

KAMILLE DALECK SPERA

SÍNTESE VERDE DE NANOPARTÍCULAS DE PRATA E ZINCO COM  
EXTRATO DE CAFÉ VERDE: CARACTERIZAÇÃO, ATIVIDADE  
ANTIOXIDANTE, ANTIENVELHECIMENTO E ANTIACNE.

Relatório de Pós-doutorado realizado na Universidade  
Estadual Paulista (UNESP), Faculdade de Ciências e  
Letras, Assis/SP

Supervisor: Profº Drº Regildo Marcio Gonçalves da Silva

## **Relatório Final de Pós-doutorado**

**Título do projeto:** Síntese verde de nanopartículas de prata e zinco com extrato de café verde: caracterização, atividade antioxidante, antienvelhecimento e antiacne

**Grande área:** Ciências Biológicas

**Área:** Biologia Geral

**Subárea:** Etnofarmacologia

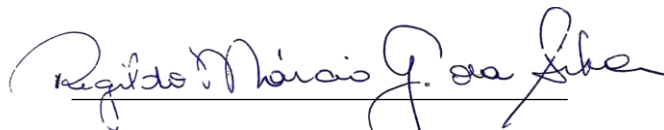
**Local de realização:** Campus de Assis - Departamento de Biotecnologia

**Início do projeto:** 01/11/2024

**Período:** 01/11/2024 até 10/07/2025



Dra. Kamille Daleck Spera  
Pós-doutoranda



Prof. Dr. Regildo Márcio Gonçalves da Silva  
Supervisor

## Justificativa para Finalização Antecipada do Estágio de Pós-Doutorado

A Dra. Kamille Daleck Spera desenvolveu, sob a supervisão do Prof. Dr. Regildo Márcio Gonçalves da Silva, o estágio de pós-doutorado intitulado "**Síntese verde de nanopartículas de prata e zinco com extrato de café verde: caracterização, atividade antioxidante, antienvhecimento e antiacne**", inicialmente previsto para duração de 12 meses, no entanto, a pós-doutoranda solicita a finalização antecipada do referido estágio, com término após 8 meses de atividades, em virtude da necessidade de obtenção do certificado de conclusão para assumir compromissos profissionais que inviabilizarão a continuidade no programa de pós-doutorado atual.

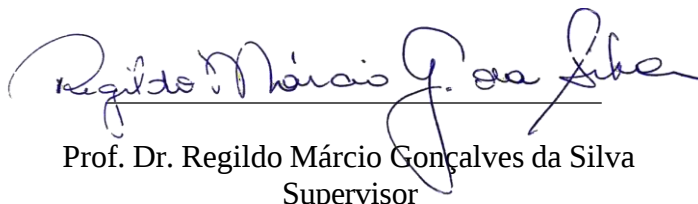
Cabe ressaltar que, conforme as normas vigentes da Universidade Estadual Paulista (UNESP) para estágios de pós-doutorado, é permitido o encerramento e certificação do pós- doutorando após o cumprimento mínimo de 6 meses de atividades. Assim, a solicitação encontra-se em plena consonância com a regulamentação institucional.

Adicionalmente, destacamos que, durante o período realizado, a Dra. Kamille Daleck Spera cumpriu integralmente com as atividades de pesquisa propostas, atingindo os objetivos estabelecidos no plano de trabalho, inclusive a publicação e aceite de artigos científicos e a apresentação e participação em eventos científicos conforme comprovado no Anexo I, o que reforça a pertinência e a legitimidade da finalização antecipada.

Assim sendo, solicitamos a devida tramitação para emissão do certificado de conclusão do estágio de pós-doutorado.



Dra. Kamille Daleck Spera  
Pós-doutoranda



Prof. Dr. Regildo Márcio Gonçalves da Silva  
Supervisor

**Título:** Síntese verde de nanopartículas de prata e zinco com extrato de café verde: caracterização, atividade antioxidante, antienvelhecimento e antiacne.

**Resumo:**

A síntese verde de nanopartículas é uma área que tem sido pauta de diversas pesquisas por aliar a biodiversidade com a biotecnologia, na direção das discussões sobre como aproveitar os recursos ambientais, ao mesmo tempo que minimizamos os danos causados ao meio melhorando as tecnologias já empregas na indústria. As nanopartículas de zinco e prata apresentam potencial de uso na área da nutracêutica, cosmética, ambiental, devido as suas propriedades biológicas já conhecidas, e já apresenta resultados promissores quando em formação com produtos de origem vegetal. O uso do extrato do café verde, já conhecido por suas propriedades antioxidantes, anti-inflamatórias, e antibacteriana, entre outras, além de ser fonte de inúmeros compostos, em destaque o ácido clorogênico, se dá a importância de desenvolver tecnologias para a melhor eficiência/utilização na indústria. Visando isso, o presente trabalho propôs a produção de nanopartículas de prata e zinco a partir de extrato de café verde, a avaliação e caracterização dessas nanopartículas, e avaliação de suas propriedades antioxidantes, antienvelhecimento e antiacne.

**Palavras-chave:** ácido clorogênico, biorredução, metabolitos, nanotecnologia.

## 1 Introdução

A busca por linhas de pesquisa e processos industriais que se pautem nas diretrizes apontadas pelos Objetivos do Desenvolvimento Sustentável (ODS - ONU) vem sendo discutida em âmbito mundial (ONU, 2019). Técnicas inovadoras que utilizem menos recursos ambientais não-renováveis, gerem menos resíduos, não interfiram diretamente no meio ambiente, e que não estejam atreladas a fatores influentes do aquecimento global são fatores imprescindíveis quando se fala em novas tecnologias.

Inúmeras indústrias brasileiras já empregam a utilização da biodiversidade aliada a biotecnologia para atender demandas do mercado nacional e internacional de diferentes vertentes (Torres, 2022). De acordo com levantamento MAPA Biotec, no Brasil já existem mais de 560 empresas de biotecnologia divididas em áreas como: Saúde Humana/Bem-estar, Agricultura, Insumos, Biotecnologia/Saúde Animal, Indústria e Bioprocessos, Meio Ambiente, Biotecnologia de Alimentos e outras (Videira et al., 2019).

A atenção voltada a substituição de matérias prima convencionais por produtos naturais, utilizados como insumos e matérias-primas, desperta grande interesse devido ao seu valor agregado e baixos índices de efeitos colaterais à saúde (Bosso et al., 2023).

A síntese verde está nessa direção, onde são utilizados extratos vegetais com propriedades biológicas para produzir nanopartículas com metais e/ou minerais que tenham aplicabilidade em produtos farmacêuticos, cosméticos, nutracêuticos, alimentícios, agrícolas, aliando desenvolvimento tecnológico e sustentabilidade (Singh et al. 2018). A formação de nanopartículas pelo método de síntese verde é um avanço em comparação com outros métodos porque é facilmente reproduzível, ecológica, biocompatível, de baixo custo, seguros, prontamente disponíveis, e muitas vezes levam a materiais mais estáveis (Mahmoud et al., 2021; Dousari et al., 2023).

No sentido mais amplo, a nanobiotecnologia é a fusão entre a nanotecnologia e a biotecnologia e oferece possibilidades de manipular processos biológicos em escala molecular e atômica afim de obter maior eficácia e menor utilização de recursos naturais no desenvolvimento de um produto (Shahcheraghi et al., 2022). Produtos com potencial antioxidante, e a descoberta e/ou o aprimoramento de técnicas que otimizem o processo, detectem o teor dos compostos, além de ensaios de toxicidade são realizados para garantir esse avanço (Flieger et al., 2021).

Nos últimos anos, pesquisas estão sendo realizadas com nanopartículas (NPs) metálicas, devido a suas características físicas específicas (Wang et al., 2017), incluindo a formação e caracterização de nanopartículas com prata e zinco utilizando material de origem vegetal (Lavanya et al., 2023). A síntese verde pode proporcionar o aumento de atividades biológicas devido ao fato de ser fabricado em um meio de síntese sinérgico (Karthik et al., 2023; Okka et al., 2023).

A avaliação da estabilidade das nanopartículas metálicas obtidas por biorredução com produtos de origem vegetal é importante para verificar a estabilidade do composto de interesse, garantindo *shelf life* do produto final em que será aplicado, ação biológica desejada nos sítios alvo específicos do composto, biocompatibilidade com o organismo e eficiência terapêutica (Kulkarni et al., 2023).

Entre as possíveis ações das nanopartículas metálicas, se destaca a antioxidante, incluindo a adição de extratos vegetais (Samrot et al., 2022), porém compostos antioxidantes de origem exógena se caracterizam por apresentar baixa biodisponibilidade e proporcionar benefícios ao organismo apenas quando aplicados em concentrações relativamente altas (Bešlo et al., 2023). Isso ocorre devido à incapacidade dos antioxidantes de ultrapassarem as membranas celulares, e uma estratégia para melhorar a distribuição específica e a retenção dos antioxidantes no organismo é a utilização da

nanobiotecnologia (Omran e Baek, 2021).

Ainda sobre a nanobiotecnologia e síntese verde de NPs, já são conhecidas as atividades das nanopartículas sintetizadas a partir de grãos de café verde, Wang et al. (2017) desenvolveu nanopartículas de prata, que apresentou atividade antibacteriana contra *E. coli* e *S. aureus*, Mahmoud et al (2021) avaliou nanopartículas de Ferro, e obteve potencial de proteção em células hepáticas em ratos. As nanopartículas também são amplamente utilizadas no meio ambiente para tratamento de água, agindo como agente redutor e estabilizante de corantes orgânicos tóxicos provenientes da indústria em águas (Kordy et al., 2022; Wang et al., 2021).

O Brasil é maior produtor e o segundo maior consumidor de café do mundo (MAP/Brasil, 2023), porém somente cerca de 65% dos grãos são torrados para a forma de bebida, na safra 20/21 foram gerados mais de 15 milhões de toneladas de subprodutos, que podem ter outro destino de utilização, inclusive, como matéria prima, na produção de extratos com finalidade industrial (Silva et al 2023).

Um ponto relevante é que durante o processamento dos grãos de café, quanto mais a intensidade da torra aumenta maior destruição dos compostos fenólicos, o que diminui sua capacidade antioxidante (Sualeh et al 2020). Esse fato, tem mostrado que a utilização do café verde pode ser mais saudável que o café torrado (Mousavi et al., 2020) uma vez que seus compostos bioativos ainda não sofreram a ação da temperatura.

O extrato de café verde é uma rica fonte de bioquímicos, entre eles, são encontrados: carboidratos/fibras, compostos nitrogenados como cafeína; lipídios, minerais, ácidos e ésteres (ácidos clorogênicos). Já são conhecidas diferentes atividades farmacológicas comprovadas como: antioxidante, antiinflamatória, antibacteriana (Díaz-Hernandez et al. 2022, Narayanaperumal et al, 2022, Alamri et al. 2020), antidiabética, e antiproliferativa (Silva et al., 2023, Montenegro et al., 2021) anti-hipertensivo (Ribeiro et al., 2021), e propriedades que auxiliam na função microcirculatória, na hidratação da pele, a proteger contra raios UV (ácido linoleico), e na barreira de permeabilidade (Pimpley et al. 2020).

Outras propriedades identificadas nos grãos de café verde demonstraram influências positivas em síndromes como a metabólica - melhora no peso corporal, dos órgãos, perfil lipídico e resistência à insulina (Seliem et al 2022) e do ovário policístico – com efeito redutor no peso corporal, índice de massa corporal, circunferência da cintura, diminuição dos níveis de testosterona, triglicerídeos e colesterol (Mousavi et al., 2020; Pimpley et al, 2020). Essas atividades estão possivelmente relacionadas aos compostos que atuam no estresse oxidativo e reduzem os níveis de marcadores inflamatórios

sistêmicos (Younis and Eissa, 2023; Silva et al., 2023).

O extrato de café verde tem se demonstrado fonte rica de compostos fenólicos, com destaque ao ácido clorogênico (CGAs) - família de ésteres que compreende 6–12% de sua composição total (Rojas-González et al., 2022). As três classes principais deste ácido presentes nos grãos de café verde são: ácido cafeoilquínico (CQA), ácido dicafeoilquínico (diCQA) e ácido feruolquínico (FQA) (Pimpley et al. 2020), com destaque para o O 5-CQA é o CGA com uma concentração de cerca de 100 mg/g (base seca), representando 76 a 84% do conteúdo total de CGAs (Rojas-González et al., 2022)

O ácido clorogênico já demonstrou efeitos antioxidantes, protetores contra doenças crônicas degenerativas humanas (Kulapichitr et al. 2022), melhora na barreira intestinal, elevação dos níveis de IgA (Silva et al., 2023), atividade inibitória de NA (antiviral) (Muchtaridi et al 2021), efetivo na redução no peso corporal e gordura pós-prandial (Pimpley et al., 2020), atividade antibacteriana e antiinflamatória (Feng et al., 2023).

O ácido clorogênico está entre os compostos que podem ser degradados na torra dos grãos de café, por apresentar instabilidade térmica e dependendo do grau da torra, seu teor pode ser reduzido em 1% do teor original (Silva et al. 2023; Farah et al., 2012). Tendo esse ponto em vista, a utilização dos grãos de café verde, antes da torra, torna disponível o ácido clorogênico sem os interferentes ocasionados pela temperatura.

A biodisponibilidade e bioacessibilidade dos extratos devem ser investigadas para determinar a quantidade necessária para atingir tais efeitos, devido a possíveis perdas durante a digestão, absorção e metabolização (Coelho et al., 2022) e estudos demonstram evidências de que o ácido clorogênico é altamente biodisponível (Pimpley et al. 2020).

Para auxiliar na possível falta de estabilidade dos polifenóis e melhorar suas aplicações terapêuticas, são desenvolvidos sistemas que corroboram desde a produção até o processamento, armazenamento e desenvolvimento de produtos inovadores baseados em aplicações (Desai et al 2020) entre eles, a formação de nanopartículas.

Diante do exposto, e visando aliar o que é conhecido sobre as nanopartículas de zinco e prata, e as propriedades do extrato do café verde, o presente trabalho propõe o desenvolvimento e obtenção de nanopartículas de zinco e prata com extrato de café verde por síntese verde, afim de promover interação das atividades farmacológicas e proteger as propriedades dos compostos, avaliar o seu potencial antioxidante, antienvhecimento e antiacne, e realizar a sua caracterização quanto a estabilidade e propriedades organolépticas para obtenção de um produto final com aplicabilidade na indústria.

## **2 Metodologia**

### **2.1 Preparação do extrato aquoso a partir de extrato de café verde padronizado**

O extrato de grãos de café verde em pó padronizado foi obtido comercialmente e então pesado em balança analítica nas concentrações de 1, 2 e 4mg/mL com água destilada até o volume final de 10mL, as soluções foram submetidas a aparelho de ultrassom para garantir completa homogeneização ( $\pm 5$  min) para obter o extrato aquoso.

### **2.2 Determinação da formação das nanopartículas de prata (AgNPs)**

Após o preparo do extrato foi realizado o Protocolo para determinação da formação de nanopartículas (AgNPs), onde foram utilizadas diferentes variáveis afim de identificar qual a melhor condição para síntese. O delineamento foi obtido variando concentração de Extrato,  $\text{AgNO}_3$ , pH e temperatura como descrito detalhadamente abaixo. A avaliação da formação das AgNPs foi monitorada por espectrofotometria na região do ultravioleta-visível (UV-Vis), com base na análise do perfil plasmônico e com varredura em espectroscopia de absorção na região do UV-Vis, de 300 a 650nm, com 1,0nm de intervalo, que indica pico característico de formação de AgNPs

#### **2.2.1 Variação de concentração do extrato (temperatura ambiente):**

As AgNPs foram preparadas utilizando volumes iguais (10ml) da solução aquosa de nitrato de prata ( $\text{AgNO}_3$  - 2,5mmol/L), variando a concentração de extrato aquoso de café verde (1,2 e 4mg/ml) com pH fixo em 6. Os parâmetros de pH foram corrigidos com HCl 0,1mol/L e NaOH 0,1mol/L e realizada leitura com varredura em espectroscopia de absorção na região do UV-Vis, no intervalo de 300 a 650nm, com 1,0nm de intervalo.

#### **2.2.2 Variação de concentração de $\text{AgNO}_3$ (temperatura ambiente):**

As AgNPs foram preparadas utilizando volumes iguais (10ml) do extrato aquoso de café Verde (2mg/ml) variando a concentração da solução aquosa de  $\text{AgNO}_3$  (1, 5 e 10mmol/L), com pH fixo em 6. Os parâmetros de pH foram corrigidos com HCl 0,1 mol/L e NaOH 0,1 mol/L, e então realizada leitura com varredura em espectroscopia de absorção na região do UV-Vis, no intervalo de 300 a 650nm, com 1,0nm de intervalo.

#### **2.2.3 Variação de pH (temperatura ambiente):**

As AgNPs foram preparadas utilizando volumes iguais (10ml) da solução aquosa de  $\text{AgNO}_3$  (concentração fixa: 2,5mmol/L) e do extrato aquoso de café verde (concentração fixa: 2mg/ml), colocados em agitação e então variando o pH em 3, 5, 8 e 10. Os parâmetros de pH foram corrigidos com HCl 0,1 mol/L e NaOH 0,1 mol/L, e então realizada leitura com varredura em espectroscopia de absorção na região do UV-Vis, no intervalo de 300 a 650nm, com 1,0nm de intervalo.

#### **2.2.4 Variação de Temperatura (30 e 50°C):**

Para a avaliação da variação de temperatura na formação das nanopartículas de  $\text{AgNO}_3$  as nanopartículas foram preparadas utilizando volumes iguais (10ml) da solução aquosa de  $\text{AgNO}_3$  (concentração fixada: 2,5mmol/L) e do extrato aquoso de café Verde (concentração fixada: 2mg/ml), com pH fixado em 6. Os parâmetros de pH foram corrigidos com HCl 0,1 mol/L e NaOH 0,1 mol/L. As soluções foram então aquecidas a 30°C por 1h e 50°C por 30 min, e então realizada leitura com varredura em espectroscopia de absorção na região do UV-Vis, no intervalo de 300 a 650nm, com 1,0nm de intervalo.

#### **2.2.5 Determinação de melhor condição de síntese e estabilidade das AgNPs**

Após análise dos resultados dos espectros de todas as variáveis de condição apresentadas acima foi identificado qual parâmetro resultou no melhor espectro de absorção quando observado o pico de incidência conhecido de formação de AgNPs (região de 400nm) (Adrianto et al., 2022). Essa condição foi utilizada para dar continuidade as análises. As AgNPs sintetizadas na melhor condição foram armazenadas em frascos âmbar e mantidas, em temperatura ambiente e em geladeira, e realizadas leituras a cada 15 dias em ambas afim de realizar a verificação de sua estabilidade.

### **2.3 Caracterização do extrato aquoso de café verde e das AgNPs**

#### **2.3.1 Determinação de fenóis e flavonoides totais**

O método utilizado para determinação dos compostos fenolicos totais foi o de *Folin-Ciocalteu* adaptado de Singleton e Rossi (1965). Em 0,1mL de amostra foram adicionados 5mL de água destilada e 0.5mL do reagente de *Folin-Ciocalteu*. Após 3min adicionado 1,4mL de solução de  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  (10%) e 3ml de água destilada. O branco foi 5.1mL de água destilada e 0.5mL do reagente *Folin-Ciocalteu*. A mistura foi agitada e armazenada por 1h, e a absorbância medida a 765nm usando espectrofotômetro UV-Vis. Os testes foram realizados em triplicata e os resultados expressos em mg de ácido gálico

por g de extrato.

A dosagem dos flavonoides totais foi quantificada por espectrofotômetro UV-Vis e as amostras preparadas segundo a metodologia de Zhinshen et al., (1999). 1mL da amostra foi misturada a 4mL de álcool 70%, e 0,5ml de NaNO<sub>2</sub> 5%. Após 6 min foram adicionados 0,5mL de AlCl<sub>3</sub> 10%, 3ml de NaOH 1M, e 1ml de água destilada. As amostras foram agitadas em vórtex e a absorbância mensurada a 510nm. Os testes foram realizados em triplicata e os resultados obtidos expressos em mg de rutina por g de extrato.

### **2.3.2 Determinação da atividade antioxidante**

#### **2.3.2.1 Teste do sequestro do radical DPPH<sup>•</sup>**

A atividade antioxidante foi medida pelo teste DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazil) seguindo os métodos descritos por Rufino et al. (2010). Em um tubo foram adicionadas 1mL de tampão acetato (pH 5,5; 100mM), 1,25mL de etanol, 250µL de solução DPPH (500µM) e 50µL das amostras, que foram mantidas por 30min no escuro. As absorbâncias foram medidas com espectrofotômetro UV Vis a 517 nm. A atividade antioxidante foi calculada de acordo com a equação: AA (%) = [(Amostras-Controle)/Controle] × 100; onde Controle é a absorbância sem amostras e Amostras é a absorbância das amostras. Ácido gálico foi utilizado como controle positivo a 0,1 mg/mL.

#### **2.3.2.2 Poder de redução de íon ferro (FRAP)**

O teste FRAP foi realizado conforme descrito por Guimarães et al. (2010). O reagente FRAP foi preparado com tampão acetato (300mM, pH 3,6), TPTZ (10mM em HCl 40mM) e FeCl<sub>3</sub>0,6 H<sub>2</sub>O (20mM) na proporção de 10:1:1 (v/v/v). 2,7mL de Reagente FRAP, 270 µL de água ultrapura e 90µL de amostras foram misturados e aquecidos a 37°C durante 30 minutos. As absorbâncias foram medidas a 593nm e os resultados expressos como µM Trolox Equivalent (TE) por grama de amostra.

#### **2.3.2.3 Sequestro de NO**

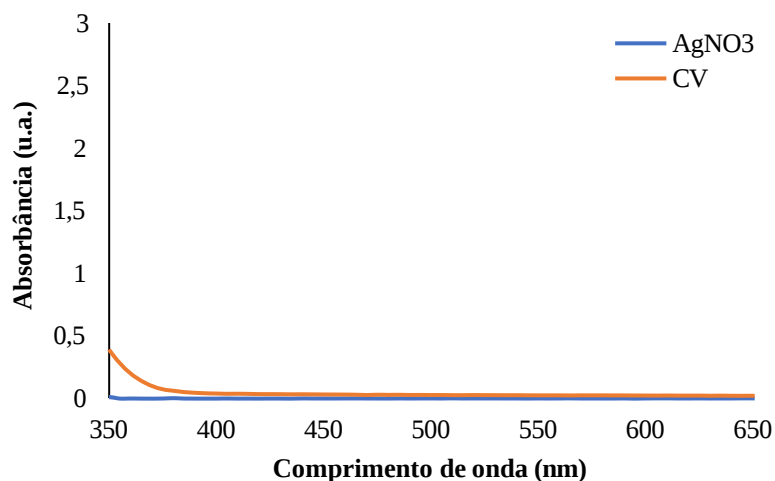
A atividade de sequestro de radical NO foi determinada utilizando método de Marcocci et al., 1994. A solução (2 mL) contendo as concentrações da amostra e SNP (concentração: 1 mM) em solução tampão de fosfato salino (PBS), com pH 7,4 foram incubados à 25°C por 150 min. Depois do período de incubação, 1ml da mistura de reação de cada amostra foi removido e diluído em 1mL de reagente Greiss. A absorbância foi medida à 540nm e comparadas com a solução branca correspondente.

#### 2.3.2.4 Inibição da peroxidação lipídica (TBARS)

A determinação do conteúdo de substâncias reativas com o ácido tiobarbitúrico (TBARS) foi feita para quantificar o nível de inibição da peroxidação lipídica de acordo com metodologia adaptada de Esterbauer e Cheeseman (1990). A gema de ovo foi homogeneizada (1%, w/v) em tampão fosfato 50mM (pH 7,4). Desta mistura 1mL foi misturada com 0,1mL das amostras. A peroxidação lipídica foi induzida pela adição de 0,1mL de solução de 2,2'-azobis-2- amidinopropano (AAPH; 0,12 M), durante 30 min a 37°C em banho-maria. Após o resfriamento, foi adicionado 0,5mL de ácido tricloroacético (TCA-15%) e 0,5mL de ácido tiobarbitúrico (TBA- 0,67%) e as amostras foram então aquecidas a 97°C, por 15 min. Após esfriamento, as amostras foram centrifugadas com 1mL de n-butanol a 1200 rpm, durante 10 min. As absorbâncias dos sobrenadantes dos tubos foram medidas a 532nm em um espectrofotômetro UV-Vis e os resultados são expressos em porcentagem de TBARS: (Acontrole-Aamostrax100/Acontrole). Onde Acontrole é a absorbância obtida apenas com AAPH sozinho e Aamostra, a absorbância das amostras com extrato ou com controle positivo.

### 3 Resultados e discussão

A análise da varredura isolada das soluções nitrato de prata ( $\text{AgNO}_3$ ) e do extrato aquoso de café verde não apresentou pico de absorbância em uma escala de comprimento de ondas no visível entre 350 e 650 nm. A ausência de absorbância formadora de picos na escala referida implica que não há presença de nanopartículas nas soluções analisadas isoladamente como apresentado na Figura 1.



**Figura 1.** Espectros de extinção de Nitrato de prata puro (2,5mM) e extrato aquoso de café verde (1mg/ml)

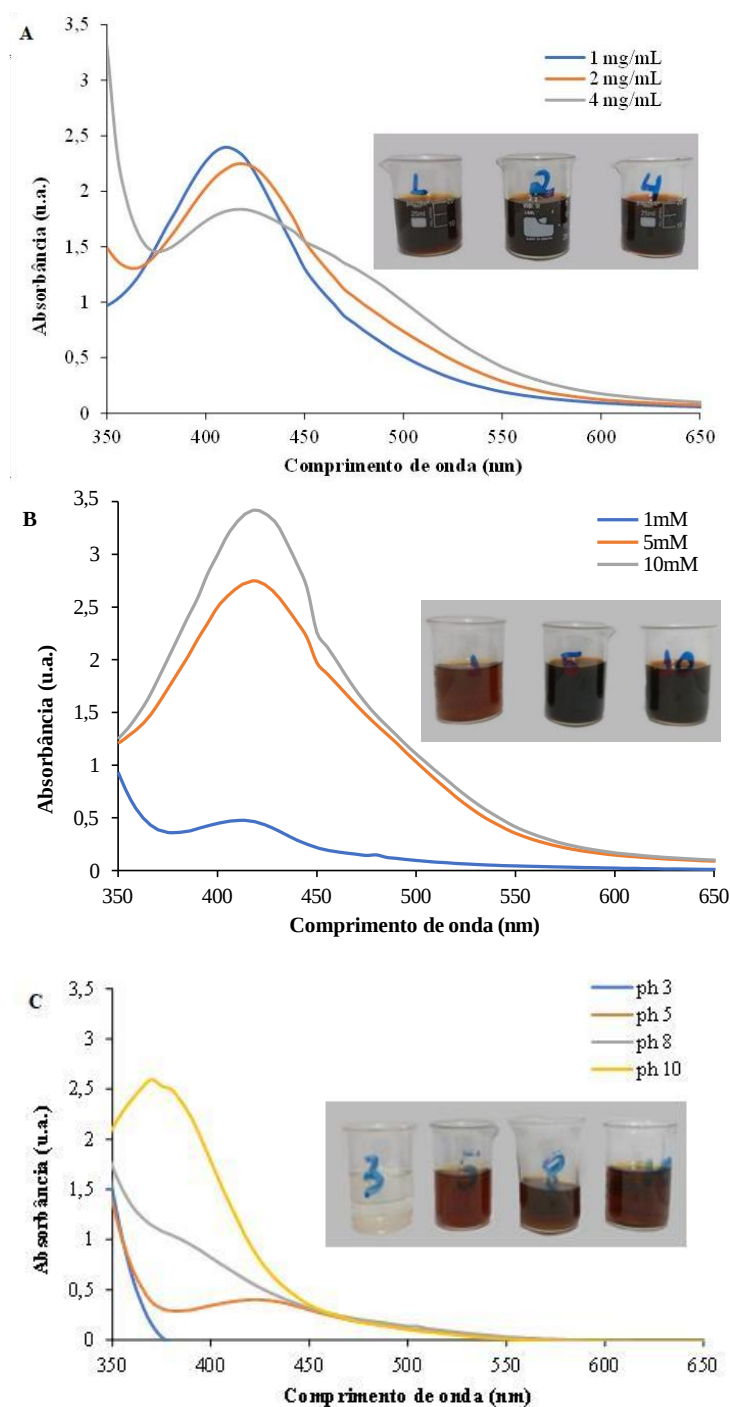
### **3.1 Determinação da formação de nanopartículas de AgNO<sub>3</sub> variando a concentração de Extrato, AgNO<sub>3</sub>, pH e Temperatura**

As nanopartículas sintetizadas e estabilizadas no presente trabalho apresentam-se em uma faixa de comprimento de onda entre 300 e 800nm com picos de absorbância semelhantes aos encontrados na pesquisa de (Dong et al., 2021) e com banda respectivamente compatível com as excitações dos plasmons de superfícies. (Adrianto et al., 2022). O pico de absorbância observado nos espectros de extinção estão apresentados na Figura 2, com as diferentes variáveis analisadas e indicam a formação de nanopartículas de prata.

O trabalho de Wang et al. (2021) demonstrou a efetividade do extrato do pó de café verde como agente redutor e estabilizante na síntese de NPs de cobre, e Baluken et al., (2024) otimizaram um processo de desenvolvimento de síntese verde com extrato de café para a produção de nanopartículas de selênio.

A análise das varreduras avaliadas no estudo, demonstraram que as soluções de nitrato de prata (AgNO<sub>3</sub>) com o extrato aquoso de café verde (CV) apresentaram formação no comprimento de onda de aproximadamente 420nm e isso pode acontecer pois o nitrato combina rapidamente com outros átomos e moléculas do extrato de café verde, o que confirma seu potencial estabilizante e redutor.

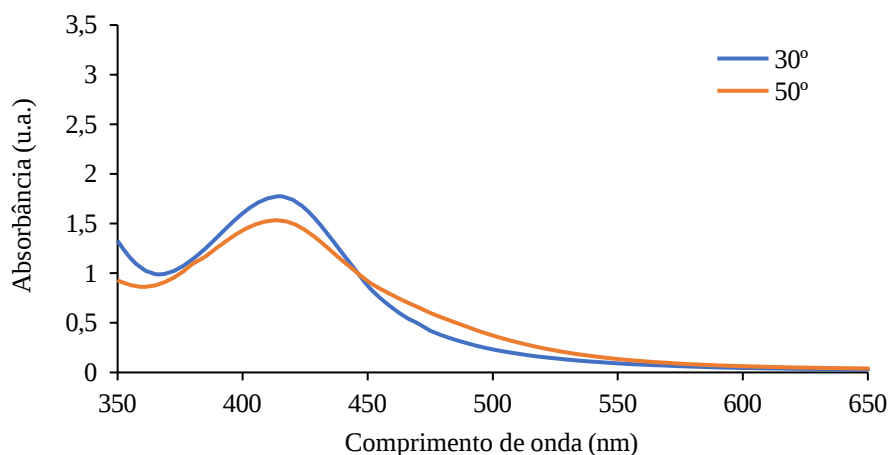
Afim de verificar qual a variável apresentou o pico com melhor incidência, foram realizadas leituras em todas as análises. Quando se observa a variação de concentração de extrato (Figura 2 – A), a melhor concentração foi a de 1mg/ml. Variando a molaridade do nitrato de prata (AgNO<sub>3</sub>), a síntese realizada com 10mM apresentou melhor característica (Figura 2 – B). Quando se observa a variação de pH na síntese (Figura 2 – C), ambos os valores avaliados (3, 5, 8 e 10) não apresentaram picos de absorbância bem definidos, quando comparado com as outras variáveis, que foram avaliadas com pH fixado em 6, comprovando que a melhor condição de síntese acontece com o pH 6.



**Figura 2.** Espectros de extinção de AgNPs sintetizados sob diferentes condições (A) concentração de extrato, (B) concentração de AgNO<sub>3</sub>, (C) pH

Após a definição das melhores condições, observados os picos de absorvância encontrados nas variáveis que foram: Concentração de extrato: 1mg/ml, Molaridade do nitrato de prata (AgNO<sub>3</sub>): 2,5mM e ph: 6, foi realizada a avaliação da síntese de acordo com a temperatura. Uma amostra das AgNps foi deixada em temperatura ambiente e a outra foi colocada em temperatura de 50° em banho maria por 60 min e posteriormente foram analisadas.

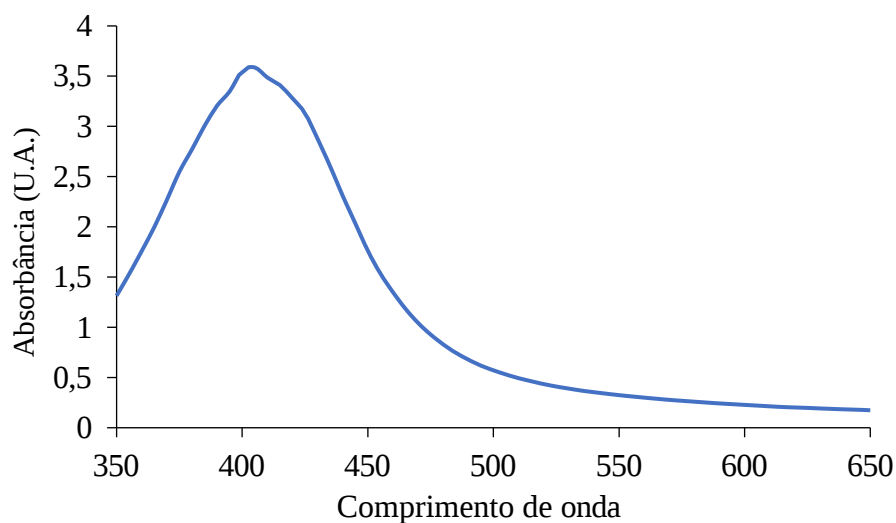
Quando observada o espectro de absorção de ambas (Figura 3), a amostra que permaneceu em temperatura ambiente demonstrou pico bem formado, o que se considera como vantagem quando comparada a necessidade da nanopartícula colocada em alta temperatura pois elimina essa etapa no processo.



**Figura 3.** Espectros de extinção de AgNPs sintetizados com as melhores variáveis (Concentração de extrato: 1mg/ml, Molaridade do nitrato de prata ( $\text{AgNO}_3$ ): 2,5mM e ph: 6) em temperatura ambiente (30°C e 50°C)

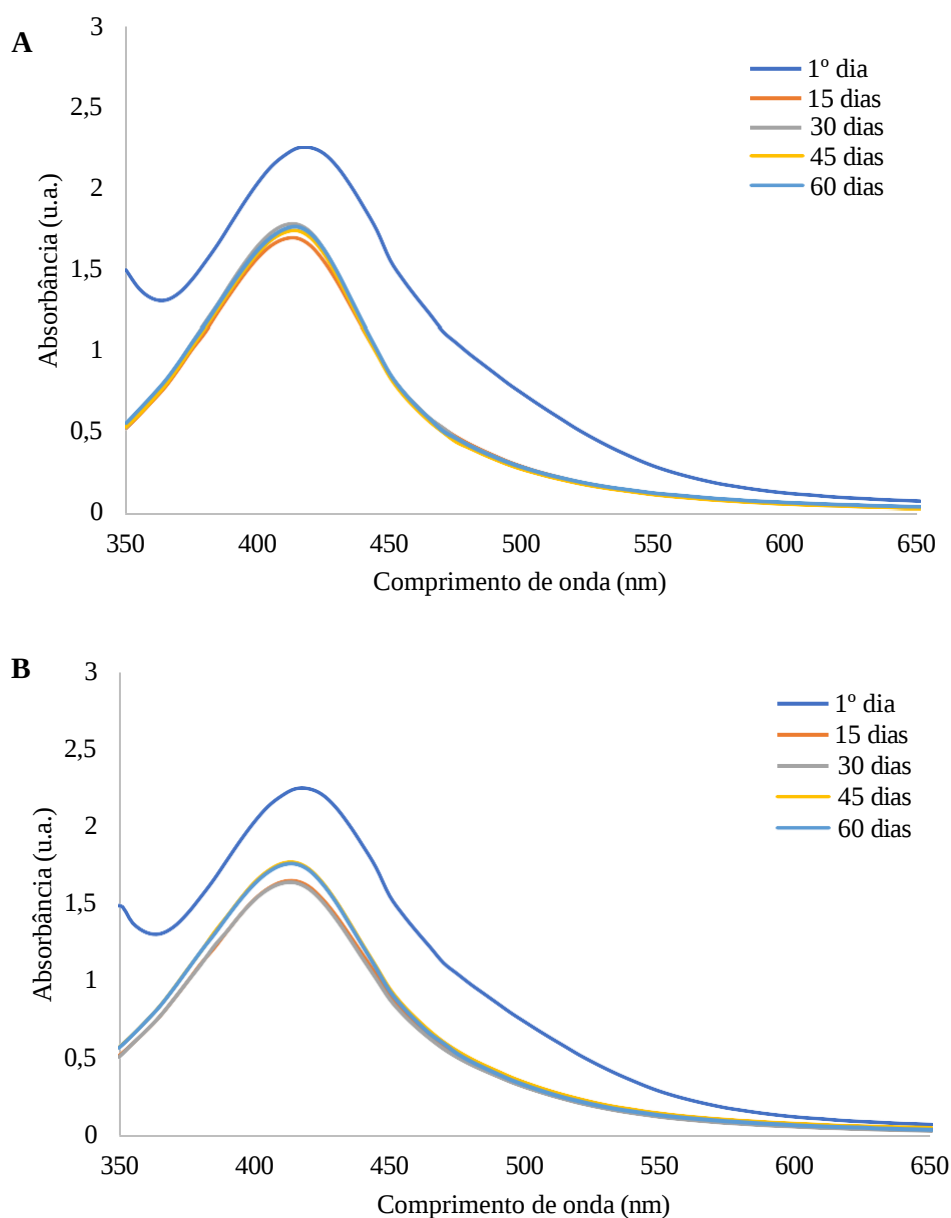
### 3.2 Determinação de melhor condição de síntese e estabilidade das AgNPs

Após a definição das melhores condições de síntese, observados os picos de absorvância encontrados nas variáveis que foram: Concentração de extrato: 1mg/ml, Molaridade do nitrato de prata ( $\text{AgNO}_3$ ): 2,5mM e ph: 6 e avaliação da condição de temperatura ideal (30°C) foi realizada varredura no comprimento de onda de 350 a 650nm em espectrofotômetro de absorvância UV-Vis e o espectro encontrado com pico de absorvância em 420nm característico da formação de nanopartículas de prata (Figura 4).



**Figura 4.** Espectros de extinção de AgNPs sintetizados com as melhores variáveis (Concentração de extrato: 1mg/ml, Molaridade do nitrato de prata ( $\text{AgNO}_3$ ): 2,5mM e ph: 6) em temperatura ambiente (30°C)

A estabilidade das AgNPs através da análise dos espectro de varredura tanto das AgNPs que foram armazenadas em temperatura ambiente (Figura 5-A) quanto das que foram armazenadas em geladeira (Figura 5-B) demonstrou que mesmo após 60 dias de armazenamento ambas conservaram a incidência do pico de absorbância característico da formação de AgNPs de prata e inclusive apresentaram pico com curva menos acentuada conforme o tempo foi passando o que pode ser explicado ao fato de que as nanopartículas continuaram ainda se estruturando, com destaque ao processo realizado em temperatura ambiente, que eliminaria a necessidade de armazenamento nas AgNPs em geladeira



**Figura 5.** Espectros de extinção de AgNPs sintetizados com as melhores variáveis armazenadas em frasco âmbar em temperatura ambiente e em geladeira

### 3.3 Caracterização do extrato aquoso de café verde e das AgNPs

Após o término do processo de síntese, foi realizada a determinação da quantidade de fenois e flavonoides totais (Tabela 1) e a avaliação da atividade antioxidante por quatro métodos, sendo eles: radical DPPH, Óxido Nítrico, Poder Redutor do ferro FRAP e TBARS. Os resultados das atividades antioxidante estão expressos na Tabela 2

A Tabela 1 apresenta os teores de compostos fenólicos totais e flavonoides totais no extrato aquoso padronizado de café verde, bem como nas nanopartículas de prata sintetizadas (AgNPs) com base nesse extrato. Observou-se um aumento significativo no conteúdo de polifenóis totais à medida que a concentração do extrato foi aumentada. Os valores variaram de  $227,30 \pm 20,22$  mg GAE/g para 1 mg/mL até  $600,30 \pm 6,08$  mg GAE/g para 4 mg/mL, indicando uma relação diretamente proporcional entre a concentração do extrato e o conteúdo fenólico.

O mesmo padrão foi observado para os flavonoides totais, com teores de  $338,53 \pm 7,56$  mg RE/g (1 mg/mL),  $391,31 \pm 12,09$  mg RE/g (2 mg/mL) e  $455,47 \pm 21,75$  mg RE/g (4 mg/mL). Isso evidencia que o aumento da concentração do extrato está diretamente relacionado à maior disponibilidade de compostos bioativos com potencial antioxidante.

Com relação às AgNPs sintetizadas, foi observado um teor de  $161,30 \pm 3,61$  mg GAE/g de polifenóis e  $416,03 \pm 8,67$  mg RE/g de flavonoides. O menor valor de compostos fenólicos em comparação com os extratos puros sugere que parte desses compostos foi consumida durante a reação de redução do  $\text{Ag}^+$ , atuando como agentes redutores na formação das nanopartículas. Por outro lado, o alto teor residual de flavonoides nas AgNPs reforça a hipótese de que essas moléculas também atuam como agentes estabilizantes, aderindo à superfície das partículas sintetizadas e contribuindo para sua estabilidade e funcionalidade.

**Tabela 1.** Avaliação do teor total de polifenóis e flavonoides de extrato padronizado de Café verde e de nanopartículas de prata.

| Tratamento | Concentrações                               | Polifenóis Totais <sup>1</sup> | Flavonoides Totais <sup>2</sup> |
|------------|---------------------------------------------|--------------------------------|---------------------------------|
| Extrato    | 1 mg/mL                                     | 227,30±20,22                   | 338,53±7,56                     |
|            | 2 mg/mL                                     | 390,97±28,87                   | 391,31±12,09                    |
|            | 4 mg/mL                                     | 600,30±6,08                    | 455,47±21,75                    |
| AgNPs      | 1mg mL <sup>-1</sup> / 10 mM / pH 8/ 30°60' | 161,30±3,61                    | 416,03±8,67                     |

Os valores são expressos como média  $\pm$  desvio padrão. <sup>1</sup>mg equivalente ácido gálico (GAE) g<sup>-1</sup> peso seco; <sup>2</sup>mg equivalente rutina (RE) g<sup>-1</sup> peso seco. As mesmas letras dentro da mesma coluna não indicam diferenças entre as amostras pelo teste de Tukey ( $p \leq 0.05$ ).

É possível avaliar de diferentes formas a atividade antioxidante de substâncias biologicamente ativas. Devido aos diferentes tipos de radicais livres e suas diferentes formas de atuação, não é possível utilizar apenas um método universal pelo qual a atividade antioxidante possa ser medida precisa e quantitativamente, com isso, se faz necessário utilizar mais de um método de análise para avaliar a atividade antioxidante de uma substância (Gulcin et al.,2025).

A Tabela 2 resume a atividade antioxidante avaliada por diferentes métodos, incluindo o sequestro de radical DPPH, FRAP, TBARS e sequestro de óxido nítrico (NO), comparando o extrato de café verde, as AgNPs e os controles.

No ensaio de DPPH, o extrato apresentou uma atividade antioxidante dose-dependente, com aumento significativo da capacidade de sequestro do radical à medida que a concentração aumentava. A porcentagem de inibição foi de 11,24 (0,05 mg/mL), 31,69 (0,1 mg/mL), 71,31 (0,25 mg/mL), 85,33 (0,5 mg/mL) e atingiu 97,46% na concentração de 1 mg/mL e este resultado evidencia a elevada capacidade antioxidante do extrato, provavelmente associada à alta concentração de compostos fenólicos e flavonoides, como já discutido anteriormente. As AgNPs sintetizadas, por sua vez, apresentaram uma atividade antioxidante de  $23,81 \pm 4,48\%$  no teste de DPPH, embora esse valor seja inferior ao do extrato puro nas concentrações mais elevadas indica que as nanopartículas retêm parte da atividade antioxidante do extrato vegetal e essa atividade pode ser atribuída tanto aos compostos bioativos residualmente adsorvidos na superfície das partículas quanto à própria natureza redox da superfície metálica funcionalizada.

No teste de FRAP, a capacidade redutora do extrato também foi elevada, com valores de 1052,67, 1067,67 e 1056,00  $\mu\text{M TE/g}$ , nas concentrações de 1, 2 e 4 mg/mL, respectivamente. Esses resultados reforçam o potencial do extrato como agente antioxidante por diferentes mecanismos de ação. As AgNPs apresentaram resultado de 1033,50  $\mu\text{M TE/g}$  no ensaio de FRAP, valor comparável aos obtidos para o extrato nas concentrações mais elevadas e esse dado destaca que, mesmo após o processo de síntese, as nanopartículas mantêm capacidade de doação de elétrons, o que as torna potencialmente úteis em aplicações biomédicas e cosméticas como antioxidantes.

No ensaio de TBARS, que avalia a inibição da peroxidação lipídica, o extrato também demonstrou atividade dependente da concentração, com valores crescentes de inibição: 61,35 (1 mg/mL), 72,30 (2 mg/mL) e 85,02 (4 mg/mL) e as AgNPs apresentaram inibição de 57,81 novamente indicando uma manutenção da atividade antioxidante após a síntese.

No teste de sequestro de óxido nítrico (NO), o extrato nas concentrações de 1, 2 e 4 mg/mL apresentou inibição crescente da produção de nitrito, com valores de 13,38, 15,42 e 16,73, respectivamente, e estes resultados evidenciam o potencial do extrato na neutralização de radicais reativos de nitrogênio, o que é relevante em contextos inflamatórios.

**Tabela 2.** Atividade antioxidante de AgNPs de extrato padronizado de Café verde, das nanopartículas de prata, AgNO<sub>3</sub> e controle positivo Ácido Gálico e Trolox pelos testes DPPH e FRAP, respectivamente.

| Tratamento        | Concentração            | DPPH%      | NO         | FRAP <sup>2</sup> | TBARS      |
|-------------------|-------------------------|------------|------------|-------------------|------------|
| Extrato           | 0,05mg/mL               | 11,24±4,61 | -          | -                 | -          |
|                   | 0,1mg/mL                | 31,69±1,85 | -          | -                 | -          |
|                   | 0,25mg/mL               | 71,31±2,09 | -          | -                 | -          |
|                   | 0,5mg/mL                | 85,33±0,19 | -          | -                 | -          |
|                   | 1mg/mL                  | 97,46±0,08 | 13,38±0,95 | 1052,67±6,29      | 61,35±3,17 |
|                   | 2mg/mL                  | *          | 15,42±0,85 | 1067,67±1,44      | 72,30±5,03 |
|                   | 4mg/mL                  | *          | 16,73±0,56 | 1056,00±2,50      | 85,02±5,70 |
| AgNO <sub>3</sub> | 2,5 mM                  |            |            |                   |            |
| AgNPs             | Ideal                   | 23,81±4,48 | -          | 1033,50±10,90     | 57,81±4,49 |
| Gallic acid       | 0,1 mg mL <sup>-1</sup> | -          | -          | 87.00±0.24        | -          |
| Trolox            | 0.14                    | -          | -          | -                 | 61.80±0.38 |

Valores expressos como média ± desvio padrão. Extrato = extrato de café verde aquoso. % Atividade antioxidante, <sup>2</sup>μM Trolox Equivalente (TE) g<sup>-1</sup> amostra. As mesmas letras dentro da mesma coluna não indicam diferenças significativa entre amostras pelo teste de Tukey (p≤0.05). Ideal: 1mg mL<sup>-1</sup>-10 mM / pH6/30°60' \*: platô

De forma geral, os resultados indicam que o extrato de café verde padronizado possui elevada concentração de compostos fenólicos e flavonoides e apresenta forte atividade antioxidante por diferentes mecanismos. A síntese de AgNPs mediada por esse extrato resulta em nanopartículas que preservam parte dessa bioatividade, com potencial aplicação em sistemas antioxidantes e terapêuticos. A manutenção da atividade antioxidante mesmo após a formação das nanopartículas indica sucesso na funcionalização da superfície com compostos bioativos, o que pode contribuir para maior estabilidade, biocompatibilidade e funcionalidade das AgNPs.

## Conclusão

A síntese verde de nanopartículas de prata utilizando extrato de café verde obtido comercialmente se mostrou eficiente e sustentável, com a caracterização por UV-vis confirmando a formação das nanopartículas e a ação do extrato como agente redutor e

estabilizador. A avaliação *in vitro* revelou que as nanopartículas possuem atividade antioxidante promissora, indicando potencial para aplicações em proteção contra estresses oxidativos. Esses resultados destacam a eficácia da síntese de nanopartículas de prata de forma ecológica e sugerem novas direções para pesquisas sobre métodos sustentáveis e suas aplicações terapêuticas e tecnológicas.

## Referências

- ADRIANTO, N.; PANRE, A.M.; ISTIQOMAH, N.I.; RISWAN, M.; APRILIANI, F.; SUHARYADI, E. Localized surface plasmon resonance properties of green synthesized silver nanoparticles, *Nano-Structures & Nano-Objects*, Volume 31, 2022, 100895, ISSN 2352-507X, <https://doi.org/10.1016/j.nanoso.2022.100895>.
- ALAMRI, O.D.; ALBELTAGY, R.S.; AKABAWYC, A.M.A.; MAHGOUB, S.; ABDEL-MOHSEN, D.M.; MONEIM, A.E.A.; AMIN, H.K. Investigation of antioxidant and anti-inflammatory activities as well as the renal protective potential of green coffee extract in high fat-diet/ streptozotocin-induced diabetes in male albino rats. *J Funct Foods*, v.71, p.103996, 2020 <https://doi.org/10.1016/j.jff.2020.103996>
- BALUKEN, P., KAMILOGLU, A., & KUTLU, N. (2024). Green Synthesis of Selenium Nanoparticles using Green Coffee Beans: An Optimization Study. *Chemistry & biodiversity*, 21(3), e202301250. <https://doi.org/10.1002/cbdv.202301250>
- BEŠLO, D.; GOLUBIĆ, N.; RASTIJA, V.; AGIĆ, D.; KARNAŠ, M.; ŠUBARIĆ, D.; LUČIĆ, B., Antioxidant activity, metabolism, and bioavailability of polyphenols in the diet of animals. *Antioxidants*, v.12, n.6, p.1141, 2023. <https://doi.org/10.3390/antiox12061141>
- BOSSO, H.; BARBALHO, S.M.; DE ALVARES GOULART, R.; OTOBONI, A.M.M.B. Green coffee: economic relevance and a systematic review of the effects on human health. *Crit Rev Food Sci*, v.63, n.3, p.394-410, 2023. <https://doi.org/10.1080/10408398.2021.1948817>
- COELHO, M.; OLIVEIRA, C.; COSCUETA, E.R.; FERNANDES, J.; PEREIRA, R.N.; TEIXEIRA, J.A.; RODRIGUES, A.S.; PINTADO, M.E. Bioactivity and bioaccessibility of bioactive compounds in gastrointestinal digestion of tomato bagasse extracts. *Foods*, v.11, n.7, p.1064, 2022. <https://doi.org/10.3390/foods11071064>.
- DESAI, N.M.; STANLEY, J.G.; MURTHY, P.S. Green coffee nanoparticles: optimisation, in vitro bioactivity and bio-release property. *J Microencapsul*, v.37, n.1, p.52-64, 2020. <https://doi.org/10.1080/02652048.2019.1692946>
- DÍAZ-HERNÁNDEZ, G.C.; ALVAREZ-FITZ, P.; MALDONADO-ASTUDILLO, Y.I.; JIMÉNEZ-HERNÁNDEZ, J.; PARRA-ROJAS, I.; FLORES-ALFARO, E.; SALAZAR, R.; RAMÍREZ, M. Antibacterial, antiradical and antiproliferative potential of green, roasted, and spent coffee extracts. *Appl Sci*, v.12, p.1938, 2022. <https://doi.org/10.3390/app12041938>
- DONG, B., XUE, N., MU, G., WANG, M., XIAO, Z., DAI, L., WANG, Z., HUANG, D., QIAN, H., & CHEN, W. (2021). Synthesis of monodisperse spherical AgNPs by ultrasound-intensified Lee-Meisel method, and quick evaluation via machine learning. *Ultrasonics Sonochemistry*, 73, 105485. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2021.105485>
- DOUSARI, A.S.; HOSSEININASAB, S.S.; AKBARIZADEH, M.R.; NADERIFAR, M.; SATARZADEH, N. *Mentha pulegium* as a source of green synthesis of nanoparticles with antibacterial, antifungal, anticancer, and antioxidant applications. *Sci Hort.* v.320, p.112215, 2023. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2023.112215>

ESTERBAUER, H.; CHEESEMAN, K. H. Determination of aldehydic lipid peroxidation products: malonaldehyde and 4-hydroxynonenal. *Methods in Enzymology*, v. 186, p. 407–421, 1990. DOI: [https://doi.org/10.1016/0076-6879\(90\)86134-h](https://doi.org/10.1016/0076-6879(90)86134-h).

FARAH, A. Coffee constituents. In: Chu, Y.F. (ed) *Coffee: Emerging health effects and disease prevention*. IFT Press, Wiley-Blackwell, A John Wiley & Sons, Ltd., Publication, Ames, Iowa, 2012. cap.2, p.21-58.

FENG, S.; ZHANG, Y.; FU, S.; LI, Z.; ZHANG, J.; XU, Y.; HAN, X.; MIAO, J. Application of chlorogenic acid as a substitute for antibiotics in multidrug-resistant *Escherichia coli*-induced mastitis. *Int Immunopharmacol*, v.114, p.109536, 2023. <https://doi.org/10.1016/j.intimp.2022.109536>

FLIEGER, J.; FLIEGER, W.; BAJ, J.; MACIEJEWSKI, R. Antioxidants: classification, natural sources, activity/capacity measurements, and usefulness for the synthesis of nanoparticles. **Materials**, v.14, n.15, p.4135, 2021. <https://doi.org/10.3390/ma14154135>

GUIMARÃES, A.G.; OLIVEIRA, G.F.; MELO, M.S.; CAVALCANTI, S.C.; ANTONIOLLI, A.R.; BONJARDIM, L.R.; SILVA, F.A.; SANTOS, J.P.; ROCHA, R.F.; MOREIRA, J.C.; ARAÚJO, A.A.; GELAIN, D.P.; QUINTANS-JÚNIOR, L.J. Bioassay-guided evaluation of antioxidant and antinociceptive activities of carvacrol. *Basic Clin Pharmacol Toxicol*. v.107, n.6, p.949-57, 2010. <https://doi.org/10.1111/j.1742-7843.2010.00609.x>

GULCIN İ. (2025). Antioxidants: a comprehensive review. *Archives of toxicology*, 99(5), 1893–1997. <https://doi.org/10.1007/s00204-025-03997-2>

KARTHIK, M.; RAGUNATH, C.; KRISHNASAMY, P.; PAULRAJ, D.Q.; RAMASUBRAMANIAN, V. Green synthesis of zinc oxide nanoparticles using *Annona muricata* leaf extract and its antioxidant and antibacterial activity. **Inorg Chem Commun**, v.157, p.111422, 2023. <https://doi.org/10.1016/j.inoche.2023.111422>

KORDY, M.G.M.; ABDEL-GABBAR, M.; SOLIMAN, H.A.; ALJOHANI, G.; BINSABT, M.; AHMED, I.A.; SHABAN M. Phyto-capped ag nanoparticles: green synthesis, characterization, and catalytic and antioxidant activities. **Nanomaterials (Basel)**, v.12, n.3, p.373, 2022. <https://doi.org/10.3390/nano12030373>.

KULAPICHITR, F.; BOROMPICHAICHARTKUL, C.; FANG, M.; SUPPAVORASATIT, I.; CADWALLADER, K.R. Effect of post-harvest drying process on chlorogenic acids, antioxidant activities and CIE-Lab color of *Thai Arabica* green coffee beans. **Food Chem**, v. 366, p. 130504, 2022. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.130504>

KULKARNI, D.; SHERKAR, R.; SHIRSATHE, C.; SONWANE, R.; VARPE, N.; SHELKE, S.; MORE, M.P.; PARDESHI, S.R.; DHANESHWAR, G.; JUNNUTHULA, V.; DYAWANAPELLY, S. Biofabrication of nanoparticles: sources, synthesis, and biomedical applications. **Front Bioeng Biotechnol**, v.2, n.11, p.1159193, 2023. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2023.1159193>

LAVANYA, B.; APARNA, Y.; RAMANA, M.V. 2023. Synthesis, characterization of zinc oxide nanoparticles using *Terminalia mantaly* leaf extract and their antibacterial activity. **Mater Today Proc**. In press, 2023. <https://doi.org/10.1016/j.matpr.2023.05.001>

MAHMOUD, R.; KOTP, A.A.; EL-ELA, F.I.A.; FARGHALI, A.A.; MOATY, S.A.A.; ZAHARAN, H.Y.; AMIN, R. Green synthesis of iron nanoparticles of clove and green coffee origin with an in vivo hepatoprotective investigation. **J Environ Chem Eng**, v.9, n.6, 2021. <https://doi.org/10.1016/j.jece.2021.106320>.

MAP/Brasil, 2023. Brasil é o maior produtor mundial e o segundo maior consumidor de café. **Ministerio da agricultura e Pecuaria**, disponível em: <<https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/noticias/brasil-e-o-maior-produtor-mundial-e-o-segundo-maior-consumidor-de-cafe#:~:text=Brasil%20%C3%A9%20o%20maior%20produtor%20mundial%20e%20o%20segundo%20maior%20consumidor%20de%20caf%C3%A9,-Em%202022%20foram%20publicado%20em%2014%2F04%2F2023%2006h39,acesso%20em%2030%2F11%2F2023>>

MARCOCCI, L.; MAGUIRE, J. J.; DROY-LEFAIX, M.-T.; PACKER, L. The nitric oxide-scavenging properties of Ginkgo biloba extract EGb 761. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, [s. l.], v. 201, n. 2, p. 748–755, 1994. <https://doi.org/10.1006/bbrc.1994.1764>

MONTENEGRO, J.; SANTOS, L.S.; SOUZA, R.G.G.; LIMA, L.G.B.; MATTOS, D.S.; VIANA, B.P.P.B.; BASTOS, A.C.S.F.; MUZZI, L.; CONTE-JÚNIOR, C.A.; GIMBA, E.R.P.; FREITAS-SILVA, O.; TEODORO, A.J. Bioactive compounds, antioxidant activity and antiproliferative effects in prostate cancer cells of green and roasted coffee extracts obtained by microwave-assisted extraction (MAE). **Food Res Int**, v.140, p.110014, 2021. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2020.110014>

MOUSAVI, A.; SAEDISOMEOLIA, A.; YEKANINEJAD, M.; ILDARABADI, A.; MESHKANI, M.; VAHID-DASTJERDI, M. Effect of green coffee supplementation on androgens level in women with polycystic ovary syndrome: a randomized clinical trial. **Obes Med**, v.20, p.100298, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.obmed.2020.100298>

MUCHTARIDI, M.; LESTARI, D.; IKRAM, N.K.K.; GAZZALI, A.M.; HARIONO, M.; WAHAB, H.A. Decaffeination and neuraminidase inhibitory activity of arabica green coffee (*Coffea arabica*) beans: chlorogenic acid as a potential bioactive compound. *Molecules*, v.26, n. 11, p. 3402, 2021. <https://doi.org/10.3390/molecules26113402>

NARAYANAPERUMAL, J.; D'SOUZA, A.; MIRIYALA, A.; SHARMA, B.; GOPAL, G. A randomized double blinded placebo controlled clinical trial for the evaluation of green coffee extract on immune health in healthy adults. **J Tradit Complement Med**, v.12, n.5, p.455-465, 2022. <http://doi.org/10.1016/j.jtcme.2022.01.007>

OKKA, E.Z.; TONGUR, T.; AYTAS, T.T.; YILMAZ, M.; TOPEL, Ö.; RAMAZAN, S. Green synthesis and the formation kinetics of silver nanoparticles in aqueous *Inula viscosa* extract. **Optik**, v.294, p.171487, 2023. <https://doi.org/10.1016/j.ijleo.2023.171487>

OMRAN, B.; BAEK, K.H. Nanoantioxidants: Pioneer Types, Advantages, Limitations, and Future Insights. **Molecules**, v.26, n.22, p.7031, 2021. <https://doi.org/10.3390/molecules26227031>

ORGANIZAÇÃO DAS NAÇÕES UNIDAS (ONU). *Objetivos de desenvolvimento sustentável*. 2019. Disponível em: <https://brasil.un.org/pt-br/sdgs>. Acesso em: 3 nov. 2023.

PIMPLEY, V.; PATIL, S.; SRINIVASAN, K.; DESAI, N.; MURTHY, P.S. The chemistry of chlorogenic acid from green coffee and its role in attenuation of obesity and diabetes. **Prep Biochem Biotechnol**, v.50, n.10, p.969-978, 2020. <https://doi.org/10.1080/10826068.2020.1786699>

RIBEIRO, E.; THAIS DE SOUZA ROCHA, T.S.; PRUDENCIO, S.H. Potential of green and roasted coffee beans and spent coffee grounds to provide bioactive peptides, **Food Chem**. v.348, p.129061, 2021. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.129061>

ROJAS-GONZÁLEZ, A. FIGUEROA-HERNÁNDEZ, C.Y., GONZÁLEZ-RIOS, O., SUÁREZ-QUIROZ, M. L., GONZÁLEZ-AMARO, R. M., HERNÁNDEZ-ESTRADA, Z. J., RAYAS-DUARTE, P. Coffee chlorogenic acids incorporation for bioactivity enhancement of foods: a review. *Molecules (Basel, Switzerland)*, v. 27, n. 11, p. 3400, 2022. <https://doi.org/10.3390/molecules27113400>

RUFINO, M.; ALVES, R.; BRITO, E.; PÉREZ-JIMÉNEZ, J.; SAURA-CALIXTO, F.; FILHO, J. Bioactive compounds and antioxidant capacity of 18 non-traditional tropical fruits from Brazil. *Food Chem*, v.121, p.996-1002, 2010. <https://org.br/10.1016/j.foodchem.2010.01.037>

SAMROT, A.V.; RAM SINGH, S.P.; DEENADHAYALAN, R.; RAJESH, V.V.; PADMANABAN, S.; RADHAKRISHNAN, K. Nanoparticles, a double-edged sword with oxidant as well as antioxidant properties-a review. **Oxygen**, v.2, n.4, p.591-604, 2022. <https://doi.org/10.3390/oxygen2040039>

SELIEM, E.M.; AZAB, M.E.; ISMAIL, R.S.; NAFEAA, A.A.; ALOTAIBI, B.S.; NEGM, W.A. Green coffee bean extract normalize obesity-induced alterations of metabolic parameters in rats by upregulating adiponectin and GLUT4 levels and reducing RBP-4 and HOMA-IR. **Life (Basel)**, v.12, n.5, p.693, 2022.

<https://doi.org/10.3390/life12050693>

SHAHCHERAGHI, N.; GOLCHIN, H.; SADRI, Z.; TABARI, Y.; BORHANIFAR, F.; MAKANI, S. Nano-biotechnology, an applicable approach for sustainable future. **Biotech**, v.12, n.3, p.65, 2022. <https://doi.org/10.1007/s13205-021-03108-9>

SILVA, M.R.; JELLEY, R.E.; CARNEIRO, R.L.; FEDRIZZI, B.; WEBER, C.C.; FUNARI, C.S. Green solvents for the selective extraction of bioactive compounds from by-products of the coffee production chain. **Innov Food Sci Emerg Technol**, v.86, n.103365, 2023. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2023.103365>

SINGLETON, V. L.; ROSSI, J.A. Jr. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *Amer. J. Enol. Viticult.* v.16, p.144-158, 1965. <https://doi.org/10.5344/ajev.1965.16.3.144>

SUALEH, A.; TOLESSA, K.; MOHAMMED, A. Biochemical composition of green and roasted coffee beans and their association with coffee quality from different districts of southwest Ethiopia, **Heliyon**, v.6, n. 12, p.e05812, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2020.e05812>

SINGH, J.; DUTTA, T.; KIM, K.H.; RAWAT, M.; SAMDDAR, P.; KUMAR, P. 'Green' synthesis of metals and their oxide nanoparticles: applications for environmental remediation. *Journal of Nanobiotechnology*, v. 16, p. 84, 2018. <https://doi.org/10.1186/s12951-018-0408-4>.

TORRES, D. A. P. Bioeconomia na Estratégia da Embrapa. In: TORRES, D. A. P. (org.). *Bioeconomia: oportunidades para o setor agropecuário*. Brasília, DF: Embrapa, 2022. p. 219-242.

VIDEIRA, N. 2019. Quantos institutos brasileiros de pesquisa em biotecnologia você conhece? Biotecnologia, Blog do Profissão Biotec (ISSN 2675-6013), Ciência, Institutos de Pesquisa, V.4 disponível em <<https://profissaobiotec.com.br/quantos-institutos-brasileiros-de-pesquisa-em-biotecnologia-voce-conhece/>> acesso em: 01/10/2023

YOUNIS, N. N. E EISSA, R. G., 2023. Alzheimer's disease and green coffee bean extract. In *Treatments, Nutraceuticals, Supplements, and Herbal Medicine in Neurological Disorders*. **Academ Press**. p.65-79, 2023. <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-90052-2.00040-8>

WANG, M.; ZHANG, W.; ZHENG, X.; ZHU, P. Antibacterial and catalytic activities of biosynthesized silver nanoparticles prepared by using an aqueous extract of green coffee bean as a reducing agent. **RSC Adv**, v.7, p.12144-12149, 2017. <https://doi.org/10.1039/C6RA27706C>.

WANG, G.; ZHAO, K.; GAO, C.; WANG, J.; MEI, Y.; ZHENG, X.; ZHU, P. Green synthesis of copper nanoparticles using green coffee bean and their applications for efficient reduction of organic dyes. **J Environ Chem Eng**, v.9, n.4, p.105331, 2021. <https://doi.org/10.1016/j.jece.2021.105331>.

ZHISHEN, J., MENGCHENG, T., JIANMING, W. (1999). The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. *Food Chemistry*, 64, 555-559. [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(98\)00102-2](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(98)00102-2)

## Anexo I

### Atividades realizadas no período

#### ▪ Artigo publicado

GORNI, P. H.; RODRIGUES, C. ; SPERA, K. D. ; CORREIA, R. F. C. C. ; MENDES, N. A. C. ; REIS, A. R. . Selenium fertilization enhances carotenoid and antioxidant metabolism to scavenge ROS and increase yield of maize plants under drought stress. PLANT PHYSIOLOGY AND BIOCHEMISTRY, p. 109675, 2025.



#### Selenium fertilization enhances carotenoid and antioxidant metabolism to scavenge ROS and increase yield of maize plants under drought stress

Pedro Henrique Gorni<sup>a</sup>, Cleverson Rodrigues<sup>a</sup>, Kamille Daleck Spera<sup>a</sup>, Ricardo Francisco Ciaramicoli Cândido Correia<sup>a</sup>, Nandhara Angélica Carvalho Mendes<sup>b</sup>, André Rodrigues dos Reis<sup>a,\*</sup>

<sup>a</sup> Department of Biosystems Engineering, Faculty of Sciences and Engineering, São Paulo State University (UNESP), Tupã, 17602-496, São Paulo, Brazil

<sup>b</sup> Department of Agricultural Production Science, Faculty of Agricultural and Veterinary Sciences, São Paulo State University (UNESP), Jaboticabal, 14884-900, São Paulo, Brazil

#### ▪ Artigo aceito para publicação

CAMPAGNARO, V. S. ; SPERA, K. D. ; GORNI, P. H. ; DUCATTI, R. D. B. ; REIS, A. R. . A red seaweed bioproduct based on Solieria chordalis enhances heat tolerance, photosynthetic pigments and yield of maize plants. REVISTA DE CIÊNCIAS AGROVETERINÁRIAS, v. 24, p. e25870, 2025.

#### ▪ Apresentação de trabalho em Congresso



## CERTIFICADO

Código: SIGECUEL N. 2025-0995-0932790

Certificamos que

**KAMILLE DALECK SPERA**

participou do Evento:

**VIII SIMPÓSIO DE BIOQUÍMICA E BIOTECNOLOGIA - SIMBBTEC E I CONGRESSO PARANAENSE DE BIOTECNOLOGIA**

promovido pelo Departamento de Bioquímica e Biotecnologia do Centro de Ciências Exatas, realizado no período de 23 a 27 de junho de 2025, com 01 hora de duração, obtendo 100% de frequência, na qualidade de **Apresentador(a) de Trabalho** com o Tema intitulado:

**"ESTABILIDADE DE NANOPARTÍCULAS DE PRATA OBTIDAS POR SÍNTESE VERDE MEDIADA POR EXTRATO DE COFFEA ARABICA"**

Autor(a): KAMILLE DALECK SPERA

Coautor(es): PEDRO HENRIQUE GORNI, REGILDO MARCIO GONÇALVES DA SILVA

Londrina, 09 de Julho de 2025.

A aceitação deste documento está condicionada à verificação de sua autenticidade na internet, no endereço  
<http://www.unel.br/validadocumento>

Código de validação deste documento: 8571J3W9GJ099F.NLX9L7QRYJ.BL28R

Zilda Aparecida Freitas de Andrade  
Pro-Reitora de Extensão, Cultura e  
Sociedade  
PROEXUEL



## CERTIFICADO

Código: SIGECUEL N. 2025-0995-093333

Certificamos que

**RHUAN VIANA BORGES DA SILVA**

participou do Evento:

**VIII SIMPÓSIO DE BIOQUÍMICA E BIOTECNOLOGIA - SIMBBTEC E I CONGRESSO PARANAENSE DE BIOTECNOLOGIA**

promovido pelo Departamento de Bioquímica e Biotecnologia do Centro de Ciências Exatas, realizado no período de 23 a 27 de junho de 2025, com 01 hora de duração, obtendo 100% de frequência, na qualidade de **Apresentador(a) de Trabalho** com o Tema intitulado:

**"APLICAÇÕES FOLIARES DE ÁCIDO FERÚLICO E ÁCIDO SALICÍLICO MELHORA O CRESCIMENTO, COMPOSTO BIOATIVOS E QUALIDADE DOS FRUTOS DE TOMATE"**

Coautor(es): RHUAN VIANA BORGES DA SILVA, RODNEI MOREIRA MAIA FILHO, YGOR SANTOS FORNASIER, KAMILLE DALECK SPERA, PEDRO HENRIQUE GORNI

Londrina, 09 de Julho de 2025.

A aceitação deste documento está condicionada à verificação de sua autenticidade na internet, no endereço  
<http://www.unel.br/validadocumento>

Código de validação deste documento: 6D9GJ.6L38GJF65D.N304N.7P9XJ.749H7

Zilda Aparecida Freitas de Andrade  
Pro-Reitora de Extensão, Cultura e  
Sociedade  
PROEXUEL



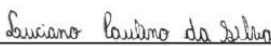
### ▪ Participação em evento científico/minicurso

Verifique o código de autenticidade 18785869.89612452.6.8.8785858561245268 em <https://www.even3.com.br/documentos>



### VI CONGRESSO DIGITAL DE NANOBIOTECNOLOGIA E BIOENGENHARIA

Certificamos que Kamille Daleck Spera participou do minicurso  
**"Aprenda a Aprender Nano&Bio"** durante o VI Congresso Digital de  
Nanobiotecnologia e Bioengenharia (VI CDNB) realizado no período  
de 10 a 13 de junho de 2025, contabilizando carga horária total de  
3 horas.

  
**Dr. Luciano Paulino da Silva**  
Coordenador do VI CDNB

 Laboratório de  
Nanobiotecnologia

 Embrapa



Universidade  
Estadual de Londrina

PRÓ-REITORIA DE EXTENSÃO, CULTURA E SOCIEDADE

## CERTIFICADO

Código SIGEC/UEL N.: 2025-09960-0632700

Certificamos que

**KAMILLE DALECK SPERA**

participou do Evento:

**VIII SIMPÓSIO DE BIOQUÍMICA E BIOTECNOLOGIA - SIMBBTEC E I CONGRESSO  
PARANAENSE DE BIOTECNOLOGIA**

promovido pelo Departamento de Bioquímica e Biotecnologia do Centro de Ciências  
Exatas, realizado no período de 23 a 27 de junho de 2025, com 34 horas de duração,  
obtendo 100% de frequência.

Londrina, 09 de Julho de 2025.

A aceitação deste documento está condicionada à verificação de sua autenticidade na internet, no endereço  
<http://www.uel.br/validadocumento>

Código de validação deste documento: 9E71K.6L39FLHF97F.M/7965.5R8ZJ.9J46B

Zilda Aparecida Freitas de Andrade  
Pró-Reitora de Extensão, Cultura e  
Sociedade  
PROEXUEL



## CERTIFICADO DE PARTICIPAÇÃO

Certificamos que  
**Kamille Daleck Spera**

participou ativamente do evento AGTECH VALE 2025 - Agronegócio e  
Tecnologia no Vale Paranapanema, com carga horária de 08 horas, no  
dia 10 de julho de 2025, no salão de eventos da ACIA, Assis SP  
Este certificado reconhece sua valiosa contribuição nas atividades

Assis, 09/07/2025

Mara Ausech