecendo uma técnica de etapa única para os processos biossintéticos e contendo importantes fitoquímicos usados como agentes redutores para a síntese de AgNPs (ABDELGHANY T.M., *et al.*, 2018).

Neste sentido, a própolis pode obter uma sinergia e potencialização de suas propriedades biológicas quando for associada às AgNPs e vice-versa. Essa sinergia é ocasionada por conta dos variados compostos orgânicos e moléculas presentes na própolis, como o seu alto teor de flavonoides e compostos fenólicos, que influenciam em suas atividades antibacterianas, antifúngicas, antivirais e, principalmente, em suas ações antioxidantes (AHMED *et al.*, 2017).

O mecanismo associado a biossíntese das AgNPs modificada com própolis se dá nas seguintes etapas: um precursor de prata, normalmente, um sal inorgânico de nitrato de prata (AgNO_3) é submetido à um extrato de própolis (BACKX, 2019). Ocorre a dissociação iônica capaz de promover a formação de íons prata em solução. Com o meio dispersivo rico em substâncias antioxidantes, ocorre a promoção dos íons prata a prata no estado fundamental (ANTUNES FILHO *et al.*, 2020).

Assim, os átomos de prata presentes em solução iniciam uma cinética de nucleação e crescimento até a formação e estabilização das AgNPs (PRASAD, 2014; REIMERS *et al.*, 2017; LI *et al.*, 2018).

2.6 Própolis

O comportamento colaborativo das abelhas dentro da colmeia é evidente na contribuição de cada indivíduo para manter a saúde da colônia de abelhas, conhecida

como imunidade social. Isso envolve práticas higiênicas, como a remoção de larvas doentes para prevenir a proliferação de patógenos e parasitas. No entanto, a convivência social devido à alta interação entre os indivíduos da colmeia, também pode levar à transmissão de doenças. Para ajudar a prevenir isso, as abelhas coletam resinas naturais antimicrobianas para produzir própolis, um dos produtos mais fascinantes e valiosos produzidos pelas abelhas, por fornecer benefícios imunológicos adicionais à colmeia (SPIVAK M. *et al.*, 2013; WILSON M. B. *et al.*, 2013; WILSON M. B. *et al.*, 2015).

A própolis é um produto natural da colmeia, produzida pelas abelhas a milhões de anos, através da coleta seletiva de resinas presentes em várias estruturas vegetais, como folhas, brotos, fluxos de seiva e tricomas, que são misturadas posteriormente com cera de abelha e secreções das glândulas salivares. Esse processo resulta em um produto quimicamente complexo e resinoso. Na maioria das vezes, os exsudatos coletados são incorporados à própolis sem alterações químicas, mas algumas vezes, os glicosídeos são submetidos à ação enzimática das hidrolases salivares das abelhas (ALDAY E. *et al.*, 2016; BANKOVA V. *et al.*, 2000; BANKOVA V., 2005; GHISALBERTI E. L., 1979; MARCUCCI M. C., 1995).

A composição da própolis varia de acordo com a fonte vegetal utilizada pelas abelhas. De modo geral, contém 50 - 60% de resinas e bálsamos, 30 - 40% de ceras, 5 - 10% de óleos essenciais, 5% de grão de pólen, além de vitaminas B1, B2, B6, E, C e elementos minerais como prata, cálcio, ferro, cobre, manganês, alumínio, vanádio e silício (BURDOCK, 1998; MARCUCCI, M. C., 1995; HUANG, S. *et al.*, 2014; WOISKY, R. G. AND SALATINO, A., 1998).

As variedades de própolis produzidas pelas abelhas apresentam propriedades mecânicas e biológicas, sendo utilizadas na colmeia para vedar rachaduras, prevenir danos estruturais e atuar como recurso físico termorregulador. Além disso, esses produtos têm a função de proteger a colônia de doenças, atuando como agentes antimicrobianos e substâncias de embalsamamento que impedem a decomposição de intrusos mortos (BANKOVA V., 2005; BANSKOTA A. H. *et al.*, 1998; PEREIRA A. S. *et al.*, 2002).

Durante as últimas décadas, houve um notável aumento nas pesquisas e aplicações de produtos naturais, incluindo a própolis, para fins terapêuticos. A própolis tem sido amplamente estudada pela comunidade científica, resultando em muitos artigos que abordam suas diversas atividades farmacológicas e componentes

bioativos. Esse interesse se deve à abundância da própolis na natureza, seu amplo espectro de efeitos biológicos, baixo custo e mínimos efeitos colaterais (BANKOVA V. *et al.*, 2019; CASTALDO S. *et al.*, 2002; MARCUCCI M. C., 1995; MARTINELLO M. *et al.*, 2021; SFORCIN J. M. *et al.*, 2011).

É importante destacar que as atividades biológicas da própolis variam significativamente de acordo com a origem geográfica, que influencia as variações qualitativas e quantitativas de seus constituintes químicos, que são fornecidos pelas fontes botânicas. Dessa forma, a diversidade química da própolis é ditada pelas condições fitogeográficas, características climáticas e espécie de abelha envolvida em sua produção (BANKOVA V., 2005; CUESTA-RUBIO O. *et al.*, 2012).

A própolis brasileira possui uma diversidade química particular, envolvendo diferentes resinas vegetais de diferentes mesorregiões, resultando em uma variedade de tipos de própolis, incluindo aquelas com composição química característica de regiões tropicais e temperadas. As mais estudadas são a própolis verde e a vermelha, devido à sua ampla disponibilidade, alta concentração de compostos bioativos e às suas propriedades terapêuticas únicas (ALDAY E. *et al.*, 2016; PARK Y. K. *et al.*, 2000; SALATINO A. *et al.*, 2005; TRUSHEVA B. *et al.*, 2006).

Para estabelecer um padrão na classificação da própolis brasileira, foi realizado um estudo por Park e colaboradores (2000) com amostras de diferentes regiões do país, com base no perfil químico das amostras, foi possível classificá-las em 12 grupos, relacionados na Tabela 1.

Tabela 1. Classificação das Própolis Brasileiras.

Grupos	Cor	Origem da Própolis
Grupo 1 (RS5)	Amarelo	Região Sul
Grupo 2 (RS1)	Castanho claro	
Grupo 3 (PR7)	Castanho escuro	
Grupo 4 (PR8)	Castanho claro	
Grupo 5 (PR9)	Marrom esverdeado	
Grupo 6 (BA11)	Marrom avermelhado	Região Nordeste
Grupo 7 (BA51)	Marrom esverdeado	
Grupo 8 (PE5)	Castanho escuro	
Grupo 9 (PE3)	Amarelo	
Grupo 10 (CE3)	Amarelo escuro	
Grupo 11 (PI1)	Amarelo	
Grupo 12 (SP12)	Verde ou Marrom esverdeado	Região Sudeste

Adaptado de PARK Y. K. *et al.*, 2000.

Ainda, no momento da comercialização, o comprador irá classificá-la em função de sua cor, aroma, textura, granulometria, origem, e em algumas situações pelo local de coleta. A classificação da própolis nos entrepostos exportadores brasileiros, são feitos com base nos critérios mencionados anteriormente, sendo classificadas como: (i)ultra-green - cor verde clara, proveniente do sul de Minas Gerais; (ii)super-green - cor verde, proveniente do sul de Minas Gerais, São Paulo, Rio de Janeiro, Espírito Santo e Paraná;(iii)Paraná-green - cor verde, proveniente do Paraná; Brown-grade – cor marrom ou preta (sem especificação de origem); Special - Paraná e sudeste do Brasil (sem especificar cor); Pó - própolis de pequena granulometria (sem especificar origem)(LIMA, M. G., 2006).

A crescente incidência de doenças oportunistas causadas por fungos do gênero *Candida* está relacionada com a resistência desses microrganismos a antifúngicos comerciais. Esta realidade sinaliza a necessidade de desenvolvimento de alternativas terapêuticas mais eficazes. Nesse contexto, a própolis, reconhecida por suas múltiplas propriedades bioativas, incluindo sua ação antifúngica, surge como uma potencial solução. Isso é particularmente relevante no caso de infecções causadas por fungos do gênero *Candida*, como a *C. albicans*, *C. tropicalis* e *C. dubliniensis*. Essas espécies, frequentemente isoladas em lesões de estomatite protética, são conhecidas por sua capacidade de resistência a tratamentos antifúngicos convencionais, como fluconazol e itraconazol (SOKOLONSKI A. R. *et al.*, 2021).

A literatura científica relata forte atividade antifúngica da própolis verde contra fungos do gênero *Candida*. A variabilidade nas atividades antimicrobiana e antitumoral de diferentes extratos de própolis já foi observada em estudos anteriores, entretanto, em comparação com extratos de própolis de amarela ou marrom, a própolis verde e a vermelha demonstraram resultados superiores (FREIRES, I. A. *et al.*, 2016; MACHADO B. A. S. *et al.*, 2016).

Figura 4. Diferentes tipos de própolis coletadas no município de Itaúna/MG, Brasil.



Fonte: O autor, (2023). Própolis verde (A), própolis marrom esverdeado (B) e própolis marrom (C), produzidas no mesmo apiário em abril de 2021.

Em 2021, o mercado mundial de própolis foi avaliado em US\$ 636,6 milhões e espera-se que apresente uma taxa de crescimento composto anual de 2,3% entre 2022 e 2028. O aumento da demanda por própolis na indústria farmacêutica e de saúde é um fator significativo impulsionando o crescimento do mercado. A substância também é utilizada em diversos produtos dermatológicos para tratar condições como queimaduras, acne, infecções fúngicas e dermatites em geral (GRAND VIEW RESEARCH, 2022).

2.6.1 Própolis Verde Brasileira

No Brasil, foi apenas na década de 90 que as pesquisas com própolis começaram a avançar em várias direções, incluindo a caracterização das propriedades físico-químicas de própolis de diferentes regiões e suas atividades antimicrobianas, inibidoras de tumores, regeneradoras de tecidos, cicatrizantes, anti-cariogênicas, antiinflamatórias, antioxidantes, hepatoprotetoras, analgésicas, estrogênicas, antiangiogênicas e regeneradoras de cartilagem (MENEZES, H., 2005; ADELMANN J., 2005; SOARES A. E. E., 2012).

A própolis verde é produzida por abelhas que coletam brotos do alecrim do campo (*B. dracunculifolia*) (Figura 5 - A), uma espécie arbustiva invasora de

pastagens encontrada nas regiões Sul, Sudeste e Centro-Oeste do Brasil, especialmente nas áreas de cerrado (PARK, Y. K. *et al.*, 2004).

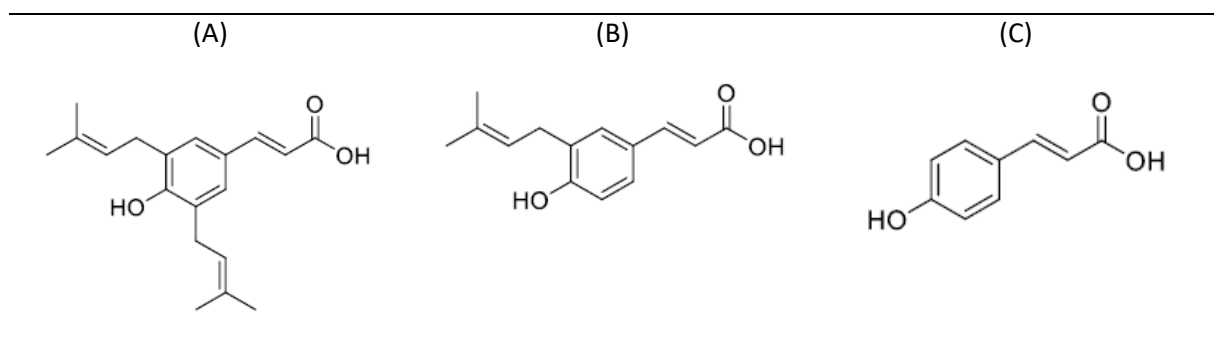
Figura 5. Processo de coleta de resina e produção de própolis verde por abelhas africanizadas.



Fonte: O autor (2023). Abelha coletando broto do alecrim do campo (A), abelha na entrada da colmeia com resina de alecrim do campo depositada na corbícula (B) e abelhas produzindo própolis verde e depositando no coletor “tira-e-poe”.

A própolis verde brasileira é um dos tipos mais difundidos mundialmente para fins comerciais e é caracterizada pela presença de derivados prenilados bioativos do ácido p-cumárico, como drupanina e *Artepillin C* (Tabela 2), como constituintes majoritários, movimentando milhões de dólares anualmente. (DOREA J. R., 2014; MUNAKATA R. *et al.*, 2019; FERREIRA *et al.*, 2018; NISHIKAWA *et al.*, 2020;).

Tabela 2. Estruturas químicas dos compostos mais representativos da própolis verde brasileira: *Artepillin C* (A), drupanina (B) e ácido p-cumárico (C).



Fonte: Adaptado de TSUDA T. AND KUMAZAWA S. (2021).

As propriedades bioativas da própolis verde têm sido frequentemente atribuídas ao *Artepillin C* (AGA H. *et al.*, 1994; ZHANG C. *et al.*, 2017) e, atualmente, a molécula

tem mostrado propriedades antimicrobianas (AGA H. *et al.*, 1994), anti-inflamatórias (PAULINO N. *et al.*, 2008), antioxidantes (ZHANG C. *et al.*, 2017), antifúngicas (FREIRES, I. *et al.*, 2016; MACHADO B. *et al.*, 2016; SOKOLONSKI A. R. *et al.*, 2021) imunomoduladoras (CHAN G.C. F., 2013) e anticancerígenas em humanos (SHIMIZU, K., 2006).

O Brasil ocupa a posição de segundo maior produtor de própolis do mundo, atrás apenas da China. Aproximadamente 90% da produção de própolis brasileira é exportada para 32 países, em uma ampla gama de produtos, incluindo cápsulas, cosméticos e diversos tipos de extratos personalizados. Os principais destinos desses produtos são Japão e Estados Unidos (BERLATO G., 2023).

3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Prospecção Tecnológica

Para o levantamento bibliográfico acerca da biossíntese de nanopartículas de prata, utilizou-se a plataforma Web of Science, incluindo trabalhos publicados no intervalo de 2012 a 2022. A análise dos dados bibliométricos foi realizada através do software VOSviewer versão 1.6.19 (Copyright © 2023 Centre for Science and Technology Studies, Leiden University, The Netherlands).

Esse software é uma ferramenta especializada na construção e visualização de redes bibliométricas, permitindo o rastreamento de co-ocorrências de termos relevantes extraídos de um conjunto de literatura científica. Com o VOSviewer, foi possível identificar as principais tendências e lacunas na literatura revisada, embasando o desenvolvimento posterior da pesquisa.

A criação de redes bibliométricas com o VOSviewer tem o objetivo de visualizar e analisar padrões e tendências em um conjunto de documentos acadêmicos ou científicos. Essa análise pode revelar informações importantes sobre o campo de estudo, como: (i) Co-autoria: identificar grupos de autores que trabalham em conjunto regularmente e analisar as redes de colaboração científica; (ii) Co-ocorrência de palavras-chave: entender quais conceitos ou tópicos são frequentemente discutidos juntos, o que pode fornecer uma visão geral das tendências de pesquisa em um campo; (iii) Citações: examinar quais documentos são frequentemente citados juntos para entender a estrutura de um campo de pesquisa, identificar trabalhos fundamentais ou influentes e perceber como as ideias fluem através do campo; e por fim (iv) Análise de co-citação: identificar grupos de documentos que são frequentemente citados juntos, o que pode indicar a existência de subcampos ou tópicos de pesquisa específicos.

Essas visualizações podem ajudar pesquisadores a entender melhor o campo de estudo, identificar tendências emergentes, reconhecer lacunas na literatura existente, e determinar possíveis direções para futuras pesquisas.

Baseado nos dados bibliográficos do Web of Science e usando o software Vosviewer foi criado o mapa de interações a partir da análise de co-ocorrência usando todas as palavras chaves e o método de contagem total.

Com o objetivo de conhecer melhor o estado da arte atual da área dos estudos de síntese de NPMs, através da análise bibliométrica, foi proposta duas equações de busca, conforme os parâmetros apresentados na Tabela 3 e Tabela 4.

Tabela 3. Parâmetros de busca dos tipos de síntese de NPMs.

Parâmetros de busca	Dados
Equação de busca	TS= (nano* AND (particles AND (metal*))) AND ("chemical synthesis" OR "chemical-synthesis") OR (physical synthesis*) OR ("biosynthesis" OR "green synthesis"))
Base de dados	Web of Science
Intervalo de tempo	2012 até 2022
Tipo de documentos	Todos
Data da busca	03 de janeiro de 2023
Resultados	348.936

Foram analisadas um total de 873 palavras-chaves, considerando 4 como o número mínimo de ocorrências para cada palavra-chave possibilitando assim uma melhor visualização da interação. Foram selecionadas as 49 com maior número de ocorrências dentre o total de 873. Criou-se o mapa de interações entre os grupos e a análise de clusters para mapear a tendência da evolução tecnológica segundo a literatura dos artigos científicos de 2012 a 2022. O método de distribuição do gráfico empregado foi “LinLog/modularity” proposto por (NEWMAN, 2004; NOACK, 2009).

Foram adicionadas 17 ocorrências no dicionário de sinônimos utilizado e disponibilizado em: https://www.dropbox.com/s/e4ny9cw696grhf/thesaurus_terms%201.txt?dl=0

Tabela 4. Parâmetros de busca para nanopartículas de prata com própolis.

Parâmetros de busca	Dados
Equação de busca	TS= (nano* AND “propolis”)
Base de dados	Web of Science
Intervalo de tempo	Todos
Tipo de documentos	Todos
Data da busca	03 de março de 2023

Foram analisadas um total de 2436 palavras-chaves, considerando 10 como o número de mínimo de ocorrências para cada palavra-chave, possibilitando assim uma melhor visualização da interação. Foram selecionadas as 59 com maior número de ocorrências dentre o do total de 2436. Criou o mapa de interações entre os grupos e plotou-se a análise de clusters para mapear a tendência da evolução tecnológica segundo a literatura dos artigos científicos de 2012 a 2022. O método de distribuição do gráfico empregado foi “LinLog/modularity” proposto por (NEWMAN, 2004; NOACK, 2009).

3.2 Reagentes e Materiais

O extrato de própolis verde (EPV) utilizado nesta pesquisa foi fornecido pela empresa Real Própolis, com extração de própolis verde em apiário localizado no município de Itaúna/MG, altitude de 915 metros, solo do tipo argiloso, de baixa a moderada fertilidade natural, com maior aproveitamento na pecuária. Formação aparecendo na maioria das vezes em associação (podzólico e latossolo vermelho-amarelo). Pela classificação de Köppen, o clima é do tipo Cwa - Tropical de Altitude, com verões quentes.

As características deste extrato incluem: extração em álcool de cereais 70%, com um teor de extrato seco de 15%, flavonoides totais de 8,5 mg/mL (equivalente a 0,6% segundo o método do cloreto de alumínio), e compostos fenólicos correspondendo a 10,6% do total.

Para síntese das nanopartículas de prata com extrato de própolis verde foram usados nitrato de prata PA (Synth, Brasil), extrato de própolis verde (Real Própolis, Brasil), e hidróxido de sódio (Vetec, Brasil).

Para a preparação da solução de nitrato de prata, foram utilizados 0,0424 gramas de nitrato de prata (AgNO_3) dissolvidos em 250 mL de água destilada, o que resulta em uma concentração aproximada de 1 M considerando a massa molar de AgNO_3 como 169,87 g/mol.

A solução de AgNO_3 foi preparada da seguinte forma:

$$0,0424 \text{ g de } \text{AgNO}_3 * (1 \text{ mol} / 169,87 \text{ g}) = 0,00025 \text{ mol}$$

$$0,00025 \text{ mol} / 0,250 \text{ L} = 0,001 \text{ M, ou } 1 \text{ mM}$$

A solução de extrato de própolis verde (EPV) foi preparada de acordo com as seguintes diluições:

(i) Para a obtenção de uma concentração de 240 µg/mL (correspondendo a 250 µM), a quantidade necessária de EPV foi calculada usando a fórmula:

$$C_1V_1 = C_2V_2$$

Onde C₁ é a concentração inicial de EPV (assumindo 1000 µg/mL para uma solução 1:1), V₁ é o volume necessário para diluição, C₂ é a concentração final de 240 µg/mL e V₂ é o volume final de 100 mL.

$$V_1 = (C_2V_2) / C_1 = (240 \mu\text{g/mL} * 100 \text{ mL}) / 1000 \mu\text{g/mL} = 0,024 \text{ L ou } 24 \text{ mL}$$

Portanto, 24 mL de EPV foram diluídos com água destilada até um volume final de 100 mL.

(ii) De maneira similar, para a obtenção de uma concentração de 480 µg/mL (correspondendo a 500 µM), 48 mL de EPV foram diluídos com água destilada até um volume final de 100 mL.

As soluções foram agitadas a duas velocidades diferentes, 500 e 1500 rpm.

3.3 Biossíntese de AgNPs

As nanopartículas de prata (AgNPs) foram preparadas seguindo uma metodologia de biossíntese, conforme descrito na literatura em AHMAD N. *et al.*, (2011). Utilizou-se o extrato de própolis como agente estabilizante e redutor, preparado conforme descrito na seção 3.2.

A solução reagente, composta por nitrato de prata (AgNO₃), foi preparada de acordo com as concentrações estabelecidas na seção 3.2. Ajustou-se o pH da solução para 10,6 utilizando NaOH 0,1 M (ROY N. *et al.*, 2010) e um medidor de pH (TecnoPON mPA210, Brasil). Este ajuste de pH é uma etapa essencial para a oxidação dos flavonoides presentes no extrato de própolis. A oxidação desses compostos libera elétrons que são fundamentais para a redução do íon prata, dando origem à formação de AgNPs.

A mistura foi agitada usando um agitador mecânico de hélice, com controle de rotações por minuto (RPM), cuja velocidade foi definida conforme a necessidade do experimento. Foi adicionado AgNO₃, resultando em uma solução final de 250 e 500 µM de nitrato de prata, dependendo da amostra em questão. A solução foi agitada por

10 minutos e, em seguida, a suspensão coloidal foi reservada e mantida protegida da luz. Todo o experimento foi realizado à temperatura de $30 \pm 2^\circ\text{C}$.

3.4 Planejamento fatorial

De acordo com Cunico e colaboradores (2008), um planejamento fatorial é fundamental para determinar quais fatores possuem efeitos relevantes na resposta. Ele também permite verificar se o efeito de um fator varia com os níveis dos outros, possibilitando assim estabelecer e quantificar as correlações entre eles.

Para otimizar as condições de síntese de AgNP-mPV, baseadas principalmente no tamanho das nanopartículas, utilizou-se um planejamento fatorial do tipo 2^3 . Este tipo de planejamento engloba três variáveis com dois níveis cada, ou seja, duas variações para cada variável - uma considerada como nível baixo (-1) e a outra como nível alto (+1).

As variáveis escolhidas para este estudo foram: concentração de AgNO_3 (M), velocidade de agitação (rpm) e concentração de EPV ($\mu\text{g.mL}^{-1}$). Os dois diferentes níveis para cada uma dessas variáveis estão detalhados na Tabela 5.

Tabela 5. Variáveis do planejamento fatorial 2^3 .

	Nível (-1)	Nível (+1)
[AgNO_3]	250 μM	500 μM
Agitação	500 rpm	1500 rpm
[EPV]	240 $\mu\text{g.mL}^{-1}$	480 $\mu\text{g.mL}^{-1}$

Um planejamento fatorial 2^3 é uma matriz que possibilita a avaliação do efeito de três variáveis independentes em uma variável dependente. Neste estudo, as variáveis independentes são a concentração de AgNO_3 ([AgNO_3]), a agitação e a concentração de EPV ([EPV]), enquanto a variável dependente é o tamanho da partícula. Considerando os dois níveis distintos para cada uma dessas três variáveis, conforme descrito na Tabela 5, foram estabelecidas oito combinações possíveis, que são listadas na Tabela 6.

Tabela 6. Matriz de planejamento fatorial 2³.

Modelos	[AgNO ₃] (μM)	Agitação (rpm)	[EPV] ($\mu\text{g.mL}^{-1}$)
1	250	500	240
2	500	500	240
3	250	1500	240
4	500	1500	240
5	250	500	480
6	500	500	480
7	250	1500	480
8	500	1500	480

3.5 Caracterização das nanopartículas

3.5.1 Análise visual e tamanho de partícula

Há diferentes métodos para verificar a formação das AgNPs. A observação da mudança de coloração da solução coloidal é o passo preliminar para identificar as características do nanossistema. Desta forma, a alteração na cor da solução pode indicar certas características, como o estado de agregação, tamanho e possíveis oxidações das nanopartículas (SHARMA *et. al.*, 2012).

As cores podem variar entre o incolor, amarelo, laranja, marrom, violeta e cinza. Na literatura já existem estudos que associam coloração da solução coloidal e o grau de associação das AgNPs. Está estabelecido que amarela indica a formação de poucas ou ausentes agregações entre as nanopartículas de prata e seu meio dispersivo, enquanto a cor cinza demonstra o maior estado de agregação (MELO JR. *et al.*, 2012).

As análises de tamanho de partícula foram conduzidas utilizando o método de Espalhamento Dinâmico de Luz (Dynamic Light Scattering - DLS), com auxílio de um Zetasizer (Pro ZS, Malvern Instruments).

O método de DLS, também conhecido como Quicis, é uma técnica analítica poderosa que se baseia na difusão Browniana para medir o tamanho de partículas em suspensão ou emulsão. Essa técnica permite a determinação do diâmetro hidrodinâmico das partículas por meio da análise da intensidade do espalhamento de luz causada pelo movimento dessas partículas. Esta técnica é amplamente utilizada

na caracterização de nanopartículas, devido à sua capacidade de fornecer informações precisas e reprodutíveis sobre o tamanho, distribuição de tamanho e potencial zeta das partículas (SANDHU R. *et al.*, 2018).

3.5.2 Análise do espectro UV-Vis

A espectrofotometria no ultravioleta-visível (UV-Vis) é uma técnica amplamente utilizada para a caracterização de nanopartículas de prata. Esse método é eficaz devido à capacidade desses materiais de absorver luz em um comprimento de onda específico, que corresponde à suas bandas de Ressonância de Plásmon de Superfície (SPR). Essa propriedade fornece informações sobre o formato e a estabilidade das nanopartículas.

O comprimento de onda específico da banda de SPR para nanopartículas de prata pode variar dependendo do tamanho, forma e do ambiente local em torno das partículas. No entanto, geralmente a banda de SPR da prata ocorre na faixa de 400 a 500 nm, correspondendo à região visível do espectro de luz. Neste estudo, um espectrofotômetro UV-Vis (Shimadzu UV2600) foi utilizado para observar a absorvância em comprimentos de onda que variam de 200 a 600 nm nos dias 0, 1, 3, 8, 10 e 15 após a síntese, a fim de avaliar a estabilidade do material sintetizado.

3.5.3 Potencial Zeta

Potencial Zeta (PZ), também conhecido como potencial de superfície, é um termo utilizado em coloides e físico-química para descrever o potencial elétrico existente na superfície de uma partícula suspensa em um líquido. Quando uma partícula coloidal é suspensa em um líquido, ocorre uma diferença de potencial elétrico entre a superfície da partícula e o líquido circundante, que é causada pela adsorção de íons na superfície da partícula. O PZ é a medida dessa diferença de potencial elétrico entre a superfície da partícula e o líquido circundante (BHATTACHARJEE, S., 2016; DUTTA *et al.*, 2017).

Este potencial é crítico para compreender a estabilidade da suspensão coloidal, pois valores de PZ elevados indicam que as partículas se repelirão, evitando a aglomeração e, portanto, mantendo a suspensão estável.

O equipamento Zetasizer Pro (Malvern) foi utilizado para medir o potencial PZ das amostras nos dias 0 e 8 após a síntese. Estes dias foram selecionados com o objetivo de avaliar a estabilidade inicial das nanopartículas e observar qualquer possível alteração no PZ após uma semana, o que poderia indicar mudanças na

estabilidade da suspensão coloidal. As partículas foram armazenadas em condições adequadas para garantir a confiabilidade das medições.

3.6 Avaliação da atividade antifúngica

O teste de difusão em ágar foi realizado na Faculdade de Odontologia da UFMG, para avaliar a eficácia dos AgNP-mPV na inibição do crescimento do fungo *C. albicans*.

Antes dos experimentos, a amostra de fungo foi revitalizada em caldo Sabouroud a 36°C por 18 horas. A suscetibilidade antifúngica foi avaliada de acordo com o método de disco-difusão. Inicialmente, 50 µL de *C. albicans* foram adicionados a uma placa de Petri contendo ágar Sabouraud e espalhados de maneira uniforme com uma alça de platina.

Em seguida, quatro discos estéreis de papel de filtro (6 mm Ø) foram colocados na placa. Dois discos foram embebidos com 20 µL da solução contendo os AgNP-mPV e os outros dois foram embebidos com com 20 µL de Clorexidina a 2%. Após um período de repouso de 15 minutos para permitir a difusão do material, as placas foram incubadas em uma estufa microbiológica (Laborglas) a 36°C durante 24 horas.

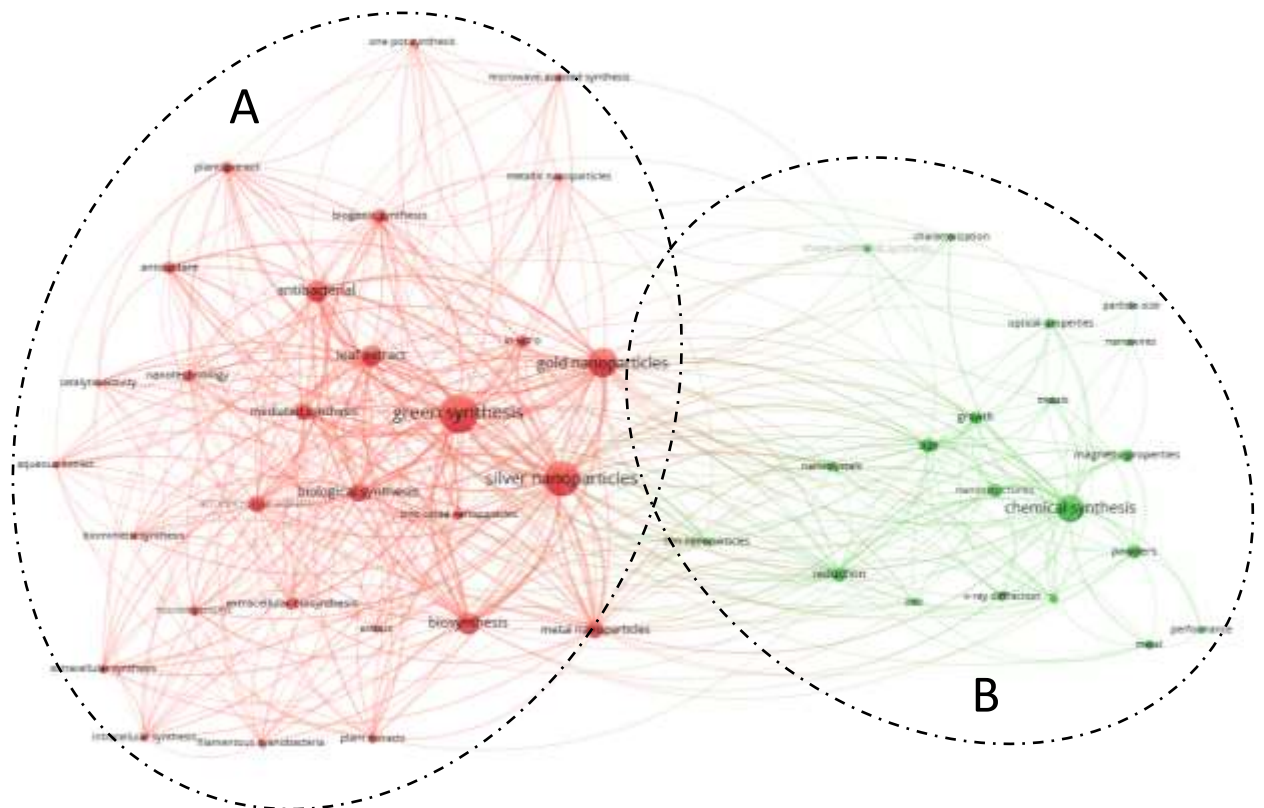
Os halos de inibição foram medidos após a incubação, sendo considerados como indicativos de atividade inibitória aqueles com diâmetro ≥ 6 mm. A solução de Clorexidina 2% v/v foi usada como testemunha, devido ao seu reconhecido efeito antifúngico.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Prospecção Tecnológica

A base de dados Web of Science é amplamente utilizada para pesquisas por diversas razões, algumas das quais incluem: cobertura multidisciplinar; reputação e credibilidade; indexação seletiva; ferramentas de análise e métricas; e conexões com outras bases de dados. Em resumo, a Web of Science é uma base de dados ampla, respeitada e bem estabelecida, que oferece uma variedade de ferramentas e recursos úteis para a comunidade científica. A Web of Science foi escolhida devido ao equilíbrio entre o número de artigos fornecidos e a qualidade deles.

Figura 6. Rede bibliométrica e ocorrência da literatura para síntese de nanopartículas metálicas, para todo tipo de documento entre os anos de 2012 a 2022.



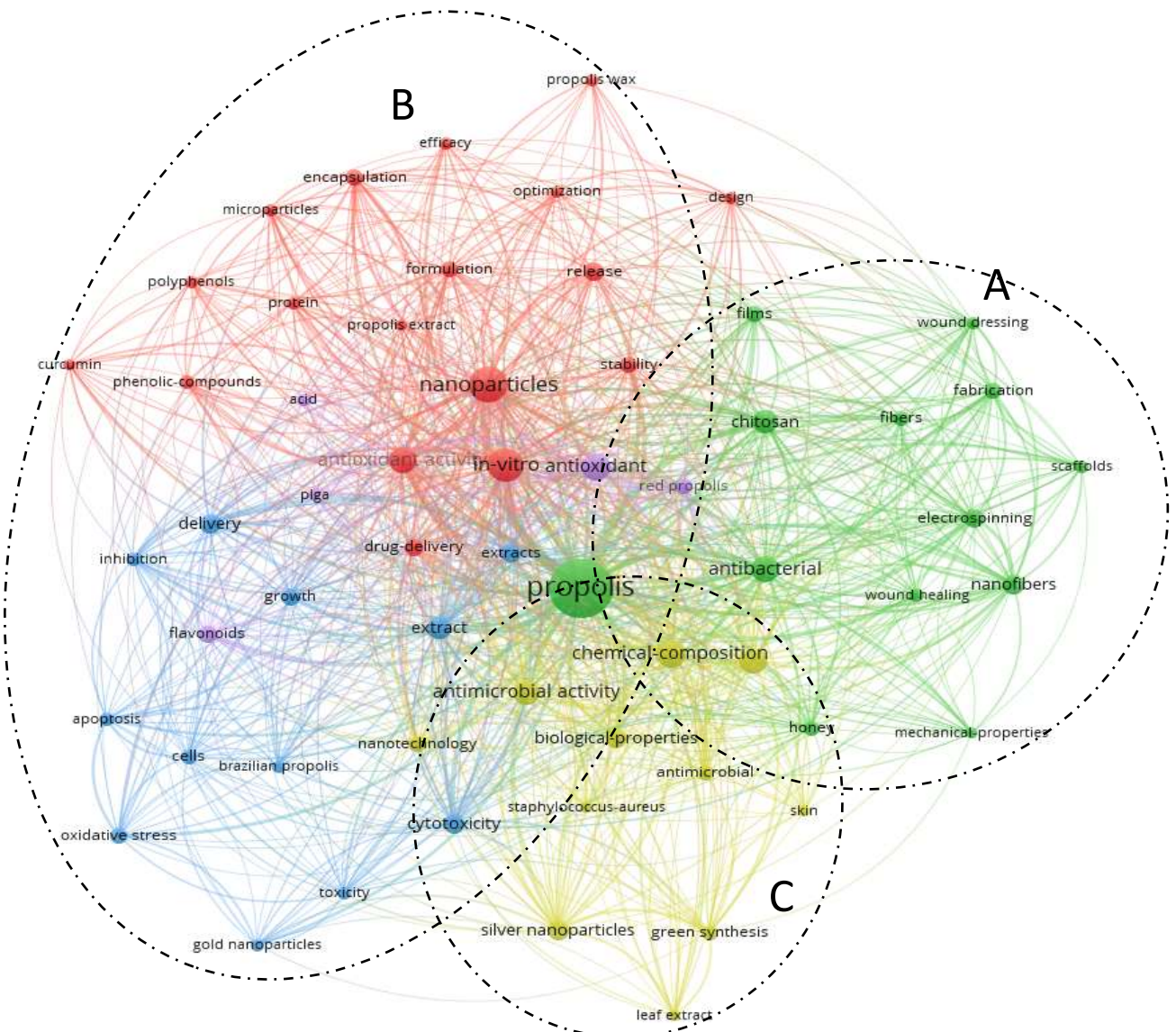
Fonte: O autor (2023).

Ao analisar a Figura 6, verifica-se a formação de dois grupos principais denominados A e B. No grupo A, em vermelho, está a biossíntese ou biossíntese de nanopartículas representadas pelas palavras-chave "green synthesis", "biosynthesis" e "biological synthesis" na figura 6. Em destaque, representando as nanopartículas

Os nós representados na Figura 7 são coloridos de acordo com o ano de maior número de ocorrências, variando do azul ao amarelo em uma escala temporal que vai de 2012 a 2022.

A Figura 8 apresenta os artigos agrupados da literatura na área de biossíntese que empregam nanopartículas de prata com própolis, conforme os parâmetros de busca da Tabela 4.

Figura 8. Rede bibliométrica e ocorrência da literatura para as palavras “nano” e “própolis”, para todo tipo de documento entre os anos de 2012 a 2022.



Fonte: O autor, (2023).

O agrupamento destacado com um círculo pontilhado em vermelho é considerado o mais relevante atualmente, englobando os temas de maior ocorrência

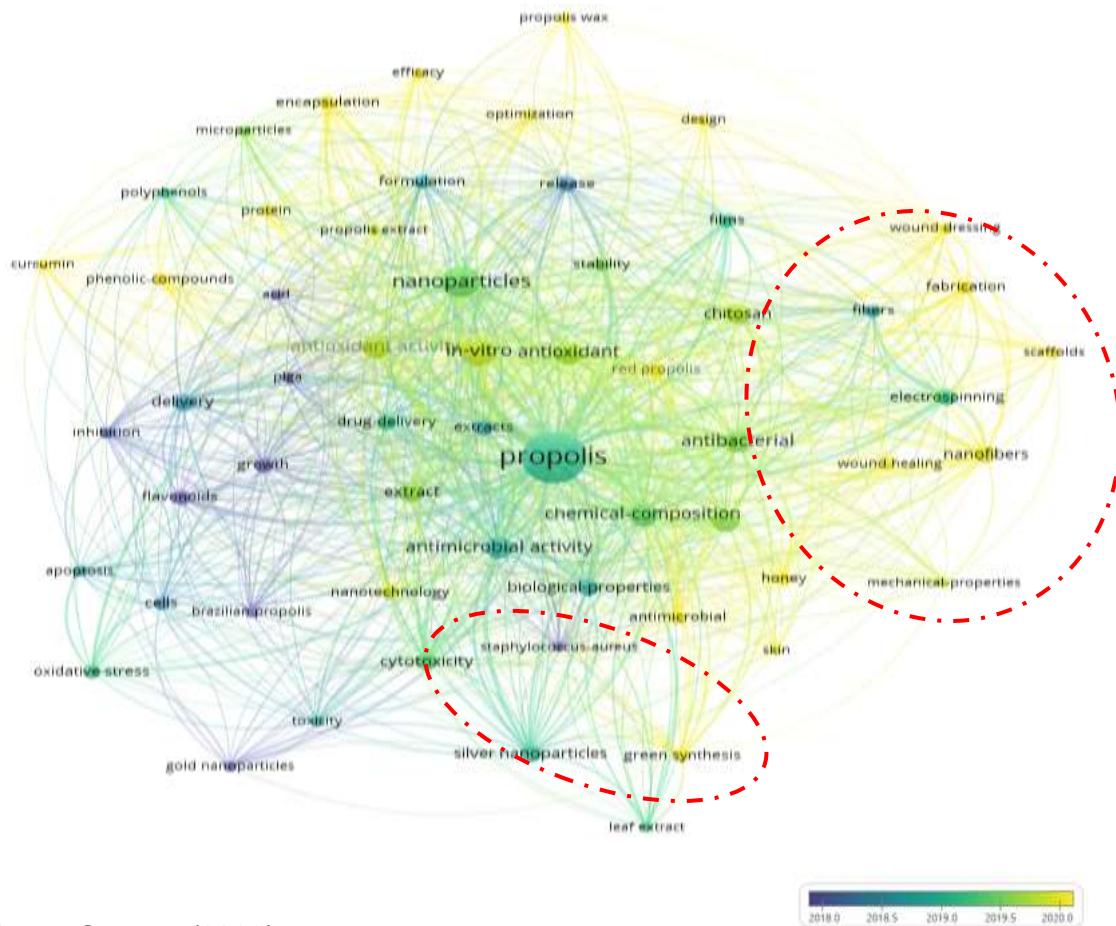
na literatura científica. Dentre os materiais mencionados nessa literatura, o uso de extratos vegetais para a biossíntese de AgNPs surge como uma das abordagens mais promissoras, com o foco nas pesquisas nessa área aumentando significativamente nos últimos anos (ABDELGHANY T.M., et al., 2018). Isso inclui estudos sobre suas atividades antibacteriana e antioxidante.

Ao analisar a Figura 8, identifica-se a formação de três clusters, denominados A, B e C. O cluster A, em azul, engloba estudos sobre curativos de feridas com própolis. Essa é uma área que tem recebido grande interesse entre os pesquisadores de NPMs, uma vez que esses curativos oferecem uma série de características atraentes, como menor toxicidade, alta relação superfície-volume e excepcional durabilidade (BAYRAMI, M. et al., 2020; LU Z. et al., 2019).

O cluster B, representado em vermelho e verde, engloba estudos relativos à atividade antimicrobiana e antioxidante de própolis em nanopartículas metálicas e nanopartículas de ouro modificadas com própolis. Avanços recentes apontam que as espécies reativas de oxigênio (ROSs) exercem um papel significativo nos sistemas biológicos, podendo prevenir a proliferação bacteriana e estimular a cicatrização de feridas ao promover adesão e migração celular por meio de vias mediadas por fatores de crescimento (BAYRAMI A. et al., 2019; BAYRAMI M. et al., 2020).

No cluster C, em amarelo e lilás, são destacadas a atividade antibacteriana e a capacidade de encapsulação da própolis em AgNPs. Vale ressaltar que a atividade bactericida das nanopartículas de prata (AgNPs) contra bactérias gram-positivas e gram-negativas, como *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli*, foi documentada extensivamente por diversos pesquisadores. Isso sugere que essas nanopartículas podem representar uma alternativa terapêutica eficaz contra bactérias resistentes a múltiplos medicamentos (CORCIOVA, A. et al. 2019; LU Z. et al., 2019).

Figura 9. Rede bibliométrica e ocorrência da literatura para nanopartículas e própolis com escala de cor, segundo o ano de publicação para todo tipo de documento.



Fonte: O autor, (2023).

Os nós apresentados na Figura 9 estão coloridos de acordo com o ano de maior número de ocorrências, variando do azul ao amarelo em escala de tempo, 2018 (ou anteriores) a 2020 (ou posteriores) respectivamente.

O agrupamento destacado em vermelho é considerado o mais relevante atualmente, sendo os temas que possuem uma presença mais forte na literatura científica. Entre os materiais mencionados na literatura científica, a aplicação de nanopartículas de prata em curativos de está entre as mais promissoras e o seu foco nas pesquisas aumentou nos últimos anos (ABDELGHANY, *et al.*, 2018; BAYRAMI, M. *et al.*, 2020), assim como a utilização de própolis como agente encapsulante na biossíntese de NPMs (BARSOLA, B. *et al.*, 2022). Detalhes adicionais sobre a metodologia utilizada para realizar o mapeamento podem ser encontrados no *Apêndice A*.

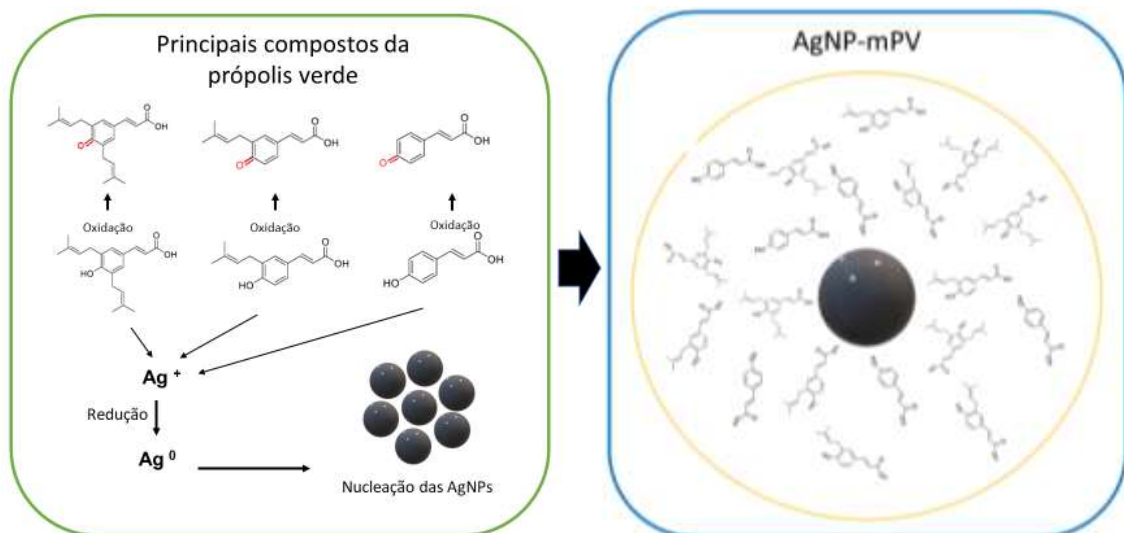
4.2 Biossíntese de AgNPs-mPV

A biossíntese de nanopartículas de prata usando própolis verde segue a abordagem "bottom-up". Nas abordagens "bottom-up", os materiais são construídos a partir de componentes moleculares ou atômicos através de processos de auto-organização e autodirecionamento. Nesse caso, a própolis (ou componentes específicos dentro dela) atua como agente redutor e estabilizador, reduzindo os íons de prata para formar nanopartículas de prata.

Isso contrasta com a abordagem "top-down", onde os materiais são fabricados por métodos como litografia, moagem ou abrasão, que envolvem a remoção de material para criar a estrutura desejada. Esse método é comumente utilizado em processos de fabricação em larga escala, mas não é tão comum na biossíntese de nanopartículas. Portanto, a síntese de nanopartículas de prata usando própolis seria mais corretamente classificada como uma abordagem "bottom-up".

A biossíntese de nanopartículas de prata utilizando própolis verde abrange principalmente três etapas fundamentais: a redução do íon prata (Ag^+), a nucleação e a subsequente formação da nanopartícula de prata (Ag^0), conforme mostrado na Figura 10.

Figura 10. Processo ilustrativo para formação de AgNP-mPV.



Fonte: O autor, (2023).

Inicialmente, os flavonoides presentes no extrato de própolis verde agem como agentes redutores, convertendo os íons prata (Ag^+) em átomos de prata (Ag^0). Esta etapa é seguida pelo processo de nucleação, onde os átomos de prata reduzidos

começam a se aglomerar formando pequenos núcleos. Esses núcleos então crescem, agregando mais átomos de prata, culminando na formação das nanopartículas de prata. A presença de própolis verde atua ainda como um agente estabilizante, impedindo a aglomeração excessiva e contribuindo para o controle do tamanho e da morfologia das nanopartículas formadas. A oxidação dos flavonoides presentes na própolis é a chave para a redução do íon prata.

Na presença de um meio alcalino (ajustado a pH 10,6 neste caso), os flavonoides na própolis verde se oxidam, liberando elétrons. Estes elétrons são então doados para os íons prata, levando à redução do Ag^+ a Ag^0 , formando assim as nanopartículas de prata.

Além disso, os flavonoides e outros compostos bioativos na própolis verde também atuam como estabilizadores, prevenindo a aglomeração das nanopartículas de prata formadas e auxiliando na obtenção de uma dispersão estável de nanopartículas de prata.

É importante notar que a eficiência deste processo e as características das nanopartículas de prata resultantes (como tamanho, forma, estabilidade, etc.) podem ser influenciadas por vários parâmetros, incluindo a concentração e qualidade da própolis verde, a temperatura, o pH, a taxa de agitação, e a concentração do nitrato de prata.

4.3 Caracterização das nanopartículas

As AgNPs-mPV são classificadas como nanoestruturas de dimensão zero. A classificação dimensional se refere ao número de dimensões em escala nanométrica (< 100 nm) que a estrutura possui, sendo assim, as AgNPs-mPV são geralmente consideradas estruturas de dimensão zero, pois todas as suas três dimensões estão na escala de nanômetros. Essa classificação destaca as propriedades únicas dessas estruturas em comparação com estruturas maiores.

Por exemplo, materiais de dimensão zero como nanopartículas geralmente exibem propriedades ópticas, elétricas e magnéticas únicas devido aos efeitos de confinamento quântico, onde a restrição de elétrons dentro de uma região tão pequena altera significativamente seu comportamento.

4.3.1 Análise Visual e Tamanho de Partícula

A biossíntese das nanopartículas de prata (AgNPs) foi monitorada ao longo do processo de agitação por meio da observação da mudança de cor da solução reacional. A coloração inicial incolor da mistura transmutou para um tom de marrom-castanho (Figura 11) para todas as amostras do presente estudo em, perceptível segundos após a adição do extrato de própolis verde (EPV) sob agitação. Esta alteração cromática é um indicativo de redução da prata, em conformidade com estudos anteriores (CORCIOVA A. *et al.*, 2019; MELO JR. *et al.*, 2012).

Além disso, a análise do tamanho das partículas, que é essencial para compreender o seu comportamento e aplicabilidade, foi realizada. Os resultados obtidos estão apresentados na Tabela 7 e na Figura 9.

Figura 11. Cor da solução após a biossíntese das AgNP-mPV.



Fonte: O autor, (2023).

Pode-se inferir que o tamanho e a distribuição das nanopartículas de prata são estritamente dependentes da concentração de Ag^0 na solução ao longo do tempo, que por sua vez é influenciada pela quantidade de precursor de metal utilizado e pela taxa de redução do Ag^+ . O uso excessivo do precursor metálico geralmente resulta na formação de NPs maiores (SANGAR S., *et al.*, 2019). Por outro lado, uma taxa de reação inicial alta pode permitir a formação de NPs menores.

Tabela 7. Planejamento fatorial com resposta obtida através do Diâmetro Médio de Partícula e Percentual por DLS.

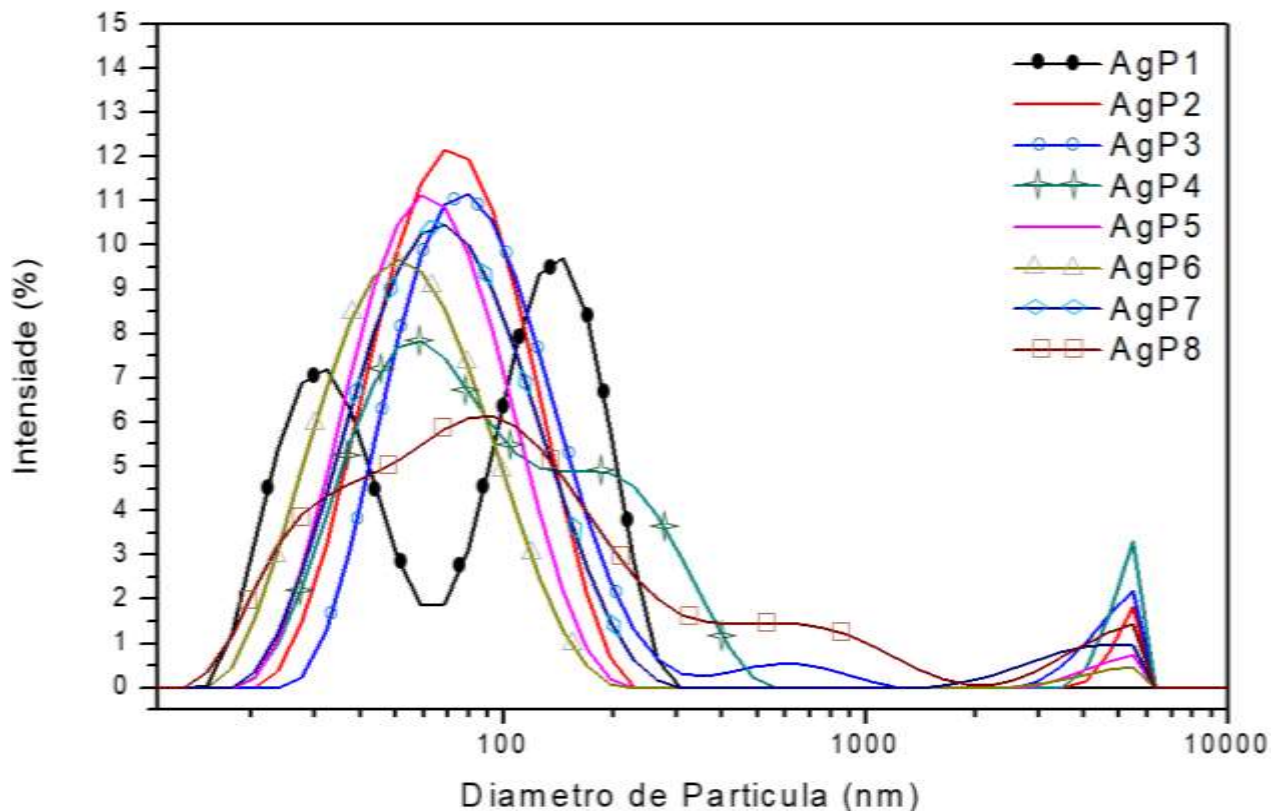
Amostras	[AgNO ₃] (μ M)	Agitação (rpm)	[EPV] (μ g.mL ⁻¹)	Diâmetro médio de Partícula (nm)	Percentual de ocorrência (%)
AgP1	250	500	240	*32,3 / 146,1	7,19 / 9,71
AgP2	500	500	240	68,69	12,15
AgP3	250	1500	240	79,88	11,18
AgP4	500	1500	240	59,07	7,82
AgP5	250	500	480	59,07	11,12
AgP6	500	500	480	50,79	9,69
AgP7	250	1500	480	68,69	10,47
AgP8	500	1500	480	92,89	6,13

*Amostra AgP1 apresentou dois picos na distribuição de intensidade conforme mostrado na Figura 12.

Existem pontos importantes a considerar ao interpretar um gráfico de Distribuição de intensidade de luz espalhada em relação ao tamanho de partícula: número de picos, posição dos picos, largura dos picos e altura dos picos.

O número de picos pode indicar a existência de uma ou mais populações de partículas, com múltiplos picos sugerindo diversos tamanhos de partículas ou agregações. A posição dos picos no gráfico revela o tamanho médio das partículas. A largura dos picos é um indicador da dispersão dos tamanhos de partículas, com picos mais amplos sugerindo uma maior variação de tamanho. Finalmente, a altura dos picos, que corresponde à intensidade do espalhamento de luz, reflete a concentração de partículas ou o tamanho das partículas, sendo que picos mais altos indicam maior concentração ou partículas de maior tamanho.

Figura 12. Distribuição de intensidade de luz espalhada em relação ao seu tamanho por DLS das amostras de AgNP-mPV.



Fonte: O autor, (2023).

No eixo X do gráfico encontramos o tamanho das partículas em nanômetros, enquanto no eixo Y, encontramos a intensidade de luz espalhada. Cada pico no gráfico representa uma população de partículas de um determinado tamanho. A altura dos picos indica a intensidade do espalhamento de luz, que é proporcional à concentração e ao diâmetro das partículas.

O gráfico de intensidade em função do diâmetro de partícula indica a distribuição de tamanho das AgNP-mPV nas amostras. É possível notar também que as nanopartículas são polidispersas, ou seja, tem uma ampla distribuição de tamanhos. A maioria das partículas tem tamanhos entre 10 e 100 nm, sendo que a maior intensidade ocorre em torno de 40-50 nm. Além disso, nota-se que há uma diminuição gradual da intensidade conforme as partículas aumentam de tamanho, mas ainda é possível observar algumas partículas maiores com intensidades significativas, principalmente no modelo 1.

Barsola e colaboradores (2022) encontraram tamanho de partícula entre 252 e 530 nm (própolis indiana), diferente de Priyadarshini e coautores (2018) que

encontraram tamanho de partícula entre 9 e 30 nm (também própolis indiana) e um tamanho médio de cerca de 15 nm. Foi relatado também que o tamanho das nanopartículas com extrato de própolis (alcoólico) em pH = 10,62 foi de 50 nm e no mesmo pH para extrato de própolis (aquoso) foi de 20 nm (ROY N. *et al.*, 2010), mostrando diferença nos resultados apenas com a alteração do solvente.

A amostra AgP1 apresenta duas populações distintas de nanopartículas, com um grupo de tamanho menor (em torno de 0.7 nm) e um grupo de tamanho maior (entre 32.3-146.1 nm). A maior intensidade é observada no grupo de tamanho maior, indicando uma maior contribuição dessas partículas para o sinal total do espalhamento de luz. A existência dessas duas populações de nanopartículas pode ter implicações importantes para as propriedades da amostra, dependendo da aplicação específica em vista.

Já a amostra AgP2 apresenta um perfil de distribuição de tamanho bastante diferente da AgP1, com uma única população principal de nanopartículas centrada em torno de 68.69 nm. O fato de que a intensidade diminui para tamanhos de partículas maiores pode ser um indicativo de que a síntese resultou em partículas com um tamanho mais uniforme em comparação com a AgP1.

Observa-se também que AgP4 apresentou maior intensidade de dispersão em tamanhos menores que 20 nm e entre 23 e 68 nm. Já a amostra AgP3 apresentou maior intensidade de dispersão em tamanhos entre 92 e 229 nm. Na amostra AgP7, a maior intensidade ocorre em uma partícula de tamanho 20 nm, com intensidade de 10,40%. Já na amostra AgP8, a maior intensidade ocorre em uma partícula de tamanho 68 nm, com intensidade de 10,47%.

A maioria das partículas de AgP5 está na faixa de 2,482 nm a 79,88 nm e o tamanho médio das partículas pode ser estimado como sendo em torno de 15 nm, como em Priyadarshini e coautores (2018). Na amostra AgP6, a maioria das partículas está na faixa de 0,6381 nm a 50,79 nm e o tamanho médio das partículas em torno de 4,5 nm. Nota-se também que há uma pequena quantidade de partículas maiores que 50,79 nm.

Por fim, com tamanhos centrados em torno de 92.89 nm para AgP8 e 68.69 nm para AgP7, ambas apresentam uma única população principal de nanopartículas. O fato de que a intensidade diminui para tamanhos de partículas maiores sugere que a síntese resultou em partículas de tamanho bastante uniforme nessas amostras. Além disso, a presença de um segundo pico em tamanhos maiores, embora com

intensidade muito menor, sugere que existem algumas nanopartículas ou agregados maiores presentes.

4.3.2 Análise do espectro UV-visível

No que diz respeito à avaliação dos espectros UV-Vis de AgNPs-mPV, as amostras apresentaram picos de absorbância entre 338nm e 345nm. Esses valores são menores do que os relatados por Al-Fakeh, M. e colaboradores (2021) em um estudo com AgNPs formadas a partir de extrato aquoso de própolis saudita, onde observaram um pico de absorbância em 437nm. Outros estudos obtiveram um pico em 440 nm (KUMAR et al., 2014). Esses dados indicam uma diminuição no tamanho das AgNPs-mPV em comparação com os resultados de estudos anteriores.

A análise da Figura 13 mostra a formação de dois grupos distintos, portanto, pode ser atribuída à sedimentação e possíveis reações do nitrato de prata no meio, que podem ser influenciadas pelas condições de agitação e exposição de potencial. As amostras que apresentam picos de absorbância mais altos e mudança de comprimento de onda para um valor menor (AgP1, AgP2, AgP5 e AgP6) podem ter experimentado uma aglomeração mais significativa ou crescimento das partículas, possivelmente devido à maior concentração de AgNO_3 e/ou maior EPV.

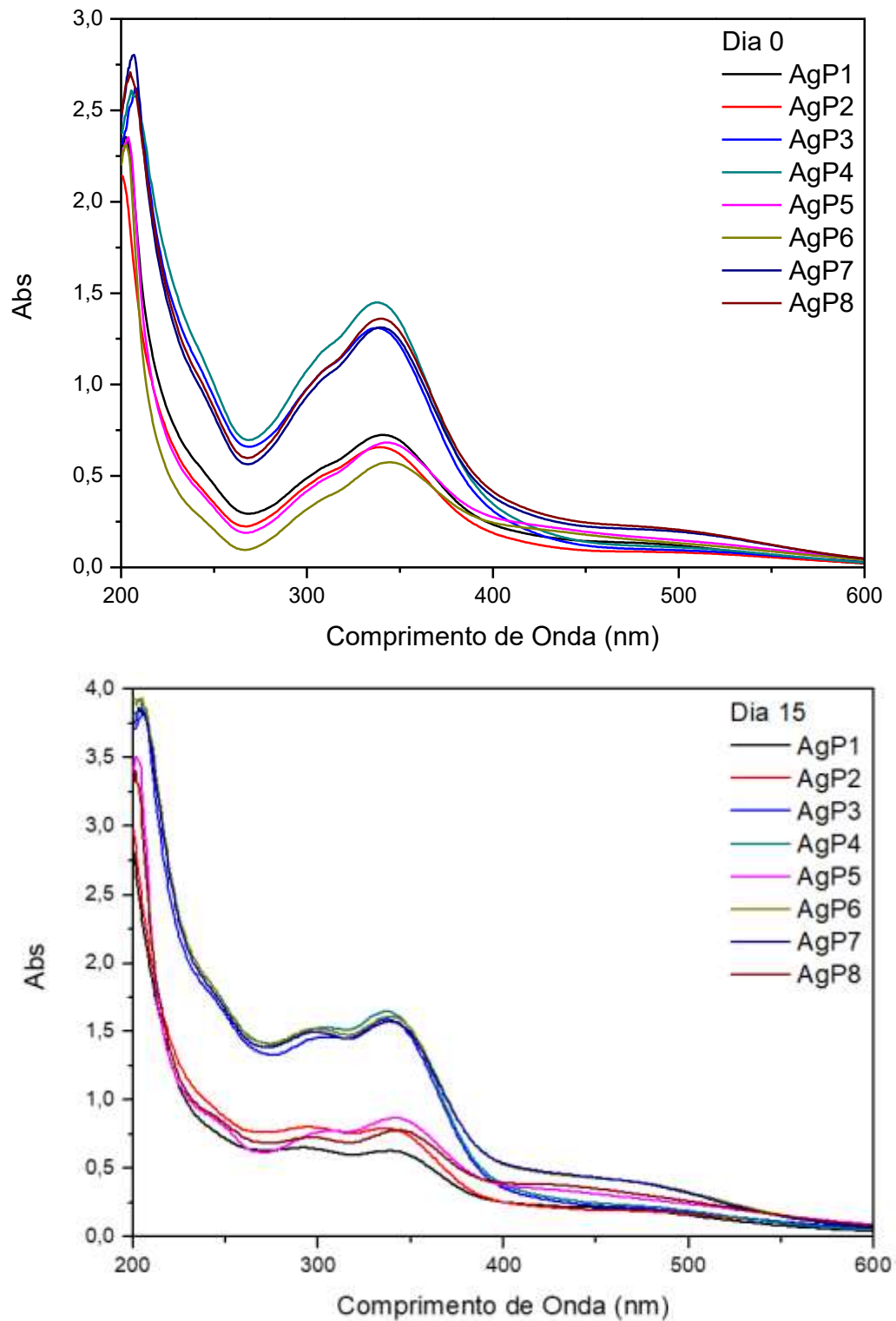
Assim, enquanto o nitrato de prata é necessário para a formação das nanopartículas de prata, seu comportamento (incluindo a sedimentação) e a resposta das partículas às condições experimentais podem ser responsáveis pela observação dos dois grandes grupos. Um estudo mais detalhado dos processos cinéticos e da dinâmica de aglomeração poderia fornecer insights mais aprofundados.

Por outro lado, um deslocamento da banda em um espectro UV-Vis de nanopartículas de prata pode indicar uma alteração na geometria, no tamanho ou no ambiente das partículas. Por exemplo, um deslocamento para comprimentos de onda mais longos pode sugerir um aumento no tamanho médio das nanopartículas, enquanto um deslocamento para comprimentos de onda mais curtos pode sugerir uma diminuição no tamanho médio das nanopartículas.

Além disso, uma mudança na posição da banda SPR também pode ser provocada pela interação das nanopartículas com moléculas na solução, como os compostos fenólicos e flavonoides da própolis verde. Essa interação pode alterar a polarizabilidade da superfície das nanopartículas e, conseqüentemente, a posição da banda SPR. Os valores de absorção da SPR variam consideravelmente em nanopartículas esféricas. Alguns autores relataram absorção em torno de 405 nm

utilizando citrato de sódio (SUN, Y. AND XIA, Y., 2003) e 425 nm com o uso da planta *Desmodium triflorum* (AHMAD N. et al., 2011).

Figura 13. Espectros UV-Vis de AgNP-mPV nos dias 0 e 15.



Fonte: O autor, (2023).

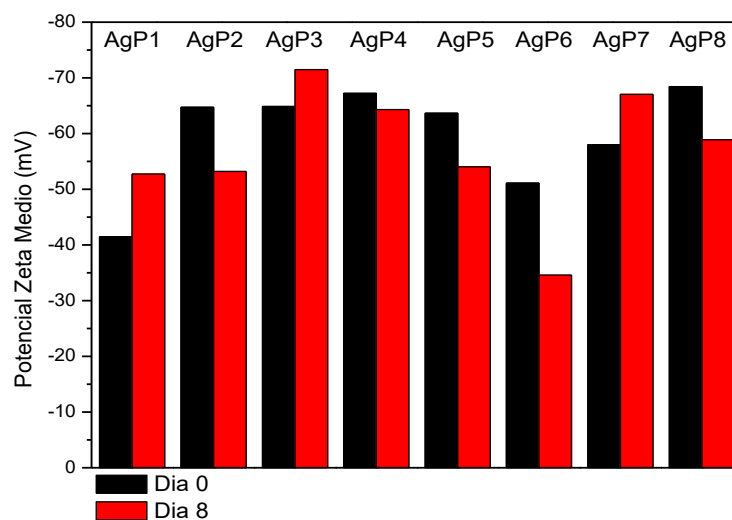
Nanopartículas de prata formadas com própolis indianas da região de Khanpur (ROY N. *et al.*, 2010) e da região de Tamilhadu (JAYANTHI; KOTHAI, 2014), observou-se banda de SPR nos comprimentos de onda de 421 e 413 nm, bem próximo ao pico em 412 nm que Barbosa V.T. e colaboradores (2019) relatam para AgNPs formadas com extrato de própolis vermelha brasileira. De acordo com Mokhtari *et al.* (2009), baixos comprimentos de onda, como 412 nm, sugerem a formação de menores nanopartículas de prata.

Em relação a outros formatos, Pal, Tak e Song (2007) observaram que as nanopartículas de prata triangulares apresentavam absorção em duas regiões (418 e 514 nm), enquanto as nanopartículas em formato de prato triangular apresentavam absorção em 770 nm.

4.3.3 Determinação do Potencial Zeta

O Potencial Zeta (PZ) desempenha um papel crucial na estabilidade de nanopartículas coloidais em suspensão. Um PZ alto resulta na repulsão mútua das partículas, mantendo a suspensão estável e prevenindo a aglomeração das nanopartículas. Por outro lado, um PZ baixo favorece a atração entre partículas, podendo causar aglomeração de nanopartículas e instabilidade da suspensão (BHATTACHARJEE, S., 2016; DUTTA *et al.*, 2017).

Figura 14. Potencial Zeta médio no dia inicial (d0) e no oitavo dia (d8).



Fonte: O autor, (2023).

Ao revestir as AgNPs com compostos fenólicos e flavonoides presentes no extrato de própolis verde, obteve-se um PZ médio negativo, variando de -41 a -68 mV, conforme indicado na Figura 14. Esse resultado implica uma alta estabilidade da suspensão coloidal de nanopartículas, com a superfície negativamente carregada das AgNPs prevenindo a agregação de partículas por repulsão interpartículas (CORCIOVA A. et al., 2019).

Um estudo conduzido por Barsola, B. e Kumari, P. (2022) analisou nanopartículas de prata sintetizadas com extrato de própolis indiano e registrou um PZ negativo de -21,36 mV para as AgNPs. Em outra investigação, Belteky, P. et al. (2019) compararam nanopartículas de prata sintetizadas com extrato de chá verde com aquelas estabilizadas com citrato. As nanopartículas estabilizadas com extrato de chá verde exibiram um potencial zeta aproximadamente 8,5 mV menor do que as estabilizadas com citrato (-27,8 mV), proporcionando maior estabilidade em soluções contendo diversas concentrações de NaCl, glicose, glutamina, componentes de cultura celular e sob diferentes valores de pH.

Surpreendentemente, Suresh, A. et al. (2012) relataram que AgNPs não revestidas sintetizadas exibiram um potencial zeta de -42,5 mV em água deionizada. Este resultado, considerado suficiente para a estabilização das NPs por meio do mecanismo eletrostático, foi atribuído à adsorção de íons de nitrato na superfície das NPs.

4.4 Atividade antifúngica

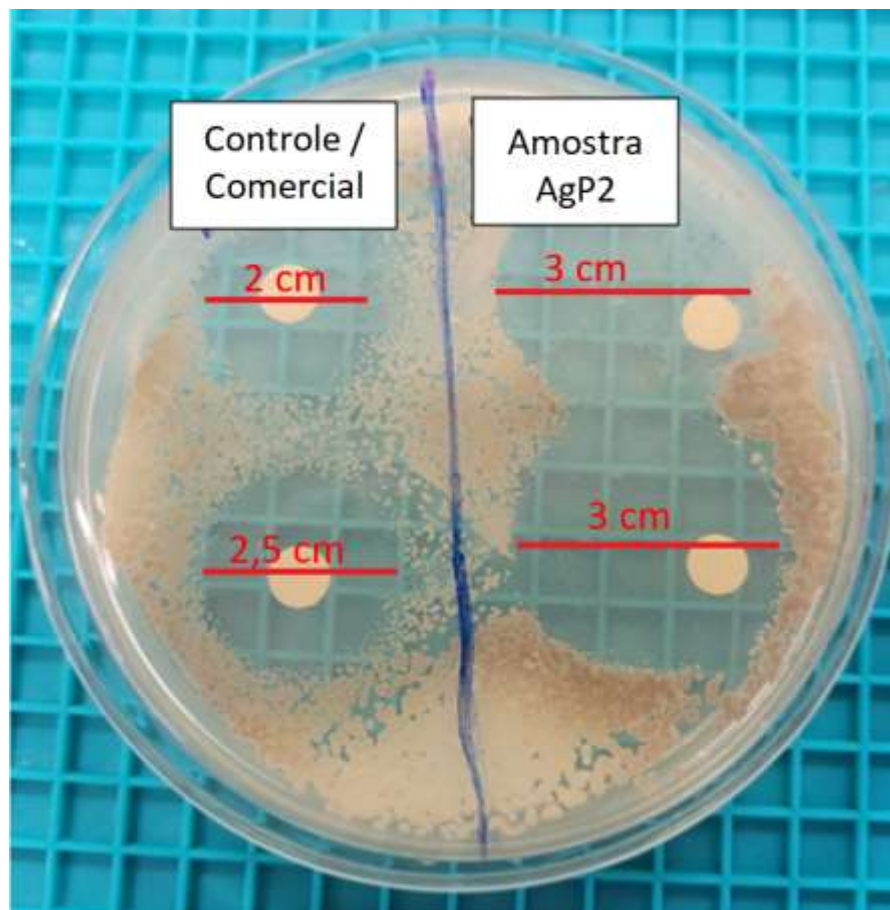
Na análise dos resultados obtidos, observou-se que os discos de papel de filtro embebidos com as AgNP-mPV apresentaram halos de inibição do crescimento do fungo *C. albicans* com diâmetros de 3,0 cm cada, enquanto os discos de controle, embebidos com clorexidina 2% v/v, apresentaram halos de 2,0 e 2,5 cm de diâmetro. As áreas de inibição foram calculadas utilizando a fórmula da área de um círculo (πr^2), considerando que o raio é a metade do diâmetro.

Portanto, as áreas de inibição para os halos gerados pela AgNP-mPV foram de 7,07 cm² (com diâmetro de 3 cm, o raio é 1,5 cm; então a área é $\pi*(1,5 \text{ cm})^2$). Para os discos de controle, as áreas de inibição foram de 3,14 cm² e 4,91 cm² (com diâmetros de 2 cm e 2,5 cm, os raios são 1 cm e 1,25 cm, respectivamente; então as áreas são $\pi*(1 \text{ cm})^2$ e $\pi*(1,25 \text{ cm})^2$).

Esses resultados sugerem que as nanopartículas de AgNP-mPV apresentam um efeito antifúngico mais potente contra *C. albicans* do que a clorexidina, conforme evidenciado pelas maiores áreas de inibição do crescimento fúngico. Essa maior eficácia antifúngica das AgNP-mPV pode ser atribuída às suas propriedades nanométricas que permitem uma maior interação com as células do fungo.

Os resultados corroboram a literatura que aponta a atividade antifúngica de nanopartículas de prata e seus nanocompósitos (MALKAPUR, D. *et al.* 2017; PRYSHCHEPA *et al.*, 2020). O desempenho superior das AgNP-mPV em comparação com a clorexidina indica seu potencial para ser usado como uma alternativa no controle de infecções por *C. albicans*.

Figura 15. Estudo In vitro da capacidade antifúngica de de AgNP-mPV.



Fonte: Do autor, 2023.

5 CONCLUSÕES

As amostras de extrato de própolis verde de Itaúna demonstraram uma capacidade notável de produzir nanopartículas de prata. A habilidade redutora da própolis verde parece estar associada à sua qualidade e, correlativamente, à quantidade de compostos fenólicos e flavonoides. Este estudo sugere que os principais constituintes químicos, como o *Artepillin C*, a *drupanina* e o ácido *p-cumárico*, desempenham um papel crucial no processo de redução da prata e parecem ser eficazes no revestimento das AgNPs, resultando em alta estabilidade das nanopartículas coloidais em suspensão.

As AgNP-mVP mostraram capacidade de eliminar de forma eficiente fungos *C. albicans* em estudos in vitro, indicando potencial como um novo agente antifúngico. Entretanto, mais estudos com foco na avaliação de isolados clínicos totalmente caracterizados devem ser realizados, para melhor entender as implicações práticas e o possível papel das AgNPs-mVP como um novo agente antifúngico.

É importante ressaltar que os estudos sobre o uso do extrato de própolis para a síntese de nanopartículas de prata ainda estão em estágio inicial. Mais pesquisas são necessárias para entender completamente o potencial dessa abordagem, para avaliar a toxicidade e a segurança das nanopartículas resultantes, assim como sua aplicação em novas áreas, como na engenharia de tecidos e em curativos de feridas.

As aplicações de AgNP-mPV em curativos inteligentes são bastante promissoras, visto que essa abordagem combina as propriedades antimicrobianas das nanopartículas de prata com as diversas propriedades da própolis verde e com a capacidade dos curativos de responderem dinamicamente ao ambiente da ferida, apresentando potencial de revolucionar o tratamento de feridas, melhorando a cicatrização e reduzindo o risco de infecção.

À medida que a pesquisa avança, espera-se que o desenvolvimento de curativos inteligentes com nanopartículas de prata modificadas se torne mais eficiente e acessível, permitindo sua implementação em uma variedade de contextos clínicos. Além disso, a incorporação de AgNP-mPV em curativos inteligentes pode abrir caminho para novas aplicações, como a liberação controlada de medicamentos e a monitoração em tempo real das condições da ferida. Essa combinação de propriedades terapêuticas e tecnológicas tem o potencial de transformar significativamente o campo do tratamento de feridas, melhorando a qualidade de vida dos pacientes e otimizando os resultados clínicos

REFERÊNCIAS

- ABDELGHANY, T. M. *et al.* Recent Advances in Green Synthesis of Silver Nanoparticles and Their Applications: About Future Directions. A Review. *BioNanoSci.* v.1, n.8, p. 5-16, 2018.
- ADELMANN, J. Própolis: variabilidade composicional, correlação com a flora e bioatividade antimicrobiana/antioxidante. *Dissertação de Mestrado*, Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal do Paraná, 167 páginas, 2005.
- AGA, H. *et al.* Isolation and identification of antimicrobial compounds in Brazilian propolis. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, v.58, p.945–946, 1994.
- AHN, M.R. *et al.* Correlation between antiangiogenic activity and antioxidant activity of various components from propolis. *Molecular Nutrition & Food Research*, v.53, n5, p.643-651, 2009.
- AHMAD, M. B., *et al.* Synthesis and antibacterial activity of silver/montmorillonite nanocomposites. *Res J Biol Sci.* v.4, n.9, p.1032–36, 2009.
- AHMAD, N. *et al.* Biosynthesis of Silver Nanoparticles from *Desmodium triflorum*: A Novel Approach Towards Weed Utilization. *Biotechnology Research International*, v. 2011, p. 1-8, 2011.
- ALDAY, E. *et al.* Advances in Pharmacological Activities and Chemical Composition of Propolis Produced in Americas. *Beekeeping and Bee Conservation - Advances in Research*, p. 99-151, 2016.
- AL-FAKEH, M. *et al.* Biosynthesis and characterization of Saudi propolis-mediated silver nanoparticles and their biological properties. *Open Physics*, v.19, n.1, 753-57, 2021.
- BANKOVA, V. Chemical diversity of propolis and the problem of standardization. *J Ethnopharmacol*, v.100, n.1–2, p.114–117, 2005.
- BANKOVA, V. Recent trends and important developments in propolis research. *Evidence-based complementary and alternative medicine: eCAM*, v.2, n.1, p.29–32, 2005.
- BANKOVA, V., DE CASTRO, S. L. AND MARCUCCI, M.C. Propolis: recent advances in chemistry and plant origin. *Apidologie*, v.31, n.1, p.3–15, 2000.
- BANKOVA, V. *et al.* Standard methods for *Apis mellifera* propolis research. *J. Apic. Res.*, v.58, p.1–49, 2019.
- BANSKOTA, A. H. *et al.* Chemical constituents of Brazilian propolis and their cytotoxic activities. *J. Nat. Prod.*, v.61, n.7, p.896–900, 1998.
- BARBOSA, V. T. *et al.* Biogenic synthesis of silver nanoparticles using Brazilian propolis. *Biotechnology Progress*, v. 35, n.6, p.1-9, 2019.

BARSOLA, B. AND KUMARI, P. Green synthesis of nano-propolis and nanoparticles (Se and Ag) from ethanolic extract of propolis, their biochemical characterization: A review. *Green Processing and Synthesis*, v. 11, n. 1, p. 659-673, 2022.

BHATTACHARJEE, S. DLS and zeta potential - What they are and what they are not? *Journal of Controlled Release*, v.235, p.337-51, 2016.

BAYRAMI, A. *et al.* A facile ultrasonic-aided biosynthesis of ZnO nanoparticles using *Vaccinium arctostaphylos* L. leaf extract and its antidiabetic, anti-bacterial, and oxidative activity evaluation. *Ultrason. Sonochem.*, v.55, p.57–66, 2019.

BAYRAMI, M. *et al.* Biologically-synthesised ZnO/CuO/Ag nanocomposite using propolis extract and coated on the gauze for wound healing applications. *IET Nanobiotechnology*, v.14, n.7, p.548-54, 2020.

BERLATO, G. Brazil seeks global standard to expand propolis exports. TrendsCE, 2023. Acesso eletrônico em: <https://www.trendsce.com.br/en/2023/01/23/brazil-seeks-global-standard-to-expand-propolis-exports/>

BISWAS, A. *et al.* Advances in top–down and bottom–up surface nanofabrication: techniques, applications & future prospects. *Adv Colloid Interface Sci.* v.170, p.2–27, 2012.

BRUSCHI, M. L., PEREIRA, R. R. A. AND FRANCISCO, L. M. B. The Use of Propolis in MicroNanostructured Pharmaceutical Formulations. *Recent Patents on Drug Delivery & Formulation*, v.10, n. 2, p.130-140, 2016.

BURDOCK, G. A. Review of the biological properties and toxicity of bee propolis (propolis). *Food and Chemical Toxicology*, v.36, p.347-363, 1998.

BZYLINSKA, U. *et al.* Engineering of phosphatidylcholine-based solid lipid nanocarriers for flavonoids delivery. *Colloids and Surface A. Physicochem Eng Aspects.*, v.460, p.483–493, 2014.

CASTALDO, S. AND CAPASSO, F. Propolis, an old remedy used in modern medicine. *Fitoterapia*, v.73, n.1, p. S1–S6, 2002.

CHAN, G. C.-F., CHEUNG, K.-W. & SZE, D. M.-Y. The immunomodulatory and anticancer properties of propolis. *Clin. Rev. Allergy Immunol.*, v.44, p.262–273, 2013.

CHERNOUSOVA, S. AND EPPLE, M. Silver as antibacterial agent: Ion, nanoparticle, and metal. *Angewandte Chemie International Edition*, v.52, n.6, p.1636-1653, 2013.

CORCIOVA, A. *et al.* Antioxidant, antimicrobial and photocatalytic activities of silver nanoparticles obtained by bee propolis extract assisted biosynthesis. *Farmacia*, v.67, n.3, p.482–9, 2019

CRAUSTE-MANCIET, S. *et al.* Lipid spherulites: formulation optimisation by paired optical and cryoelectron microscopy. *Eur J Pharm Biopharm.*, v.85, p.1088–1094, 2013.

CUESTA-RUBIO, O., PICCINELLI, A. L. AND RASTRELLI, L. Tropical propolis: recent advances in chemical components and botanical origin. *Medicinal plants: Biodiversity and drugs*, v.1, n.1, p. 209–240, 2012.

CUNICO, M. W. M. *et al.* Planejamento fatorial: uma ferramenta estatística valiosa para a definição de parâmetros experimentais empregados na pesquisa científica. *Visão Acadêmica*, v.9, n.1, 2008.

MALKAPUR, D. *et al.* Biogenic synthesis, characterization and antifungal activity of gum kondagogu-silver nano bio composite construct: assessment of its mode of action. *IET Nanobiotechnol.*, v.11; n.7, p. 866–73, 2017.

DHAT, S. *et al.* Risk management and statistical multivariate analysis approach for design and optimization of satranidazole nanoparticles. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, v.96, p.273-283, 2017.

DO NASCIMENTO, T.G. *et al.* Polymeric Nanoparticles of Brazilian Red Propolis Extract: Preparation, Characterization, Antioxidant and Leishmanicidal Activity. *Nanoscale Res Lett.*, v.11, p.301, 2016.

DOREA, J. R. Boletim – O mercado da própolis. Agronegócio - *SEBRAE*. 2014

DUTTA, P. P. *et al.* Antimalarial silver and gold nanoparticles: Green synthesis, characterization and in vitro study. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, v.91, p.567–80, 2017.

ELSUPIKHE, R.F. *et al.* Green sonochemical synthesis of silver nanoparticles at varying concentrations of κ-carrageenan. *Nanoscale Res Lett.* v.10, n.1, p.302, 2015.

FAN, X. AND ZHENG, Y.: Biosynthesis of eco-friendly and recyclable Pd/LDHs catalyst using the withered leaves extract for Suzuki coupling reaction. *IET Nanobiotechnology*, v.14, n.1, p.59–65, 2020.

FERREIRA, J. M. AND NEGRI, G. Composição química e atividade biológica das própolis brasileiras: verde e vermelha. *ACTA Apicola Brasilica*, v. 6, n. 1, p. 6-15, 2018.

FREIRES, I. A. *et al.* Chemical composition and antifungal potential of Brazilian propolis against *Candida* spp. *J Mycol Med.*, v.26, p.122–32, 2016.

GANAI, S. U., TASNEEM, A. AND ABBASI, S. A. Green synthesis of silver nanoparticles using an otherwise worthless weed mimosa (*mimosa pudica*): feasibility and process development toward shape/size control. *Particulate Science and Technology: An International Journal*, v.33, n.6, p.638-644, 2015.

GARCIA, M. A. Surface plasmons in metallic nanoparticles: fundamentals and applications. *J. Phys. D: Appl. Phys.*, v.44, p.1–20, 2011.

GHISALBERTI, E. L. Propolis; A review. *Bee World*, v.60, p.59-84, 1979.

GIMÉNEZ, V. M. M. *et al.* Synthesis, physicochemical characterization and biological activity of anandamide/εpolycaprolactone nanoparticles obtained by electrospraying. *IET Nanobiotechnology*, v.14, n.1, p.86–93, 2020.

GRAND VIEW RESEARCH. Propolis Market Size, Share & Trends Analysis Report By Product Type (Capsules and Tablets, Liquids), By Distribution Channel (Retail Store, Online), By Region (North America, Europe, APAC, CSA, MEA), And Segment Forecasts, 2022 – 2028, Report ID: GVR-4-68039-932-4, p. 1-80, 2022.

GURUNATHAN, S. *et al.* Comparative assessment of the apoptotic potential of silver nanoparticles synthesized by *Bacillus tequilensis* and *Calocybe indica* in MDA-MB-231 human breast cancer cells: Targeting p53 for anticancer therapy. *International Journal of Nanomedicine*, v.10, n.1, p.4203–4222, 2015.

GUZMÁN, M.G., DILLE, J., GODET, S. Synthesis of silver nanoparticles by chemical reduction method and their antibacterial activity. *Int J Chem Biomol Eng.* v.2, n.3, p.104–11, 2009.

HADINOTO, K. *et al.* Lipid–polymer hybrid nanoparticles as a new generation therapeutic delivery platform: a review. *Eur J Pharm Biopharm.*, v.85, p.427–443, 2013.

HASAN, K. M. F. *et al.* Green synthesis of nanosilver using *Fomes fomentarius* mushroom extract over aramid fabrics with improved coloration effects. *Textile Research Journal.* v.92, n.19-20, p.3567-3578, 2022.

HUANG, T. AND XU, X-H.N. Synthesis and characterization of tunable rainbow colored colloidal silver nanoparticles using single-nanoparticle plasmonic microscopy and spectroscopy. *J Mater Chem.* v.20, p.9867–9876, 2010

HUANG, P. *et al.* Folic acid conjugated graphene oxide loaded with photosensitizers for targeting photodynamic therapy. *Teranostics*, v.1, p.240–250, 2011.

HUANG, S. *et al.* Recent advances in the chemical composition of propolis. *Molecules*, v.19, n. 12, p.19610-19632, 2014.

HUANG, Y. *et al.* Recent developments in food packaging based on nanomaterials. *Nanomaterials*, v.8, n.10, p.830-859, 2018.

IMARC IMPACTFUL INSIGHTS. Silver Nanoparticles Market: Global Industry Trends, Share, Size, Growth, Opportunity and Forecast 2022-2027. *Market Research Report.* Report ID: SR112023A5002, 2022.

KABA, S. I. AND EGOROVA, E. M. In vitro studies of the toxic effects of silver nanoparticles on HeLa and U937 cells. *Nanotechnol. Sci. Appl.*, v.8, p.19–29, 2015.

KAGITHOJU, S., GODISHALA, V. AND NANNA, R. S. Eco-friendly and green synthesis of silver nanoparticles using leaf extract of *Strychnos potatorum* Linn. F. and their bactericidal activities. *Biotech.* v.5, n.5, p. 709–14, 2015.

KANG, W. J. *et al.* Ultrafine Ag nanoparticles as active catalyst for electrocatalytic hydrogen production. *ChemCatChem*, v. 11, p. 5976-5981, 2019.

KOGAN, M.J., *et al.* Peptides and metallic nanoparticles for biomedical applications. *Nanomedicine*. v.2, n.3, p.287–306, 2007.

KUMAR, N. AND KUMBHAT, S. Introduction. Essentials in Nanoscience and Nanotechnology, p.1-28, 2016.

LEE, K. S. AND EL-SAYED, M. A. Gold and Silver Nanoparticles in Sensing and Imaging: Sensitivity of Plasmon Response to Size, Shape, and Metal Composition. *Journal of Physical Chemistry B*, v.110, n.39, p. 19220-25, 2006.

LEELA, A. AND VIVEKANANDAN, M. Tapping the unexploited plant resources for the synthesis of silver nanoparticles. *African Journal of Biotechnology*, v. 7, n. 17, p. 3162-3165, 2008.

LIMA, M. G. A Produção de Própolis no Brasil. Livro, v.1, n.1, p. 93-94, 2006.

LU, Z. *et al.* Enhanced anti-bacterial and wound healing activities of microporous chitosan-Ag/ZnO composite dressing. *Carbohydr. Polym.*, v.156, p.460–69, 2017.

MACHADO, B. A. S. *et al.* Chemical composition and biological activity of extracts obtained by supercritical extraction and Ethanolic extraction of Brown, green and red Propolis derived from different geographic regions in Brazil. *PLoS One*, v.11, e0145954, 2016.

MARCUCCI, M. C. Propolis: chemical composition, biological properties and therapeutic activity. *Apidologie*. v.26, n.2, p.83-99, 1995.

MARTINELLO, M. AND MUTINELLI, F. Antioxidant Activity in Bee Products: A Review. *Antioxidants (Basel)*, v.10, n.1, p.71, 2021.

MENEZES, H. Própolis: uma revisão dos recentes estudos de suas propriedades farmacológicas. *Arq. Inst. Biol.*, v.72, n.3, p.405-11, 2005.

MISAR, S. N., ANSARI, M. H. AND BHALERAO, K. R. Quality by Design: A Paradigm for Industry. *International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research*, v.28; n.1; p.67-74; 2014.

MOCANU, A. *et al.* Bacterial cellulose films with ZnO nanoparticles and propolis extracts: Synergistic antimicrobial effect. *Scientific Reports*, v.9, n.17687, 2019.

MODY, V. V. *et al.* Introduction to metallic nanoparticles. *J Pharm Bioallied Sci*. v.2, n.4, p.282–89, 2010.

MOORES, A. AND GOETTMANN, F. The plasmon band in noble metal nanoparticles: an introduction to theory and applications. *New J. Chem.*, v.30, p.1121–32, 2006.

MUNAKATA, R. *et al.* Isolation of *Artemisia capillaris* membrane-bound diprenyltransferase for phenylpropanoids and redesign of artemillin C in yeast. *Commun Biol.*, v.2, n.384, 2019.

NARENDAR, S. AND GOPALAKRISHNAN, S. Nonlocal scale effects on ultrasonic wave characteristics of nanorods. *Physica E: Low-dimensional Systems and Nanostructures*, v.42, n.5, p.1601–04, 2010.

NISAR, A. *et al.* Green Fabrication of Silver Nanoparticles using *Euphorbia serpens* Kunth Aqueous Extract, Their Characterization, and Investigation of Its In Vitro Antioxidative, Antimicrobial, Insecticidal, and Cytotoxic Activities. *BioMed Research International*, vol. 2022, Article ID 5562849, 11 pages, 2022.

NISHIKAWA, S. *et al.* Artemillin C, a key component of brazilian propolis, induces thermogenesis in inguinal white adipose tissue of mice through a creatine-metabolism-related thermogenic pathway. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v.68, p.1007-1014, 2020.

OLEKSANDRA, P. *et al.* Silver nanoparticles: Synthesis, investigation techniques, and properties. *Advances in Colloid and Interface Science*, v.284, p.102-146, 2020.

PARK, Y. K. *et al.* Classification of Brazilian propolis by physicochemical method and biological activity. *Mensagem Doce*, v.58, p.2–7, 2000.

PARK, Y. K. *et al.* Chemical Constituents in *Baccharis dracunculifolia* as the Main Botanical Origin of Southeastern Brazilian Propolis. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 52, p. 1100-1103, 2004.

PARK, Y. K. *et al.* Classificação das própolis brasileira a partir de suas características físico-químicas e propriedades biológicas. *Mensagem Doce*, v.58, n.9, p.2-7, 2000.

PAULINO, N. *et al.* Anti-inflammatory effects of a bioavailable compound, artemillin C, in Brazilian propolis. *Eur. J. Pharmacol.*, v.587, p.296–301, 2008.

PEREIRA, A. S. *et al.* Rapid screening of polar compounds in Brazilian propolis by high-temperature high-resolution gas chromatography-mass spectrometry. *J. Agric. Food Chem.*, v.48, n.11, p.5226–5230, 2000.

PEREIRA, A. S. *et al.* Própolis: 100 anos de pesquisa e suas perspectivas futuras. *Química Nova*, v. 25, p.321-326, 2002.

PFEIFFER, P. M. *et al.* Biosynthesis of Silver Nanoparticles Using Seasonal Samples of Sonoran Desert Propolis: Evaluation of Its Antibacterial Activity against Clinical Isolates of Multi-Drug Resistant Bacteria. *Pharmaceutics*. v.14, n.1, p.1853, 2022.

PINAR, T. S. *et al.* Nanotechnology and nano-propolis in animal production and health: an overview. *Italian Journal of Animal Science*, v.17, n.4, p.921-930, 2018.

PRIYADARSHINI, J. F. *et al.* Green synthesis of silver nanoparticles from propolis. *Res J Life Sci Bioinform Pharm Chem Sci.*, v.4, p.23–36, 2018.

PRYSHCHEPA, O. *et al.* Silver nanoparticles: Synthesis, investigation techniques, and properties. *Advances in Colloid and Interface Science*, v. 284, 2020.

ROCO, M. C. Nanotechnology: convergence with modern biology and medicine. *Curr Opin Biotechnol.*, v.4, n.3, p.337–46, 2003.

ROY, A. *et al.* Green synthesis of silver nanoparticles: Biomolecule-nanoparticle organizations targeting antimicrobial activity. *RSC Adv.*, v.9, p.2673–2702, 2019.

ROY, N. *et al.* Biogenic synthesis of Au and Ag nanoparticles by Indian propolis and its constituents. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, v. 76, p. 317–325, 2010.

SALATINO, A. *et al.* Origin and Chemical Variation of Brazilian Propolis. *Evid Based Complement Alternat Med.*, v.2, n.1, p.33-38, 2005.

SANDHU, R. *et al.* Dynamic light scattering (DLS) technique, principle, theoretical considerations and applications. *Nanotechnological and Biochemical Techniques for Assessing the Quality and Safety of Milk and Milk Products*, p.135-137, 2018.

SANGAR, S. *et al.* Biosynthesis of silver nanocrystals, their kinetic profile from nucleation to growth and optical sensing of mercuric ions. *J Clean Prod.*, v.228, p.294–302, 2019.

SFORCIN, J. M. AND BANJOVA, V. Propolis: is there a potential for the development of new drugs? *J. Ethnopharmacol.*, v.133, n.2, p.253–260, 2011.

SHAMELI, K. *et al.* Synthesis and characterization of silver/poly lactide nanocomposites. *Proc World Acad Sci Eng Technol.* v.64, p.28–32, 2010.

SHAMELI, K. *et al.* Antibacterial effect of silver nanoparticles on talc composites. *Res Chem Intermed.*, v.41, n.1, p.1–13, 2015.

SHARMA, P. *et al.* Silver nanoparticle-mediated enhancement in growth and antioxidant status of Brassica juncea. *Appl Biochem Biotechnol.*, v.167, n.8, p.2225–33, 2012.

SHIMAZAWA, M. *et al.* Neuroprotection by brazilian green propolis against in vitro and in vivo ischemic neuronal damage. *Oxford University Press*, v.2, n.2, p.201–207, 2005.

SHIMIZU, K. *et al.* Dietary artemisin C suppresses the formation of aberrant crypt foci induced by azoxymethane in mouse colon. *Cancer Lett.*, v.240, p.135–142, 2006.

SHRIVASTAVA, S. *et al.* Characterization of enhanced antibacterial effects of novel silver nanoparticles. *Nanotechnology.* v.18, n.22, Article ID 225103, 2007.

SIDDIQI, K.S., HUSEN, A. AND RAO, R. A. K. A review on biosynthesis of silver nanoparticles and their biocidal properties. *Journal of Nanobiotechnology*, v.16, n.14, 2018.

SIERRA, J. A. *et al.* Biogenic approaches using citrus extracts for the synthesis of metal nanoparticles: the role of flavonoids in gold reduction and stabilization. *New Journal of Chemistry*, v. 40, n.2, p.1420–1429, 2016.

SIGNORI, A. M. *et al.* Formation of Catalytic Silver Nanoparticles Supported on Branched Polyethyleneimine Derivatives. *Langmuir*, v.26, n.22, p.17772–79, 2010.

SILVA, G. A. Introduction to nanotechnology and its applications to medicine. *Surg Neurol.*, v.61, n.3, 2004.

SILVA, A. R. AND UNALI, G. Controlled silver delivery by silver cellulose nanocomposites prepared by a one-pot green synthesis assisted by microwaves. *Nanotechnology*. v. 22, n. 31, Article ID 315605, 2011.

SPIVAK, M. AND SIMONE-FINSTROM, M. D. Increased resin collection after parasite challenge: a case of self-medication in honey bees? *Plos One*, v.7, n.3, e34601, 2013.

SOARES, A. E. E. Própolis - um novo olhar: do campo ao interior da colméia. *Mensagem Doce*, n.119, Artigo, 2012.

SOKOLONSKI, A. R. *et al.* Activity of antifungal drugs and Brazilian red and green propolis extracted with different methodologies against oral isolates of *Candida* spp. *BMC Complementary Medicine and Therapies*, v.21, p.286-300, 2021.

SUN, X. *et al.* Nanographene oxide for cellular imaging and drug delivery. *Nano Res.*, v.1, p.203–212, 2008.

SUN, Y. AND XIA, Y. Gold and silver nanoparticles: A class of chromophores with colors tunable in the range from 400 to 750 nm. *The Royal Society of Chemistry*, v. 128, p. 686-691, 2003.

SURESH, A. K. *et al.* Cytotoxicity induced by engineered silver nanocrystallites is dependent on surface coatings and cell types. *Langmuir*, v.28, 2727–35, 2012.

TSUDA, T. AND KUMAZAWA, S. Propolis: Chemical Constituents, Plant Origin, and Possible Role in the Prevention and Treatment of Obesity and Diabetes. *J. Agric. Food Chem.*, v.69, p.15484–94, 2021.

TRUSHEVA, B. *et al.* Bioactive constituents of Brazilian red propolis. *eCAM*, v.3, n.2, p.249–254, 2006.

VIJAY, P. *et al.* Screening of cyanobacteria and microalgae for their ability to synthesize silver nanoparticles with antibacterial activity. *Biotechnology Reports*, v.5, p.112–119, 2015.

WILSON, M. B. *et al.* Metabolomics reveals the origins of antimicrobial plant resins collected by honeybees. *Plos One*, v.8, n. 10, e77512, 2013.

WILSON, M. B. *et al.* Regional variation in composition and antimicrobial activity of US propolis against *Paenibacillus* larvae and *Ascosphaera apis*. *Journal of Invertebrate Pathology*, v.124, p.44–50, 2015.

WOISKY, R. G. AND SALATINO, A. Analysis of propolis: some parameters and procedures for chemical quality control. *Journal of Apicultural Research*, v.37, n.2, p.99-105, 1998.

WYSER, Y. *et al.* Outlook and challenges of nanotechnologies for food packaging. *Packaging Technology and Science*, v.29, n.12, p.615–648, 2016.

YANG, P. *et al.* Encapsulated silver nanoparticles can be directly converted to silver nanoshell in the gas phase. *Nano Lett*, v. 15, p. 8397-8401, 2015.

ZHANG, C. *et al.* Identification of free radical scavengers from Brazilian green propolis using off-line HPLC-DPPH assay and LC-MS. *J. Food Sci.*, v.82, p.1602–07, 2017.

ZHANG, J. Z. AND NOGUEZ, C. Plasmonic Optical Properties and Applications of Metal Nanostructures. *Plasmonics*, v. 3, n. 4, p. 127–150, 2008.

ZHANG, X. F. *et al.* Silver nanoparticles: synthesis, characterization, properties, applications, and therapeutic approaches. *International Journal of Molecular Sciences*, v.17, n.9, p.1534-1568, 2016.