UNIVERSIDADE ESTADUAL DO OESTE DO PARANÁ CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO STRICTO SENSU EM CONSERVAÇÃO E MANEJO DE RECURSOS NATURAIS – NÍVEL MESTRADO

ADRIÁ BRAUN VIEIRA

ANÁLISE FITOQUÍMICA E BIOATIVIDADES DO EXTRATO E NANOPARTÍCULAS DE ORA-PRO-NÓBIS (*Pereskia aculeata* Miller)

CASCAVEL-PR Fevereiro/2025

ADRIÁ BRAUN VIEIRA

ANÁLISE FITOQUÍMICA E BIOATIVIDADES DO EXTRATO E NANOPARTÍCULAS DE ORA-PRO-NÓBIS (*Pereskia aculeata* Miller)

Dissertação apresentada ao Programa de Pósgraduação Stricto Sensu em Conservação e Manejo de Recursos Naturais – Nível Mestrado, do Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, da Universidade Estadual do Oeste do Paraná, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Conservação e Manejo de Recursos Naturais

Área de Concentração: Ciências Ambientais

Orientadora: Dra. Fabiana Gisele da Silva Pinto

Coorientadora: Dra. Patricía da Costa Zonetti

CASCAVEL-PR

Fevereiro/2025

Ficha de identificação da obra elaborada através do Formulário de Geração Automática do Sistema de Bibliotecas da Unioeste.

```
Vieira, Adriá Braun
Análise fitoquímica e bioatividades do extrato e
nanopartículas de ora-pro-nóbis (Pereskia aculeata Miller) /
Adriá Braun Vieira; orientadora Fabiana Gisele da Silva
Pinto; coorientadora Patricia da Costa Zonetti. -- Cascavel,
2025.
76 p.
```

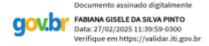
Dissertação (Mestrado Acadêmico Campus de Cascavel) --Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, Programa de Pós-Graduação em Conservação e Manejo de Recursos Naturais, 2025.

1. Pereskia aculeata Miller. 2. Atividades biológicas. 3. Nanopartículas de prata. I. Pinto, Fabiana Gisele da Silva, orient. II. Zonetti, Patricia da Costa , coorient. III. Título.

ADRIÁ BRAUN VIEIRA

ANÁLISE FITOQUÍMICA E BIOATIVIDADES DO EXTRATO E NANOPARTÍCULAS DE ORA-PRO-NÓBIS (*Pereskia aculeata* Miller)

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Conservação e Manejo de Recursos Naturais em cumprimento parcial aos requisitos para obtenção do título de Mestra em Conservação e Manejo de Recursos Naturais, área de concentração Ciências Ambientais, linha de pesquisa Monitoramento e manejo de ambientes antropizados, APROVADA pela seguinte banca examinadora:



Orientadora - Dra. Fabiana Gisele da Silva Pinto
Universidade Estadual do Oeste do Paraná (UNIOESTE)



Dra. Carina Contini Triques de Alemida
Universidade Estadual do Oeste do Paraná (UNIOESTE)



Dra. Gabrielle Caroline Peiter
Universidade Federal do Paraná (UFPR)

Cascavel, 27 de fevereiro de 2025.

AGRADECIMENTOS

Agradeço à Deus pelo dom da vida, por sua bondade e proteção.

Com todo o meu coração, minha gratidão aos meus pais, Joise e Amarildo (*in memoriam*), por contribuírem na construção de quem sou. Seu amor, apoio e carinho me impulsionaram durante a minha formação.

As professoras, Dra. Fabiana e Dra. Patricia, que com dedicação e conhecimento, me orientaram durante o mestrado, contribuindo significativamente para minha formação acadêmica.

Aos professores do programa de pós-graduação em Conservação e Manejo de Recursos Naturais – PPRN, aos quais enriqueceram meus conhecimentos como estudante e serviram de exemplo profissional, em especial Dra. Shirley e Dr. Neucir.

Aos familiares e amigos por estarem ao meu lado, compartilhando dos bons e maus momentos. E aos colegas de laboratório que também se tornaram grandes amigos para a vida.

SUMÁRIO

RESUMO	9
ABSTRACT	10
1 INTRODUÇÃO	11
1.1 OBJETIVOS	12
1.1.1 Objetivo geral	12
1.1.2 Objetivos específicos	12
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	13
2.1 A PLANTA ORA-PRO-NÓBIS (Pereskia aculeata Miller)	13
2.1.1 Compostos bioativos da ora-pro-nóbis	14
2.1.2 Aplicação dos bioativos de ora-pro-nóbis	15
2.2 MÉTODOS DE EXTRAÇÃO DOS COMPOSTOS BIOATIVOS	16
2.2.1 Métodos tradicionais	16
2.2.1 Métodos modernos	16
2.2.2 Extração assistida por ultrassom	17
2.3 INTERAÇÃO ENTRE PLANTAS: ALELOPATIA	18
2.3.1 Extratos vegetais como bioestimulantes	19
2.4 NANOTECNOLOGIA	20
2.4.1 Síntese verde	20
2.4.2 Nanopartículas metálicas	21
2.4.3 Nanopartículas metálicas como agentes antimicrobianos	22
2.4.3.1 Nanopartículas de prata frente microrganismos patogênic	os .23
CONSIDERAÇÕES FINAIS	24
REFERÊNCIAS	24
CAPÍTULO 1 - POTENCIAL BIOATIVO DO EXTRATO ETANÓLICO DE ORA-	-PRO-
NÓBIS (Pereskia aculeata Miller) OBTIDO POR ULTRASSOM: PI	
FITOQUÍMICO, ATIVIDADE ANTIOXIDANTE, ANTIMICROBIANA E EFEITO GERMINAÇÃO DE SEMENTES	
	JZ

RESUMO	32
INTRODUÇÃO	33
MATERIAL E MÉTODOS	33
COLETA DO MATERIAL VEGETAL	33
PREPARO DO EXTRATO ETANÓLICO DE P. aculeata	34
PERFIL FITOQUÍMICO DO EXTRATO DE P. aculeata	34
QUANTIFICAÇÃO DE COMPOSTOS FENÓLICOS E ATIVIDADE ANTI DO EXTRATO ETANÓLICO	
Quantificação de compostos fenólicos (CF)	34
Ensaio de atividade antioxidante pelo método - 2,2-difenil-1-	•
Ensaio de atividade antioxidante pelo método - Ácido 2,2'-a etilbenzotiazolina-6-sulfônico) (ABTS)	
ENSAIO DE ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DO EXTRATO ETANÓL aculeata	
Determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM) e Co Bactericida Mínima (CBM)	-
ENSAIO DE GERMINAÇÃO DE SEMENTES DE ALFACE	35
CRESCIMENTO INICIAL DE PLÂNTULAS DE SOJA	36
DETERMINAÇÃO DOS TEORES DE LIPOPERÓXIDOS DE RAÍZES	36
RESULTADOS E DISCUSSÕES	37
PERFIL FITOQUÍMICO DO EXTRATO P. aculeata	37
QUANTIFICAÇÃO DE COMPOSTOS FENÓLICOS E ATIVIDADE ANTI DO EXTRATO ETANÓLICO	
ATIVIDADE ANTIMICROBIANA	39
GERMINAÇÃO DE SEMENTES	40
CRESCIMENTO INICIAL DE PLÂNTULAS DE SOJA	43
CONSIDERAÇÕES FINAIS	44

REFERÊNCIAS	44
ANEXO I – NORMAS DA REVISTA	47
CÁPITULO 2 - SÍNTESE VERDE SUSTENTÁVEL DE NANOPARTÍCULA PRATA A PARTIR DE <i>Pereskia aculeata</i> Miller E ATIVIDADES ANTIMICRO E ANTIBIOFILME	BIANA
RESUMO	54
INTRODUÇÃO	55
MATERIAL E MÉTODOS	56
PREPARO DO EXTRATO AQUOSO DE P. aculeata	56
Método de Maceração	56
Método de Infusão	56
SÍNTESE VERDE	56
CARACTERIZAÇÃO DAS NANOPARTÍCULAS	57
ATIVIDADE ANTIOXIDANTE	57
Ensaio 2,2-difenil-1-picrilhidrazil (DPPH)	57
Ensaio Ácido 2,2'-azino-bis(3-etilbenzotiazolina-6-sulfônico) (ABT	S)57
ATIVIDADE ANTIMICROBIANA	58
ATIVIDADE ANTIBIOFILME	58
RESULTADOS E DISCUSSÕES	59
CARACTERIZAÇÃO DAS NANOPARTÍCULAS	59
ATIVIDADE ANTIOXIDANTE	61
ATIVIDADE ANTIMICROBIANA	62
ATIVIDADE ANTIBIOFILME	64
CONCLUSÕES	66
AGRADECIMENTOS	67
REFERÊNCIAS	67
ANEXO II - MATERIAL COMPLEMENTAR	71
ANEXO III – NORMAS DA REVISTA	72

RESUMO

A Pereskia aculeata Miller, conhecida como ora-pro-nóbis (OPN), é uma planta nativa de alto valor medicinal e nutricional devido à presença de compostos bioativos. Suas folhas são amplamente utilizadas na alimentação e na medicina popular, além de apresentarem potencial antioxidante, antimicrobiano e alelopático. A extração desses compostos foi realizada por método tradicional, como Soxhlet, e moderno, como ultrassom. O extrato etanólico da planta revelou a presença de saponinas, esteroides livres, triterpenos pentacíclicos, alcaloides, flavonas, flavonóis, xantonas e flavonoides, demonstrando significativa atividade antioxidante e antimicrobiana contra bactérias Gram-positivas e Gram-negativas. Além disso, em ensaios com sementes de alface, o extrato modulou o crescimento vegetal de acordo com a concentração. O potencial biotecnológico da OPN também foi explorado na síntese verde de nanopartículas de prata (AgNPs), nas quais seus compostos bioativos atuaram como agentes redutores e estabilizantes. A caracterização das AgNPs revelou boa estabilidade coloidal e presença do grupo C=O, indicando a participação de biomoléculas na estabilização. As nanopartículas sintetizadas apresentaram elevada atividade antioxidante e antimicrobiana, com destaque para a ação contra bactérias Gram-positivas, além de uma significativa atividade antibiofilme, tornando-se promissoras na prevenção de infecções. A combinação das propriedades fitoquímicas da P. aculeata evidencia sua versatilidade e potencial para aplicações farmacológicas, agroecológicas e biomédicas, contribuindo para o desenvolvimento sustentável de novos produtos biotecnológicos.

PALAVRAS-CHAVE: Compostos bioativos; extração sustentável; nanopartículas de prata; atividades biológicas.

ABSTRACT

Pereskia aculeata Miller, known as ora-pro-nóbis (OPN), is a native plant of high medicinal and nutritional value due to the presence of bioactive compounds. Its leaves are widely used in food and traditional medicine, and they also exhibit antioxidant, antimicrobial, and allelopathic potential. The extraction of these compounds was carried out using both traditional methods, such as Soxhlet, and modern methods, such as ultrasound. The ethanolic extract of the plant revealed the presence of saponins, free steroids, pentacyclic triterpenes, alkaloids, flavones, flavonols, xanthones, and flavonoids, demonstrating significant antioxidant and antimicrobial activity against both Gram-positive and Gram-negative bacteria. In addition, in lettuce seed assays, the extract modulated plant growth depending on the concentration. The biotechnological potential of OPN was also explored in the green synthesis of silver nanoparticles (AgNPs), in which its bioactive compounds acted as reducing and stabilizing agents. Characterization of the AgNPs revealed good colloidal stability and the presence of the C=O group, indicating the participation of biomolecules in stabilization. The synthesized nanoparticles showed high antioxidant and antimicrobial activity, especially against Gram-positive bacteria, as well as significant antibiofilm activity, making them promising agents for infection prevention. The combination of the phytochemical properties of P. aculeata highlights its versatility and potential for pharmacological, agroecological, and biomedical applications, contributing to the sustainable development of new biotechnological products.

KEYWORDS: Bioactive compounds; sustainable extraction; silver nanoparticles; biological activities.

1 INTRODUÇÃO

A *Pereskia aculeata* Miller, chamada popularme de ora-pro-nóbis (OPN), é uma planta nativa da América Central e Sul, amplamente reconhecida por suas propriedades medicinais e nutricionais. Suas folhas são ricas em proteínas, vitaminas, minerais e compostos bioativos, como flavonoides, alcaloides, taninos, saponinas e compostos fenólicos, que conferem à espécie propriedades antioxidantes e antimicrobianas de grande interesse científico (Garcia et al., 2019; Jardim et al., 2021).

A extração desses compostos bioativos é um processo essencial para seu melhor aproveitamento, sendo possível empregar diferentes métodos, como os tradicionais, como infusão e Soxhlet, ou modernas, como a extração assistida por ultrassom. Esta última tem se mostrado uma abordagem promissora devido à sua eficiência na permeabilidade das paredes celulares e na liberação dos compostos desejados, além de ser uma alternativa mais sustentável e eficiente (Silva, 2022; Sousa; Gasparoti; Paula, 2022). A identificação dos compostos extraídos permite não apenas a caracterização química do material vegetal, mas também sua aplicação em diversos setores. Estudos indicam que extratos vegetais são amplamente utilizados na agricultura, atuando no tratamento de sementes principalmente como bioestimulantes (Carvalho et al., 2021).

Além disso, a nanotecnologia verde tem explorado cada vez mais a utilização de extratos vegetais na síntese de nanopartículas (NPs), buscando a substituição das sínteses químicas e físicas (Jalab et al., 2021). A biossíntese dessas nanopartículas, denominada síntese verde, representa uma alternativa sustentável, reduzindo o uso de reagentes tóxicos e o consumo energético (Oselusi et al., 2025). Dentre a classe das nanopartículas metálicas, as nanopartículas de prata (AgNPs) têm sido amplamente estudadas devido às suas propriedades físico-químicas únicas, que as tornam promissoras para aplicações na tecnologia de alimentos, na farmacologia e na microbiologia (Luhata et al., 2022).

As nanopartículas de prata (AgNPs) têm demonstrado eficácia contra uma ampla variedade de microrganismos, incluindo bactérias patogênicas e biofilmes microbianos resistentes a tratamentos convencionais (Ankudze, Neglo & Nsiah, 2024). Considerando a crescente preocupação com a resistência antimicrobiana, a Organização Mundial da Saúde (OMS) listou microrganismos prioritários para pesquisa, destacando *Pseudomonas aeruginosa* como um patógeno de prioridade

crítica e *Staphylococcus aureus* como de prioridade alta (OMS, 2025). Nesse contexto, o combate a biofilmes microbianos torna-se essencial, especialmente em setores como a indústria alimentícia e a saúde pública, onde a persistência de microrganismos resistentes compromete a eficácia dos tratamentos e a segurança sanitária (Korkmaz et al., 2024).

Diante desse panorama, este estudo tem como objetivo explorar o perfil fitoquímico da *P. aculeata*, avaliar suas atividades antioxidante e antimicrobiana, e investigar o potencial do extrato etanólico obtido por ultrassom na germinação de sementes de alface e no crescimento inicial da soja, sendo essa aplicação agronômica ainda pouco explorada. Além disso, visa-se a síntese de AgNPs a partir dos extratos aquosos da planta, avaliando suas propriedades biotecnológicas e sua aplicação em sistemas antimicrobianos e antibiofilme. Assim, este trabalho contribuirá para o avanço no uso de estratégias sustentáveis, pensando na inovação e no possível desenvolvimento de novos produtos.

1.1 OBJETIVOS

1.1.1 Objetivo geral

Determinar a composição fitoquímica e avaliar as bioatividades do extrato e nanopartículas obtidos das folhas de *Pereskia aculeata* Miller.

1.1.2 Objetivos específicos

- Determinar o perfil fitoquímico do extrato etanólico de OPN;
- Sintetizar e caracterizar nanopartículas a partir dos extratos aquosos de OPN;
- Avaliar o potencial antioxidante do extrato etanólico e das nanopartículas das folhas de OPN;
- Determinar a Concentração Inibitória Mínima (CIM) e Concentração Bactericida Mínima (CBM) do extrato etanólico e das nanopartículas de prata de OPN frente as bactérias:
- Avaliar o potencial do extrato etanólico de OPN sobre a germinação de sementes e crescimento de plântulas de espécies agricultáveis.
- Avaliar a atividade antiobiofilme das nanopartículas de prata de OPN;

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 A PLANTA ORA-PRO-NÓBIS (Pereskia aculeata Miller)

O Brasil é reconhecido como um dos países com maior diversidade biológica em todo o mundo, com aproximadamente 38.000 espécies de vegetais já reconhecidas (Flora e Funga do Brasil, 2023). Dentre estas destacam-se 230 cactáceas, distribuídas em 34 gêneros, das quais 184 são endêmicas, encontradas com maior predomínio nas regiões leste e sul (Plano de Ação Nacional para a Conservação das Cactaceas, 2011).

O gênero *Pereskia* recebeu esta denominação por Miller em 1974, e apresenta particularidades que o diferenciam dos demais gêneros dentro da família Cactaceae, como hastes não suculentas, folhas grandes e aréolas auxiliares com espinhos (Francisco, 2018).

A *Pereskia aculeata* Miller é uma trepadeira semi-lenhosa, que pode atingir até 10 metros de comprimento, o caule e os ramos apresentam espinhos. O fruto é carnoso, oval ou redondo, e as flores apresentam coloração branca e amarela com aroma de limão. Já as folhas têm cerca de sete centímetros de comprimento e três centímetros de largura, são simples, simétrica, e com textura carnosa, composta por 70% água (Rosa; Souza, 2003; Ruppelt et al., 2015).

A *P. aculeata* é conhecida por seu nome popular ora-pro-nóbis (OPN) que no latim significa "rogai por nós". Outros nomes populares que também podem ser atribuídos a espécie são rosa-madeira, trepadeira-limão e carne-de-pobre ou carne verde, uma vez que na matéria seca possui 28% de proteína, valor acima que as fontes vegetais consumidas diariamente como o feijão, milho, espinafre, couve e alface (Takeiti et al., 2009), e também fontes de origem animal como carne, peixe e ovos (Maciel et al., 2021).

Devido às suas propriedades e ao alto valor proteico, a OPN pode ser considerada tanto uma planta medicinal quanto uma Planta Alimentícia Não Convencional (PANC). Essas plantas geralmente apresentam maiores teores de minerais, fibras, proteínas e compostos antioxidantes em comparação com plantas domesticadas (Kinupp e Barros, 2008; Silveira, 2016).

As folhas de OPN apresentam mucilagem (Piva et al., 2025) e contêm minerais como potássio, cálcio, ferro, enxofre, manganês, fósforo, magnésio, zinco,

cobre e vitamina C (Almeida et al., 2014). Elas também são ricas em aminoácidos essenciais, como histidina, arginina, treonina, valina, metionina, isoleucina, leucina, fenilalanina, lisina e triptofano (Zem et al., 2019). O principal uso das folhas envolve o consumo fresco ou seco, podendo ser facilmente incorporadas na forma de farinha em saladas, refogados, pães, bolos, sopas e sucos (Ferreira et al., 2024). É recomendada no combate à fome, desnutrição e anemia (Cruz et al., 2020).

Deste modo, devido ao seu fácil acesso, propagação e cultivo, e às suas atividades biológicas, existem muitos estudos desenvolvidos com a OPN que buscam quantificar e identificar seus compostos, bem como avaliar suas atividades biológicas (Moraes et al., 2019; Garcia et al. 2019; Soares, Castro e Martins, 2022; Ciríaco, Mendes e Carvalho, 2023).

2.1.1 Compostos bioativos da ora-pro-nóbis

A Resolução RDC n. 243/18 define substância bioativa como "um nutriente ou não nutriente consumido normalmente como componente de um alimento, que possui ação metabólica ou fisiológica específica no organismo humano" (Brasil, 2018, não paginado). Os metabólitos secundários podem ser divididos em três principais grupos: compostos nitrogenados, fenólicos e terpenos (Borges e Amorim, 2020).

A OPN é rica em minerais, vitaminas e aminoácidos, além de conter diferentes compostos metabólitos secundários como os taninos, flavonóides, alcaloides e saponinas (Jardim et al., 2021), carotenoides e saponinas (Almeida et al., 2014).

A capacidade antioxidante das folhas de OPN tem se mostrado notável, assim como a concentração de seus compostos fenólicos, que são os principais responsáveis pela prevenção ou mitigação de diversos danos oxidativos. Além disso, a elevada concentração de antioxidantes torna as folhas de OPN uma alternativa valiosa para o enriquecimento de alimentos e a promoção de uma alimentação saudável, sugerindo seu potencial como aditivo alimentar (Ciríaco, Mendes e Carvalho, 2023).

Foi encontrado no extrato apolar de OPN elevada atividade antioxidante e identificados 11 compostos pertencentes aos terpenóides e compostos fenólicos, sendo eles 2,4-Di-tercbutilfenol, isocanfano, fitol, escaleno, γ-tocoferol, vitamina E, α-Tocoferolquinona, campesterol, γ-sitosterol, fucosterol, e lupeol (Torres et al., 2021).

Em outro estudo também foram identificados compostos, sendo eles: dois ácidos fenólicos derivados do ácido caféico e oito flavonóides derivados de quercetina, kaempferol e isorhamnetina glicosídeo (Garcia et al., 2019). Essas moléculas são quimioprotetoras e normalmente são empregadas na indústria farmacêutica (Farias e Araújo, 2014) e também na cosmética para a prevenção do envelhecimento cutâneo (Henrique e Lopes, 2017).

2.1.2 Aplicação dos bioativos de ora-pro-nóbis

Diversos estudos exploram as aplicações da OPN como alimento, destacando suas propriedades funcionais (Queiroz et al., 2015; Assis et al., 2021; Pocai et al., 2021; Francelin et al., 2021; Prado et al., 2022). Um estudo com farinha de OPN na dieta mostrou benefícios como redução de peso, gordura visceral, colesterol total e triglicerídeos (Barbalho et al., 2016).

O potencial impacto positivo da OPN são evidentes em diversas aplicações, abrangendo não apenas a alimentação, mas também desempenhando um papel significativo na promoção da saúde. A avaliação da atividade antimicrobiana da OPN foi observada em diversas cepas de microrganismos, sendo bactérias como *Klebsiella pneumoniae* (Colacite et al., 2022), *Staphylococcus aureus* (Macedo et al., 2023), *Bacillus cereus, Pseudomonas aeruginosa* (Passos, 2022), e fungos como *Aspergillus versicolor* e *Penicillium citrinum* (Souza et al., 2016). Em tais avaliações, observou-se uma potencial inibição do crescimento microbiano.

Além disso, na esfera da saúde, a OPN desperta interesse devido à sua atividade biológica. Estudos nessa área apresentam sua atividade antitumoral e antinociceptiva (Pinto et al., 2015), ação cicatrizante por meio de formulações em pomada (Barros et al., 2010), e neuroprotetora com propriedade anti-inflamatória e anticolinérgica (Torres et al., 2021).

É importante destacar que o uso de seus bioativos também poderiam ser integrados a outras áreas, como é o caso da agronômica, em que ocorre uma crescente expansão de pesquisas voltadas a obtenção de bioestimulantes provenientes de extratos vegetais (Rehman et al., 2017; Desoky et al., 2020; Carvalho et al., 2021).

2.2 MÉTODOS DE EXTRAÇÃO DOS COMPOSTOS BIOATIVOS

2.2.1 Métodos tradicionais

Os métodos de extração tracionais foram utilizados ao longo de muitos anos, em geral são simples e não precisam de equipamentos especializados. Um exemplo é a infusão, trata-se uma extração direta na qual o biomassa vegetal entra em contato com a água quente, sendo comumente utilizada no preparo de chás, muito parecido com este método está a decocção, que se diferencia unicamente pelo fato de que o material vegetal deve ser fervido junto com a água (Oliveira, 2020).

Outra forma de extração direta é a maceração, em que a biomassa vegetal permanece em contato com o solvente. Esse processo pode ser estático ou dinâmico, quando envolve a agitação dos materiais (Marques, 2005). Durante a maceração, é importante garantir que a biomassa vegetal esteja bem triturada para aumentar a superfície de contato com o solvente, melhorando a eficiência da extração. Esse processo envolve o uso de diferentes solventes, que auxiliam na separação das substâncias ativas por meio da diferença de polaridade (Soares et al., 2016).

Além destes métodos, o Soxhlet, desenvolvido em 1879, tem sido utilizado por mais de um século. Ele é reconhecido por ser um processo extrativo exaustivo e altamente eficaz para a recuperação dos componentes desejados, embora seja mais demorado e consuma mais energia se comparado aos métodos modernos (Castro e Priego-Capote, 2010). Cada um desses métodos, apesar de simples, continuam sendo relevantes e amplamente utilizados no ambiente laboratorial devido à sua acessibilidade e eficiência.

2.2.1 Métodos modernos

Os métodos modernos para extração de compostos buscam eficiência, seletividade e sustentabilidade, e se baseiam em processos físicos e químicos para a separação das moléculas funcionais. Eles levam em conta os princípios da química verde que busca por solventes alternativos e processos mais eficientes (Tsukui e Rezende, 2014).

Entre esses métodos está a extração por fluido supercrítico (EFS), que utiliza um fluido em condições críticas de temperatura e pressão (Sousa, Gasparoti e Paula,

2022), e a extração por líquido pressurizado (ELP), que mantém o solvente em estado líquido sob alta pressão, mesmo em temperaturas elevadas (Rodrigues, 2021). Ambos os métodos permitem a redução do tempo de extração e aumento do rendimento, apesar dos altos custos dos equipamentos (Sousa, Gasparoti e Paula, 2022; Cunha et al., 2020).

A extração com água subcrítica (EAS) opera com água em estado líquido sob alta pressão e temperaturas entre 100°C e 374°C, eliminando a necessidade de solventes tóxicos (Souza, Souza e Oliveira, 2022). A extração aquosa assistida por enzimas (EAAE), por sua vez, utiliza enzimas para degradar as paredes celulares das plantas, resultando em produtos refinados com menor uso de energia (Heemann et al., 2019). Esses métodos são sustentáveis e eficientes, aproveitando recursos naturais e enzimáticos para a extração de compostos bioativos.

Além desses, o método extração assistida por micro-ondas (EAM) se baseia em princípios físicos e químicos que relacionam temperatura, estrutura molecular, ligação química e polarização, permitindo aquecimento eficiente de dentro para fora (Tsukui e Rezende, 2014). Outro método é a extração assistida por ultrassom (EAU), que utiliza ondas ultrassônicas para aumentar a cavitação e a transferência de massa, melhorando a eficiência e a seletividade da extração (Silva, 2022).

2.2.2 Extração assistida por ultrassom

Dentre os métodos modernos disponíveis, a extração assistida por ultrassom se destaca como uma alternativa eficiente e ecologicamente sustentável (Passos, 2022). Além disso, é considerada uma opção mais econômica em comparação com outros métodos modernos como é o caso da extração por fluido supercrítico (Sousa, Gasparoti e Paula, 2022).

O ultrassom, com frequência de 20 kHz, utiliza ondas ultrassônicas de alta potência para romper tecidos vegetais e expor seus componentes ao solvente. A propagação das ondas forma microbolhas que, ao se romperem, geram forças de cisalhamento, aumentando a permeabilidade dos tecidos vegetais e a solubilização dos compostos ativos (Silva, 2022).

A extração assistida por ultrassom pode ser conduzida de duas maneiras: através de banho ultrassônico ou sonda/ponteira ultrassônica. No banho ultrassônico, a amostra vegetal é submetida indiretamente à energia ultrassônica via água,

requerendo maiores frequências e potências para uma extração eficaz. Já na extração por sonda, o gerador de ondas ultrassônicas é inserido diretamente no recipiente contendo a amostra, emitindo ondas de pressão diretamente sobre o tecido vegetal. O uso de sonda para emissão das ondas ultrassônicas em biomoléculas demonstrou melhor desempenho em comparação com o banho ultrassônico (Sousa et al., 2022).

O método de extração por ultrassom utilizando sonda/ponteira se destaca pelo curto tempo de extração, facilidade de operação e elevada capacidade de solubilização dos compostos, independentemente do solvente utilizado. Isso demonstra a significativa importância desse método para futuros estudos e aplicações nas esferas científica e industrial (Silva, 2022).

2.3 INTERAÇÃO ENTRE PLANTAS: ALELOPATIA

As plantas interagem entre si por meio de processos como competição, facilitação e comunicação química, desempenhando papéis fundamentais na composição das comunidades vegetais e ecossistemas. A alelopatia é uma dessas interações, termo derivado das palavras gregas allelon (mútuo) e pathos (prejuízo), definido por Molisch em 1937. Posteriormente, em 1984, Rice caracterizou a alelopatia como a liberação de substâncias químicas no ambiente que podem inibir ou estimular o crescimento e desenvolvimento de outras plantas (Pires e Oliveira, 2011).

Em qualquer processo alelopático, uma planta doadora libera substâncias químicas no ambiente que podem causar efeitos sinérgicos ou antagônicos na fisiologia da germinação, no crescimento ou no desenvolvimento da planta receptora. O efeito alelopático na natureza resulta da ação conjunta de vários aleloquímicos, e não apenas de um único composto. Assim como, a complexidade do processo é dependente de diversas variáveis como o mecanismo de liberação, a estabilidade no meio e a forma como será absorvido (Barrales-Cureño et al., 2022).

Compreender a natureza química dessas substâncias, também chamadas de "aleloquímicos", é essencial para entender a alelopatia. Em geral, esses compostos são metabólitos secundários derivados do metabolismo primário e são liberados no ambiente por meio de lixiviação, volatilização ou decomposição (Santos, 2021).

Os metabólitos secundários podem ser estudados na alelopatia por meio da metabolômica, que identifica e quantifica sistematicamente todos os metabólitos em sistemas biológicos, refletindo suas características fisiológicas e bioquímicas. Alguns

metabólitos influentes no processo alelopático são os compostos fenólicos, flavonoides e saponinas. Algumas plantas conhecidas por seus metabolitos com propriedades alelopáticas são alfafa, centeio, sorgo, arroz, canola e trigo (Barrales-Cureño et al., 2022).

Na natureza, os aleloquímicos liberados pelas plantas podem ter efeitos positivos ou negativos, afetando tanto plantas daninhas quanto cultivadas (Silva, 2018). Esse conhecimento revela um potencial significativo para o desenvolvimento de produtos agrícolas com propriedades bioestimulantes ou bioherbicidas.

2.3.1 Extratos vegetais como bioestimulantes

Na agricultura moderna há uma busca por estratégias que ajudem a aumentar a produtividade, eficiência e lucratividade, e que amenizem os efeitos negativos sofridos durante o plantio, ou seja, que garantam uma melhoria no rendimento. Desta forma, o uso de bioestimulantes é uma excelente alternativa (Cavalcante et al., 2020).

Os bioestimulantes são substâncias naturais que podem ser aplicados diretamente nas plantas, sementes ou solo com o objetivo de melhorar as condições fisiológicas vegetais como "melhorar a qualidade de sementes, estimular o desenvolvimento radicular, favorecer o equilíbrio hormonal da planta e a germinação mais rápida e uniforme, interferir no desenvolvimento vegetal" (Programa Nacional de Bioinsumos, 2020, não paginado) e que promovam a tolerância a estresses abióticos.

Em sua composição, os bioestimulantes podem apresentar aminoácidos, fitohormônios, vitaminas, macro e micronutrientes que são elementos químicos essenciais para o crescimento das plantas. Estes compostos podem ser provenientes de extratos vegetais e demonstrar ampla composição devido a diversidade de moléculas vegetais que podem ser extraídas e aplicadas.

Um dos extratos vegetais mais estudados na aplicação como bioestimulante, é o extrato de moringa (*Moringa oleífera*) (Rehman et al., 2017). Mas também há estudos com a aplicação de outras plantas como o alho (*Allium sativum*) (Eldeen, 2015), funcho (*Foeniculum vulgare*) (Desoky et al., 2020), e alcaçuz (*Glycyrrhiza glabra*) (Desoky et al., 2019).

Os produtos incorporados às sementes estão se tornando mais comuns a cada ano, sendo assim a aplicação de bioestimulantes no tratamento de sementes é

uma alternativa viável que oferece resultados positivos, além de representar menor custo e uma distribuição mais uniforme (Frezato et al., 2021).

2.4 NANOTECNOLOGIA

A capacidade de manipulação de átomos e moléculas no campo nanométrico foi confirmada em 1959 pelo físico norte-americano Richard Feynman com sua palestra durante a conferência da Sociedade Americana de Física. Já o termo "nanotecnologia" foi utilizado pela primeira vez em 1974 pelo professor Norio Taniguchi (Sanfelice, Pavinatto e Corrêa, 2022).

O termo *nano* deriva do grego antigo e significa "anão". Em relação ao tamanho mensurável, 1 nanômetro (nm) equivale a bilionésima parte do metro (1 x 10⁻⁹ m), desta forma uma partícula nesta escala pode ser chamada de nanopartícula. De acordo com a International Standardization Organization (ISO) na normativa 27687 publicada em 2008 o tamanho das nanoparticulas (NPs) se encaixam na escala nanométrica de 1-100 nm (Sanfelice, Pavinatto e Corrêa, 2022).

Uma breve definição de nanotecnologia "é a tecnologia que busca o entendimento de um sistema em nanoescala, com precisão de átomo a átomo, para criar estruturas com uma organização diferenciada" que podem apresentar comportamentos e propriedades distintas daquelas encontradas em materiais conhecidos (Filho e Backx, 2020, p. 2).

A nanotecnologia é uma ciência multidisciplinar, abrange áreas como tecnologia da informação, medicina, engenharia, química, física e biologia. Reconhecida como a tecnologia do futuro, ela sustenta o desenvolvimento econômico e possibilita a criação rápida de inúmeros nanoprodutos e nanoaplicações em diversas áreas das ciências (Hupffer, Pinto e Quevedo, 2021).

2.4.1 Síntese verde

A síntese verde representa um avanço significativo no campo da nanotecnologia, utilizando métodos para a produção de nanopartículas que priorizam a sustentabilidade ambiental e a redução do uso de substâncias tóxicas. Fundamentada na utilização de recursos naturais e em condições de reação ambientalmente favoráveis, a síntese verde visa substituir os processos físicos e

químicos convencionais, alinhando-se aos princípios da química verde (Oliveira, 2018).

A obtenção de nanopartículas através da síntese verde envolve o uso de extratos vegetais, microrganismos, ou outras fontes biológicas como agentes redutores e estabilizadores. Os extratos vegetais, em particular, contêm uma variedade de metabólitos secundários, tais como flavonoides, taninos e alcaloides, que podem desempenhar papéis cruciais na formação das nanopartículas. Estes compostos podem influenciar diretamente o processo de síntese, promovendo a redução dos íons metálicos e a estabilização das nanopartículas formadas (Dúran et al., 2011), resultando em produtos finais que são mais seguros e biocompatíveis (Skłodowski et al., 2023).

Um exemplo de síntese verde é a utilização de chá verde (*Camellia sinensis*) para a formação de nanopartículas de cobre com 6,6 nm, os componentes bioativos presentes no chá verde facilitaram a formação das nanopartículas de cobre (Pelegrino, 2020). Outro exemplo envolve o uso de extrato de folhas de *Moringa oleifera* para a formação de nanopartículas de prata com tamanhos entre 15-29 nm (Mohammed et al., 2022).

A síntese química requer substâncias estabilizadoras, e a síntese física utiliza processos como deposição, queima e moagem. Ambas apresentam como desvantagens o longo tempo de preparo, a necessidade de condições extremas, alto consumo de energia e geração de resíduos tóxicos (Jalab et al., 2021). Portanto, a síntese verde se destaca pela substituição de substâncias químicas tóxicas e condições de reações mais suaves, quando comparada com as sínteses química e física, apresentando sustentabilidade com a utilização de produtos naturais, e oferecendo um método mais seguro e ecologicamente correto para a produção de nanopartículas.

2.4.2 Nanopartículas metálicas

Diversos métodos de síntese são utilizados na produção de nanopartículas. Essas nanopartículas podem ser divididas em duas categorias principais: orgânicas e inorgânicas. As nanopartículas orgânicas incluem aquelas formadas a partir de carbono, enquanto as inorgânicas abrangem variedades como as magnéticas, metálicas e semicondutoras (Mendes, 2015).

Entre as nanopartículas metálicas mais estudadas estão as de prata (AgNPs), cobre (CuNPs), zinco (NPZnO) e ouro (AuNPs), que têm um amplo espectro de aplicações. Exemplos de suas utilizações incluem embalagens de alimentos (Ferreira, 2023), liberação controlada de fármacos (Bezerra et al., 2022), ação bioestimulante e defesa contra fitopatógenos na agricultura (Kaningini et al. 2022), além do desenvolvimento de novas tecnologias.

Uma aplicação que tem se destacado, dentro da área da saúde, é o potencial antimicrobiano das nanopartículas metálicas, amplamente documentado em diversos estudos (Correa et al., 2020; Nyabola et al., 2020; Skłodowski et al., 2023; Korkmaz et al., 2024). A integração de propriedades físicas e químicas únicas consolida o papel dessas nanopartículas como soluções inovadoras para desafios contemporâneos, como a crescente resistência bacteriana.

2.4.3 Nanopartículas metálicas como agentes antimicrobianos

O uso de nanopartículas de metais nobres, especialmente AuNPs, AgNPs e PtNPs, representa uma nova abordagem para combater microrganismos resistentes e reduzir o uso de antibióticos (Susanti, 2022). As nanopartículas provenientes da síntese verde de óxido de cobre mostraram eficácia na erradicação de biofilmes multirresistentes por *Klebsiella pneumoniae* e *Helicobacter pylori* (Naseer et al., 2021). Assim como, as AgNPs sintetizadas com o extrato de *Ficus carica* inibiram os biofilmes de *B. subtilis* e *S. infantis* (Korkmaz et al., 2024).

As AgNPs, em particular, destacam-se por sua alta relação área superficial/volume, o que potencializa sua eficácia biológica, tornando-as ideais para aplicações antimicrobianas (Oselusi et al., 2025). Essas nanopartículas são amplamente empregadas como agentes antibacterianos, sendo eficazes contra diversos microrganismos (Ankudze, Neglo e Nsiah, 2023). Estudos relatam que as AgNPs possuem a capacidade de se fixar rapidamente na membrana celular bacteriana, penetrar no citoplasma e causar morte celular por desnaturação (Nyabola et al., 2020).

Além disso, as AgNPs podem apresentar estruturas prismáticas com múltiplos vértices (Mendes, 2015). Essa característica estrutural facilita ainda mais a interação com a membrana celular, resultando em danos significativos. Dessa forma, devido à sua característica quando combinada com os métodos de síntese sustentável, como

é o caso da síntese verde, permite a incorporação das propriedades bioativas dos extratos vegetais, o que reforça a eficácia no controle de microrganismos patogênicos.

2.4.3.1 Nanopartículas de prata frente microrganismos patogênicos

A biossíntese de AgNPs a partir do extrato aquoso de tamarindo-veludo (*Dialium cochinchinense*) mostrou eficácia na inibição do crescimento microbiano de diversas bactérias e fungos, incluindo *E. coli* (ATCC 25.922), *K. pneumoniae* (NCTC 13.440), MRSA (NCTC 12.493), *S. mutans* (ATCC 700.610), *S. typhi* (ATCC 14.028), *P. aeruginosa* (ATCC 4853), *A. niger* (ATCC 6275) e *Candida albicans* (ATCC 90.028) (Ankudze, Neglo e Nsiah, 2023).

As AgNPs sintetizadas com extrato aquoso de *Aspilia pluriseta* apresentaram maior inibição do crescimento de duas bactérias Gram-positivas, *Bacillus subtilis* e *Staphylococcus aureus*, duas Gram-negativas, *Escherichia coli* e *Pseudomonas aeruginosa*, e ação inibitória contra *Candida albicans*, em comparação com a ação do extrato sozinho (Nyabola et al., 2020).

As AgNPs empregando o extrato de folhas de *Justicia spicigera* com tamanho de 86-100 nm apresentaram ação antibacteriana eficaz frente *B. cereus, K. pneumoniae, E. aerogenes*, e antifúngicas frente *A. alternata* e *M. phaseolina* (Bernardo-mazariegos et al., 2019).

As AgNPs biossintetizadas usando extrato de *Anagallis monelli* com tamanho médio de 22 nm, apresentaram inibição no crescimento de *S. aureus, M. luteus, E. coli, S. marcescens* e *K. pneumoniae* (Dridi et al., 2022).

Assim como, as AgNPs produzidas por síntese verde com o extrato aquoso das folhas de *Ehretia rigida* inibiram efetivamente o crescimento de *S. aureus, S. pyogenes, A. baumannii, E. cloacae, E. coli, K. pneumoniae, P. aeruginosa e C. albicans* (Oselusi et al. 2025).

A biossíntese verde dessas nanopartículas, utilizando extratos de plantas, apresenta uma alternativa sustentável e eficaz aos métodos convencionais de síntese química e física. Neste contexto, ora-pro-nóbis, uma planta conhecida por suas propriedades nutricionais e medicinais, pode servir como uma fonte verde eficiente para a síntese de AgNPs, potencialmente aumentando suas ações antimicrobianas. Isso representa uma importante estratégia no combate às infecções causadas por

microrganismos resistentes, ampliando as possibilidades de tratamento e prevenção de doenças.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A *P. aculeata* se destaca como uma fonte promissora de compostos bioativos com propriedades antioxidantes e antimicrobianas, evidenciando seu potencial para aplicações em alimentos, saúde e agricultura. A escolha do método de extração é essencial para otimizar a obtenção desses compostos, garantindo maior eficiência e sustentabilidade. Além disso, a síntese verde de nanopartículas a partir dos extratos vegetais representa uma alternativa segura e ambientalmente responsável. Pesquisas futuras são essenciais para expandir suas aplicações e fortalecer seu uso em diferentes setores, consolidando a ora-pro-nóbis como um recurso estratégico para o desenvolvimento de novas tecnologias.

REFERÊNCIAS

ALMEIDA, M. E. F. et al. Chemical characterization of the nonconventional vegetable known as ora-pro-nobis. **Bioscience Journal**, v. 30, p. 431-439, 2014.

ANKUDZE, B.; NEGLO, D.; NSIAH, F. Green synthesis of silver nanoparticles from discarded shells of velvet tamarind (*Dialium cochinchinense*) and their antimicrobial synergistic potentials and biofilm inhibition properties. *Biometals*, v. 37, p.143–156, 2024. DOI: 10.1007/s10534-023-00534-5.

ASSIS, R. A., SABIONI, S. C.; OLIVEIRA, A. R. M. F. Potencialidade medicinal e alimentícia da ora-pro-nobis (*Pereskia acuelata*). In SOUZA, C. S.; SABIONI, S. C. **Tópicos especiais em estudos agroecológicos na região sul da bahia**. Científica digital, 2021. p. 157-173.

BARBALHO, S. M. et al. *Pereskia aculeata* Miller Flour: Metabolic Effects and Composition, **Journal of Medicinal Food**, v. 19, n. 9, p. 890–894, 2016.

BARROS, K. N. et al. Desenvolvimento de formulação de uso tópico com ação cicatrizante contendo extrato de *Pereskia aculeata*, **Iniciação Científica CESUMAR**, v. 12, n. 1, p. 29-37, 2010.

BARRALES-CUREÑO, H. J et al. Metabolomics studies of allelopathy: a review. **Revista Colombiana de Ciencias Químico-Farmacéuticas**, Bogotá, v. 51, n. 1, p. 243-274, 2022.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC n. 243, de 26 de julho de 2018. Dispõe sobre os requisitos sanitários dos suplementos alimentares. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília, DF, 27 jul. 2018, não paginado.

BEZERRA, T. P. W.; BANDEIRA, A. R. G.; LIMA, S. H. P. de; ANDRADE, P. L. de. A nanotecnologia aplicada ao desenvolvimento de fármacos: revisão integrativa da literatura. **Research, Society and Development**, [S. I.], v. 11, n. 14, p. e99111436115, 2022.

BERNARDO-MAZARIEGOS, Erick et al. Silver nanoparticles from Justicia spicigera and their antimicrobial potentialities in the biocontrol of foodborne bacteria and phytopathogenic fungi. **Revista Argentina de microbiología**, v. 51, n. 2, p. 103-109, 2019.

BORGES, L. P.; AMORIM, V. A. Metabólitos secundários de plantas. **Revista Agrotecnologia**, v. 11, n. 1, 2020.

CASTRO, M. L.; PRIEGO-CAPOTE, F. Soxhlet extraction: Past and present panacea. **Journal of Chromatography A**, v. 1217, n. 16, p. 2383-2389, 2010.

CARVALHO, R. S. et al. Extratos vegetais na agricultura e suas aplicações no tratamento de sementes. **Ciência Rural**, v. 52, 2021.

CAVALCANTE, W. S. S. et al. Eficiência dos bioestimulantes no manejo do déficit hídrico na cultura da soja. **Irriga**, v. 25, n. 4, p. 754-763, 2020.

CIRÍACO, A. C. DE A.; MENDES, R. DE M.; CARVALHO, V. S. Antioxidant activity and bioactive compounds in ora-pro-nóbis flour (*Pereskia aculeata* Miller). **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 26, p. e2022054, 2023.

COLACITE, J. et al. Avaliação da atividade antimicrobiana de diferentes extratos das folhas de Ora-Pro-Nóbis Evaluation of the antimicrobial activity of different extracts of Ora-Pro-Nobis Leaves. **Brazilian Journal of Development**, v. 8, n. 5, p. 33207-33216, 2022.

CORREA, M. G. et al. Antimicrobial metal-based nanoparticles: A review on their synthesis, types and antimicrobial action. **Beilstein journal of nanotechnology**, v. 11, n. 1, p. 1450-1469, 2020.

CUNHA, E. S. L. et al. Extração com líquido pressurizado: montagem de uma unidade multipropósito laboratorial e desenvolvimento de um procedimento operacional padrão (POP). **Revista Brasileira de Iniciação Científica (RBIC)**, v. 7, n.6, p. 134-149, 2020.

CRUZ, A.F.P. et al. Plantas alimentícias não convencionais: utilização das folhas de "ora-pro-nobis" (*Pereskia aculeata* mill, *Cactaceae*) no consumo humano. **Visão Acadêmica**, v. 21, n. 3, 2020.

DESOKY, E-S. M. et al. Stimulating antioxidant defenses, antioxidant gene expression, and salt tolerance in Pisum sativum seedling by pretreatment using licorice root extract

(LRE) as an organic biostimulant. **Plant Physioloy and Biochemisty**, v. 142, p. 292-302, 2019.

DESOKY, E-S. M. et al. Fennel and ammi seed extracts modulate antioxidante defence system and alleviate salinity stress in cowpea (*Vigna unguiculata*). **Scientia Horticulturae**, v. 272, 2020.

DÚRAN, N. et al. Mechanistic aspects in the biogenic synthesis of extracellular metal nanoparticles by peptides, bacteria, fungi, and plants. **Applied microbiology and biotechnology**, v. 90, p. 1609-1624, 2011.

DRIDI, R. et al. Biosynthesized silver nanoparticles using Anagallis monelli: evaluation of antioxidant activity, antibacterial and antifungal effects. **Journal of Molecular Structure**, v. 1251, p. 1-10, 2022.

ELDEEN, U. M. S. Effect of foliar spray with some natural plant extracts on earliness, productivity and quality of globe artichoke. **J. Product. & Dev.**, v. 20, n. 3, p. 307-324, 2015.

FARIAS, E. A. O.; ARAUJO, T. D. S. Aplicações dos flavonóides em biotecnologia: propriedades terapêuticas e aplicações nanotecnológicas. **Revista Brasileira de Inovação Tecnológica em Saúde**, 2014.

FERREIRA, R. S. et al. Ora-Pro-Nobis (Pereskia aculeata) and its technological applications in foods: a review. **Observatório de la economía latinoamericana**, v. 22, n. 3, p. e3961-e3961, 2024.

FERREIRA, C. S. G. et al. Influência da nanopartícula de ZnO sobre as propriedades da matriz biodegradável de PBAT para aplicação em embalagem de alimentos. *Concilium*, v. 23, n. 18, 2023.

FILHO, S.; BACKX, B. P. Nanotecnologia e seus impactos na sociedade. **Revista Tecnologia e Sociedade**, v. 16, n. 40, p. 1-15, 2020.

FLORA E FUNGA DO BRASIL. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: < http://floradobrasil.jbrj.gov.br/ >. Acesso em: 28 jun. 2023.

FRANCELIN, M. F. et al. Desenvolvimento e caracterização de snack de milho extrusado com adição de farinha de ora-pro-nóbis. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 3, 2021.

FRANCISCO, T. C. T. **Análise de hidrolisados proteicos de** *Pereskia aculeata* **Miller (Ora-Pro-Nóbis)**. 2018. 82 f. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) – Instituto de QUÍMICA, Universidade Estadual Paulista, 2018.

FREZATO, P. et al. Ação de bioestimulantes e nutrientes via tratamento de sementes na germinação e desenvolvimento de plântulas de *Glycine Max* L. **Brazilian Journal of Development**, v. 7, n. 2, p. 18674-18679, 2021.

- GARCIA, J. A. A. et al. Phytochemical profile and biological activities of 'Ora-pro-nobis' leaves (*Pereskia aculeata* Miller), an underexploited superfood from the Brazilian Atlantic Forest. **Food Chemistry**, v. 294, p. 302-308, 2019.
- HEEMANN, A. C. W. et al. Extração de polifenóis de erva-mate verde assistida por enzimas. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 22, 2019.
- HENRIQUE, A. D. S.; LOPES, G. C. Biodiversidade e a indústria de cosméticos: o uso dos flavonoides contra o envelhecimento cutâneo. **Uningá Review**, v. 29, n. 2, 2017.
- HUPFFER, H. M.; PINTO, M. A. B.; QUEVEDO, D. M. Produtividade científica sobre nanotecnologia (2007-2019). **Revista ACB: Biblioteconomia em Santa Catarina**, v. 26, n. 2, p. 6, 2021.
- JALAB, J.; ABDELWAHED, W.; KITAZ, A.; AL-KAYALI, R. Green synthesis of silver nanoparticles using aqueous extract of Acacia cyanophylla and its antibacterial activity. Heliyon, v. 7, n. 9, 2021.
- JARDIM, F. C, et al. Antioxidant evaluation of *Pereskia aculeata* Mill in natura, shadedried, and sun-dried. *Brazilian Journal of Development*, Curitiba, v. 7, n. 9, p. 89906-89925, 2021.
- KANINGINI, A. G. Et al. Metal nanoparticles in agriculture: a review of possible use. **Coatings**, Basel, v. 12, n. 10, p. 1586, 2022. Disponível em: https://doi.org/10.3390/coatings12101586.
- KINUPP, V. F.; BARROS, I. B. I. Teores de proteína e minerais de espécies nativas, potenciais hortaliças e frutas, **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 4, n. 28, p. 846-857, 2008.
- KORKMAZ, N. et al. Eco-friendly biogenic silver nanoparticles: synthesis, characterization and biological applications. **International Journal of Environmental Science and Technology**, 2024. Disponível em: https://doi.org/10.1007/s13762-024-05860-w.
- MACIEL, V. B. V. et al. Ora-pro-nobis (*Pereskia aculeata* Miller): a potential alternative for iron supplementation and phytochemical compounds. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 24, 2021.
- MACEDO, M.C.C. et al. Elaboration and Characterization of Pereskia aculeate Miller Extracts Obtained from Multiple Ultrasound-Assisted Extraction Conditions. **Metabólitos**, v. 13, n. 691, 2023. https://doi.org/10.3390/metabo13060691.
- MOHAMMED, A. B. A. et al. Antioxidant and antibacterial activities of silver nanoparticles biosynthesized by Moringa Oleifera through response surface methodology. Journal of Nanomaterials, v. 2022, p. 1-15, 2022.
- MARQUES, L. C. Preparação de extratos vegetais. Jornal Brasileiro de Fitomedicina, v. 3, n. 2, p. 71-74, 2005.

- MENDES, J. E. Estudo in vitro da atividade aintifúngica de nanopartículas de prata em fungos de armazenamento de soja (*Glycine max*). 157 f. Tese de doutorado em Biotecnologia Universidade Federal de São Carlos, 2015.
- MORAES, T. V. et al. Potencial antioxidante da espécie *Pereskia aculeata* Miller: uma análise bibliométrica. **Brazilian Journal of Surgery and Clinical Research BJSCR**, v.29, n.1, p. 79-85, 2019.
- NASEER, M. et al. Facile green synthesis of copper oxide nanoparticles for the eradication of multidrug resistant Klebsiella pneumonia and Helicobacter pylori biofilms. **International Biodeterioration & Biodegradation**, v. 159, p. 105201, 2021. https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2021.105201.
- NYABOLA, A.O. et al. Formation of Silver Nanoparticles via *Aspilia pluriseta* Extracts Their Antimicrobial and Catalytic Activity. **J Inorg Organomet Polym**, p. 3493–3501 (2020). https://doi-org.ez89.periodicos.capes.gov.br/10.1007/s10904-020-01497-7
- OLIVEIRA, L. F. Eficiência dos métodos de extração para obtenção de lactonas sesquiterpênicas: uma revisão sistemática. 65 f. Monografia de graduação (Bacharel em Engenharia Química) Unidade de Ensino Superior de Feira de Santana, Feira de Santana, 2020.
- OLIVEIRA, G. Z. S. Síntese verde de nanopartículas de prata utilizando extrato aquoso e metabólito secundário (quercetina) das folhas de *Pterodon emarginatus* (sucupira branca) direcionadas para aplicações biomédicas e agrícolas. 220 f. Tese de doutorado (Nanociência e nanobiotecnologia) Universidade de Brasília, 2018.
- OSELUSI, S. O. et al. Phytofabrication of silver nanoparticles using *Ehretia rigida* leaf aqueous extract, their characterization, antioxidant and antimicrobial activities. Materials Today Sustainability, v. 29, p. 101059, 2025.
- ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE. Resistência antimicrobiana: plano de ação global preliminar sobre resistência aos antimicrobianos. Genebra: WHO, 2015. Disponível em: http://apps.who.int/gb/ebwha/pdf_files/WHA68/A68_20-en.pdf. Acesso em: 28 fev. 2025.
- PASSOS, F. R. Extração e processamento de folhas de *Pereskia aculeata* Miller empregando tecnologia verde. 2022. 112 f. Tese (Doutorado em Engenharia química) Campus Toledo, Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Toledo-PR, 2022.
- PELEGRINO, M. T. et al. Effects of copper oxide nanoparticles on growth of lettuce (*Lactuca sativa* L.) seedlings and possible implications of nitric oxide in their antioxidative defense. **Environmental Monitoring and Assessment**, v. 192, p. 1-14, 2020.
- PINTO, N. C. et al. *Pereskia aculeata* Miller leaves present in vivo topical antiinflammatory activity in models of acute and chronic dermatitis. **Journal of Ethnopharmacology**, 2015.

- PIRES, N. M.; OLIVEIRA, V. R. Alelopatia. In: OLIVEIRA, R. S.; CONSTANTIN, J.; INOUE, M. H. Biologia e manejo de plantas daninhas. Curitiba: Omnipax, 2011. p. 95-123.
- PIVA, S. F. et al. Mucilage of *Pereskia aculeata* Miller as cryoprotectant of frozen strawberries: Preservation of bioactive compounds and microstructure. Journal of Food Process Engineering, v. 48, n. 1, e70027, jan. 2025. DOI: 10.1111/jfpe.70027.
- POCAI, A. V. et al. **Produção de bebida fermentada enriquecida com ora-pronóbis (Pereskia aculeata).** Produtos Lácteos: Desenvolvimento & Tecnologia, 2020. Disponível em: https://www.meridapublishers.com/l3lacteos/l3capitulo4.pdf. Acesso em: 03 ago. 2023.
- PLANO DE AÇÃO NACIONAL PARA A CONSERVAÇÃO DAS CACTÁCEAS. Brasília: Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade, Icmbio, 2011. Disponível em https://www.gov.br/icmbio/pt-br/assuntos/biodiversidade/pan/pan-cactaceas/1-ciclo/pan-cactaceas-livro.pdf> Acesso em 28 jun. 2023.
- PRADO, H. A. P. S.; AUGUSTINHO, B. F.; PINTO, E.G. produtos enriquecidos com ora-pro-nóbis: revisão de literatura. In: OLIVIERA, K. A. R. et al. **Nutrição nos ciclos da vida Pesquisas e avanços**. Rio Grande do Norte: Agron Food Academy, 2022.
- PROGRAMA NACIONAL DE BIOINSUMOS. Brasil: Ministério da agricultura e pecuária, 2020, não paginado. Disponivel emhttps://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/inovacao/bioinsumos/o-programa/conceitos> Acesso em 24 fev. 2024.
- QUEIROZ, C. R. A et al. Ora-pro-nóbis em uso alimentar humano: percepção sensorial. **Revista Verde**, v. 10, n. 3, p. 01-05, 2015.
- REHMAN, H. U. et al. Moringa leaf extract improves wheat growth and productivity by affecting senescence and source-sink relationship. **Int. J. Agric. Biol.**, v. 19, n.3, p. 479-484, 2017.
- ROSA, S. M.; SOUZA, L. A. Morfo-anatomia do fruto (hipanto, pericarpo e semente) e anatomia do fruto (hipanto, pericarpo e semente) em desenvolvimento de Pereskia aculeata Miller (Cactaceae), **Acta Scientiarum. Biological Sciences**, Maringá, v. 25, n. 2, p. 415-428, 2003.
- RODRIGUES, L. C. Obtenção de tintura de folha de maracujá (Passiflora edulis Sims) com extração por líquido pressurizado: estudo da cinética de extração, aumento de escala e análise econômica. Dissertação de mestrado (Mestre em engenharia de alimentos) Universidade de São Paulo, 2021.
- RUPPELT, B. M. et al. **Plantas medicinais utilizadas na região oeste do Paraná**. Curitiba: UFPR, 2015.
- SANFELICE, R. C., PAVINATTO, A., CORREA, D., & CORREA, D. S. Introdução à nanotecnologia. In: NANOTECNOLOGIA aplicada a polímeros. São Paulo: Blucher, cap. 1, 2022.

- SILVA, B. M. Avaliação da composição e do rendimento global dos extratos vegetais do orapro-nobis (*Pereskia aculeata* Mill.) oriundos de diferentes métodos de extração. 2022. 130 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia química) Centro Tecnológico, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2022.
- SILVA, A. F. et al. Métodos de controle de plantas daninhas. In: OLIVEIRA, M. F.; BRIGHENTI, A. M. (Org.). Controle de plantas daninhas: métodos físico, mecânico, cultural, biológico e alelopatia. Brasília: Embrapa, 2018. p. 11-33.
- SANTOS, F. P. A alelopatia em ecossistemas agrícolas. 2021. 18 f. Monografia (Graduação em Tecnologia em Horticultura) Instituto Federal Goiano, Campos Cristalina, 2021.
- SILVEIRA, M. G. Ensaio nutricional de Pereskia spp.: Hortaliça não convencional. 2016. 174f. Tese de Doutorado. Tese (Doutorado em Ciência dos Alimentos) Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2016.
- SOARES, N. P. et al. Técnicas de prospecção fitoquímica e sua importância para o estudo de biomoléculas derivadas de plantas. **Enciclopédia biosfera**, v.13, n.24, p.991-1010, 2016.
- SOARES, L. C.; CASTRO, A. B.; MARTINS, M. V. Potencial antioxidante e valor nutricional das folhas da ora-pro-nóbis (*Pereskia aculeata* Miller): um estudo de revisão. **Brazilian Journal of Development**, v.8, n.1, p. 6649-6659, 2022.
- SOUSA, A. P. et al. Aplicação de ultrassom de sonda na obtenção de compostos bioativos derivados de matriz vegetal. **Revista Mundi Engenharia, Tecnologia e Gestão (ISSN: 2525-4782)**, v. 7, n. 3, 2022.
- SOUSA, R. R; GASPAROTI, P. S.; PAULA, J. A. M. Obtenção de extratos de plantas medicinais: uma revisão de escopo dos métodos extrativos modernos em comparação ao método clássico por soxhlet. **Revista Movimenta**, v.15, n.1, p. 1-14, 2022.
- SOUZA, L. F. et al. *Pereskia aculeata* Muller (Cactaceae) Leaves: Chemical Composition and Biological Activities. **Int J of Mol Sci**, 2016.
- SOUZA, A. G.; SOUZA, E. S.; OLIVEIRA, E. R. Óleo de farelo de arroz: características, métodos de extração e aplicações na indústria. 45 f. Trabalho de Graduação (Tecnólogo em processos químicos) Faculdade de Tecnologia de Campinas, Campinas, 2022.
- SUSANTI, Deny et al. Natural products-based metallic nanoparticles as antimicrobial agents. **Frontiers in Pharmacology**, v. 13, p. 895616, 2022.
- SKŁODOWSKI, Karol et al. Metallic nanosystems in the development of antimicrobial strategies with high antimicrobial activity and high biocompatibility. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 24, n. 3, p. 2104, 2023.
- TAKEITI, C. Y. et al. Nutritive vegetable (*Pereskia aculeata* Mill). **Internacional Journal of Food Sciences and Nutrition**, v. 60, n. 1, p. 1-13, 2009.

TORRES, T. M. S. et al. Neuroprotective potential of extracts from leaves of ora-pronobis (*Pereskia aculeata*) recovered by clean compressed fluids. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 179, p. 105390, 2021.

TSUKUI, A.; REZENDE, C. M. Extração assistida por micro-ondas e química verde. **Revista virtual de química**, v. 6, n. 6, p. 1713-1725, 2014.

ZEM, L. M. et al. Análise nutricional de farinha de folhas e caules de *Pereskia aculeata Mill.* (Cactaceae). **Natureza Online**, v. 17, n. 1, p. 041-050, 2019.

- 1 CAPÍTULO 1 POTENCIAL BIOATIVO DO EXTRATO ETANÓLICO DE ORA-PRO-
- 2 NÓBIS (Pereskia aculeata Miller) OBTIDO POR ULTRASSOM: PERFIL
- 3 FITOQUÍMICO, ATIVIDADE ANTIOXIDANTE, ANTIMICROBIANA E EFEITOS NA
- 4 GERMINAÇÃO DE SEMENTES

5 6

Adriá Braun Vieira¹; Jéssica Rosset¹; Carina Contini Triques²; Mônica Lady Fiorese²; Jaqueline Malagutti Corsato¹; Patricia da Costa Zonetti³; Fabiana Gisele da Silva Pinto¹

7 8 9

10

¹Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Cascavel, Paraná, Brasil; ²Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Toledo, Paraná, Brasil; ³Universidade Federal do Paraná, Departamento de Ciências Agrônomicas, Palotina, Paraná, Brasil

11 12

13

14

15

16

17

18 19 20

21

22

23

24

25

26

27

28

29

30

31

32

33

34

35

36

37

38

39

40

41

42

HIGHLIGHTS

- Identificação de compostos bioativos, incluindo saponinas, esteroides, triterpenos e flavonoides.
- Elevada atividade antioxidante demonstrada pelos ensaios DPPH, ABTS e quantificação de compostos fenólicos.
- Atividade antimicrobiana comprovada frente a bactérias Gram-positivas e Gramnegativas.
- Potencial alelopático do extrato, estimulando a germinação de sementes de alface em baixas concentrações.

Resumo: A Pereskia aculeata Miller, conhecida como ora-pro-nóbis (OPN), é amplamente reconhecida por seu perfil fitoquímico rico em compostos bioativos, contudo ainda carece de estudos explorando seu potencial. Dessa forma, o perfil fitoquímico e potencialidades antioxidantes, antimicrobianas e alelopáticas foram investigadas. A capacidade antioxidante foi quantificada pelos métodos DPPH e ABTS, além da determinação de compostos fenólicos totais. A atividade antimicrobiana foi avaliada por meio dos métodos de concentração inibitória mínima (CIM) e concentração bactericida mínima (CBM). Ensaios de germinação foram realizados com sementes de alface (Lactuca sativa L.) em placas de Petri, e o crescimento inicial da soja (Glycine max L.) foi avaliado em rolos de papel Germitest. O teor de lipoperóxidos foi quantificado por malondialdeído (MDA). A análise fitoquímica do extrato etanólico revelou a presença de saponinas, esteroides livres, triterpenos pentacíclicos, alcaloides, flavonas, flavonóis, xantonas e flavonoides. O extrato demonstrou atividade antioxidante significativa, com valores de 23,39 µmol Trolox.g⁻¹ no ensaio DPPH, 119,62 µmol Trolox.g⁻¹ no ABTS e 120,99 mg EAG.g⁻¹ de compostos fenólicos totais. Atividade antimicrobiana foi observada frente a bactérias Gram-positivas e Gram-negativas. O extrato estimulou a germinação de sementes de alface nas concentrações de 0,25 e 0,50 mg/mL, reduzindo o tempo médio de germinação. Já a concentração de 8 mg/mL, apresentou efeito contrário. Esses resultados indicam que o extrato etanólico da P. aculeata possui potencial tanto como agente antioxidante e antimicrobiano quanto como modulador do crescimento vegetal, com aplicações promissoras em contextos farmacológicos e agroecológicos.

Palavras-chaves: ora-pro-nóbis 1; alelopatia 2; atividades biológicas 3.

43

INTRODUÇÃO

 Pereskia aculeata Miller, conhecida popularmente como ora-pro-nóbis, é uma planta nativa da América Central e Sul, reconhecida por suas propriedades medicinais e nutricionais [1] e suas folhas são ricas em proteínas, vitaminas e minerais [2]. Os compostos secundários desta planta já identificados são os flavonoides, saponinas, taninos [3], alcaloides [4] cumarinas [5], além de uma gama de antioxidantes e compostos fenólicos [6].

Para garantir a integridade desses compostos bioativos e otimizar o rendimento durante a extração, é crucial empregar métodos modernos de extração eficientes e sustentáveis [7]. Nesse sentido, a extração assistida por ultrassom tem se mostrado uma abordagem promissora, destacando-se por sua eficácia na permeabilidade das paredes nas células vegetais e na liberação dos compostos desejados, além de permitir um processamento mais rápido [8].

A extração dos compostos bioativos e sua identificação são fundamentais para a produção de extratos com aplicações específicas e elevado potencial terapêutico [9]. A atividade antioxidante é de particular interesse devido ao seu papel na neutralização de radicais livres, contribuindo tanto para a prevenção de doenças quanto para a extensão da vida útil de produtos alimentícios e farmacêuticos [10]. Além disso, os extratos de *P. aculeata* possuem propriedades antimicrobianas comprovadas contra diversas bactérias, como *Staphylococcus aureus* [11], *Bacillus cereus*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Escherichia coli* [12]. Para tanto, a combinação dessas atividades torna o extrato de *P. aculeata* promissor para o desenvolvimento de novos produtos.

Outro aspecto relevante e ainda pouco explorado é o potencial alelopático de *P. aculeata* em sementes. Até o momento, o único estudo realizado nessa área foi um teste de citotoxicidade [13], evidenciando a necessidade de mais pesquisas sobre o uso do extrato etanólico dessa planta em sementes. Estudos recentes indicam que extratos vegetais têm sido cada vez mais utilizados na agricultura, sendo a aplicação desses extratos em sementes voltada principalmente para o controle de fitopatógenos e como bioestimulantes [14]. Em particular, a capacidade bioestimulante desses extratos pode desempenhar um papel importante no aumento da produtividade agrícola [15].

Diante disso, *P. aculeata* representa uma fonte valiosa de compostos bioativos com diversas potencialidades, aplicáveis nas áreas de nutrição, farmacêutica e agricultura. Assim, o presente estudo teve como objetivo explorar o perfil fitoquímico, analisar a atividade antioxidante e antimicrobiana, além do potencial efeito do extrato etanólico das folhas da espécie, obtido por ultrassom, em sementes de alface e no crescimento inicial da soja.

MATERIAL E MÉTODOS

COLETA DO MATERIAL VEGETAL

As folhas foram coletadas de uma planta adulta de *P. aculeata* localizada próxima ao Horto de Plantas Medicinais e Aromáticas da UFPR, na cidade de Palotina-PR, com as coordenadas -24°10'08" S -53°50'27" O. Uma excicata da planta foi depositada no Herbário da Flora e dos Fungos do Oeste do Paraná (FFOP) com o número de registro 1479. Após triagem das folhas (maduras, sem manchas, enrugadas, fungadas ou com traços de insetos), o material vegetal coletado foi colocado em estufa com circulação de ar forçada durante 5 dias com temperatura de 40°C para secagem. Em seguida, as folhas secas foram submetidas à trituração em um moinho de facas tipo Willey, resultando em um pó fino [16]. Esse pó foi acondicionado em frasco de vidro protegido por papel alumínio e armazenado a 20°C no Laboratório de Microbiologia e Biotecnologia – LAMIBI da UNIOESTE em Cascavel-PR.

PREPARO DO EXTRATO ETANÓLICO DE P. aculeata

O extrato etanólico foi obtido em equipamento Ultrassom do tipo sonda do modelo UltraSonic Vibra cell vcx 750, com ponteira de titânio de 13 mm de diâmetro. Um reator de vidro encamisado de 250 mL foi acoplado a um banho termostático que controla a temperatura. A amostra e o solvente foram adicionados neste reator e a sonda inserida a uma profundidade de 0,5 cm da mistura. Utilizou-se etanol absoluto como solvente em uma razão solvente/massa de 20 mL g⁻¹. O tempo de extração foi de 10 minutos com temperatura de 60°C, conforme procedimento já otimizado por Passos [17]. Após a extração, o extrato passou por filtração com bomba de vácuo. O solvente foi então evaporado a 50 °C e o extrato bruto pesado para determinação do rendimento conforme razão de massa de extrato por massa de *P. aculeata* previamente utilizada. Armazenou-se o extrato a -20 °C até posteriores análises.

PERFIL FITOQUÍMICO DO EXTRATO DE P. aculeata

Os ensaios para a detecção da presença de compostos bioativos, como: alcaloides, saponinas, esteroides, triterpenoides, antocianinas, antocianidinas, flavonoides, taninos e cumarinas foram realizados de acordo com a metodologia desenvolvida por Matos [18].

QUANTIFICAÇÃO DE COMPOSTOS FENÓLICOS E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DO EXTRATO ETANÓLICO

Quantificação de compostos fenólicos (CF)

Para a quantificação dos compostos fenólicos, o extrato foi diluído em etanol na concentração de 1 mg/mL. A este extrato, acrescentou-se solução 100 μL do reagente Folin-Ciocalteau (1:4), se esperou por 4 minutos, e então foi adicionado 75 μL de carbonato de sódio (100g/L). Após 2 h ao abrigo de luz, as absorbâncias foram lidas em leitora de microplacas (Loccus - LMR -96-8) a 750 nm e os resultados correlacionados com uma curva padrão de ácido gálico (1,5 a 200 μg mL⁻¹), expressos como mg equivalente de ácido gálico por grama de extrato (mg_{EAG}.g⁻¹) [19].

Ensaio de atividade antioxidante pelo método - 2,2-difenil-1-picrilhidrazil (DPPH)

Na captura do radical DPPH por antioxidante, o extrato foi diluído com etanol na concentração de 2,5 mg/mL e levada ao vórtex para homogeneização. Ao extrato, acrescentou-se 100 μL da solução do DPPH preparada a 0,03 mmol/L. Após 30 minutos ao abrigo de luz, as absorbâncias foram lidas em leitora de microplacas (Loccus - LMR -96-8) a 515 nm e os resultados correlacionados com uma curva padrão de Trolox (11,71 a 200 μmol L⁻¹), expressos em μmol de trolox por grama de extrato (μmol_{Trolox}.g⁻¹) [20].

Ensaio de atividade antioxidante pelo método - Ácido 2,2'-azino-bis(3-etilbenzotiazolina-6-sulfônico) (ABTS)

O ensaio da estabilização do radical ácido 2,2'-azino-bis(3-etilbenzotiazolina-6-sulfônico) (ABTS) contou com a diluição do extrato a 1 mg/mL, acrescentou-se 100 μL da solução do radical ABTS (ABTS + persulfato de potássio). Após 10 minutos ao abrigo de luz, as absorbâncias foram lidas em leitora de microplacas (Loccus - LMR -96-8) a 750 nm e os resultados correlacionados com uma curva padrão de Trolox (11,71 a 200 μmol L-1), expressos em μmol de trolox por grama de extrato (μmol_{Trolox}.g-1) [20].

ENSAIO DE ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DO EXTRATO ETANÓLICO DE P. aculeata

Determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM) e Concentração Bactericida Mínima (CBM)

As bactérias utilizadas foram provenientes da coleção American Type Culture Colletion (ATCC): Escherichia coli (ATCC 25922), Pseudomonas aeruginosa (ATCC 27853), Salmonella Enteritidis (ATCC 13076), Klebsiella pneumoniae (ATCC 13883), Staphylococcus aureus (ATCC 25923), Enterococcus faecalis (ATCC 19433) e Listeria monocytogenes e da Coleção de Culturas Cefar Diagnóstica (CCCD): Bacillus subtillis (CCD-04). As bactérias foram crescidas em caldo BHI (Brain Heart Infusion Broth) durante 24h e, posteriormente, repicados para placas de Ágar Nutriente (NA) para obtenção de colônias isoladas, que foram utilizadas para padronização do inóculo em solução salina a 0,85%, atingindo uma concentração final de 1x10⁵ UFC/mL.

A CIM é a menor concentração do extrato capaz de inibir o crescimento dos microrganismos e foi realizada conforme as normas do *Clinical and Laboratory Standards Institute* - CLSI [21], com adaptações por Santos [22]. Em placas de microdiluição de 96 poços foram adicionados 150 μL de Caldo MH (Müller-Hinton Broth) em todos os poços a partir da segunda coluna, 300 μL do extrato vegetal foi acrescentado no primeiro poço para realização da microdiluição de 100 até 0,09 μL/mL nos poços posteriores. Em cada poço foi adicionado 20 μL do inóculo dos microrganismos citados anteriormente.

Foi realizado o controle negativo, o controle do diluente (tween 80), o controle de esterilidade, e como controle positivo foi utilizado o antibiótico comercial gentamicina (200 mg mL⁻¹). As placas foram levadas à incubação por 24 h a 35°C. Todos os testes foram realizados em triplicata.

Após o período de incubação, foram retirados 2 μL para a realização da CBM, os quais foram transferidos para placas de MH e incubados a 35°C por 24 horas para observação da presença ou ausência do crescimento bacteriano. Em seguida, foram adicionados 20 μL de solução de cloreto de trifenil tetrazólio (TTC) a 0,5% em cada poço das microplacas, que foram incubadas por mais 2 horas a 35°C. A formação de coloração avermelhada nos poços indicou a ausência de efeito inibitório do extrato, enquanto a ausência de coloração indicou a ação inibitória do extrato.

ENSAIO DE GERMINAÇÃO DE SEMENTES DE ALFACE

O ensaio foi realizado para avaliar o efeito de sete diferentes concentrações do extrato etanólico de *P. aculeata*, na germinação de sementes de alface. As sementes foram adquiridas comercialmente com lote 0014002110000020 da marca Feltrin.

Os tratamentos consistiram de embebição das sementes por 2 horas [23]. No controle 1 (T1) foi utilizado água destilada, e no controle 2 (T2) água destilada e tween 0,1%. Foram avaliadas as concentrações de extrato de *P. aculeata*, 0,12, 0,25, 0,5, 1, 2, 4 e 8 mg/mL nos tratamentos T3, T4, T5 e T6, T7, T8 e T9, respectivamente, os extratos foram diluídos com tween 80 a 0,1%.

O ensaio foi conduzido em placas de Petri (90x15mm) com 2 folhas de papel germitest ao fundo. Estas folhas foram umedecidas com 6 mL de água destilada. Em seguida, foram distribuídas 25 sementes de alface em cada placa. Foram realizadas 5 repetições por tratamento.

O experimento foi conduzido em estufa de crescimento vegetal tipo B.O.D. com regime fotoperiódico de 12 horas luz/escuro a 25°C, conforme as Regras de Análise de Sementes - RAS [24].

Após a instalação do experimento, as sementes germinadas foram contabilizadas a cada 24 horas por 7 dias, sendo considerada como germinada as sementes com protusão de radícula de ao menos 2 mm [25]. Ao final de 7 dias foram determinados a porcentagem de germinação (%G), o índice de velocidade de germinação (IVG) e o tempo médio de

germinação (TMG). Foram realizadas as medidas de comprimento da raiz da plântula com auxílio de uma régua e expressas em cm.

O IVG foi obtido de acordo com Maguire [26] da seguinte forma: IVG = (G1/N1) + (G2/N2) +...+ (Gn/Nn), de forma que: IVG = índice de velocidade de germinação; G = número de sementes germinadas; N = número de dias 1º, 2º... 7º da avaliação. O TMG foi calculado segundo Edmond e Drapala [27] com a multiplicação de sementes germinadas pelo dia e o total dividido pelo número de sementes por placa. A frequência e sincronização da germinação seguiu de acordo com Labouriau e Agudo [28].

Os dados de IVG, %G, TMG e comprimento da raiz foram submetidos a análise de variância (ANOVA) e o agrupamento de médias foi realizado por Scott-Knott a 5% de significância, através do software Sisvar [29].

CRESCIMENTO INICIAL DE PLÂNTULAS DE SOJA

Para o ensaio de crescimento inicial da soja foram utilizadas plântulas com 3 a 5 cm de comprimento de raiz primária. Utilizou-se 10 plântulas por repetição em cada tratamento. As sementes da cultivar M6410IPRO do lote 22301A141/1 foram germinadas como preconizada pela RAS [24]. As raízes das plântulas foram embebidas sob aeração durante 24h nos tratamentos com extrato etanólico nas concentrações de 0,12, 0,25, 0,5, 1, 2, 4 e 8 mg/mL, sendo considerados T3, T4, T5 e T6, T7, T8 e T9 respectivamente. Foram realizados dois controles: T1 com água destilada e T2 com água destilada e tween 80 a 0,1%.

Após 24 horas, as plântulas foram colocadas em rolos de papel germitest por 7 dias até a avaliação. Foram obtidas comprimento de raiz primária e comprimento de parte aérea com o auxílio de uma régua, e biomassa seca de parte raiz primária e parte aérea foram colocadas na estufa por 24h a 60°C e pesadas em balança de precisão e expressas em mm. Esses parâmetros foram submetidos a análise de variância (ANOVA) e o agrupamento de médias foi realizado por Scott-Knott a 5% de significância, através do software Sisvar [29].

DETERMINAÇÃO DOS TEORES DE LIPOPERÓXIDOS DE RAÍZES

Foram utilizadas raízes de plântulas de todos os tratamentos para determinação de lipoperóxidos. As raízes foram separadas da plântula e maceradas com nitrogênio líquido, sendo então, armazenadas em um freezer a -20°C.

Para determinar o Malondialdeído (MDA), pesou-se entre 300 mg a 400 mg do material já macerado com nitrogênio líquido. As amostras foram homogeneizadas em 5 mL de solução de extração de tiobarbitúrico (TBA) a 0,25% e tricloroacético (TCA) a 10%. A solução foi transferida para tubos de ensaio com rosca. Os tubos foram incubados em banho úmido a 90°C por 1 hora. Após a incubação, foram transferidos para uma bandeja de plástico com gelo para resfriamento. Em seguida, os tubos foram centrifugados a 2000 rpm por 5 minutos. O sobrenadante coletado de cada amostra foi submetido à leitura em um espectrofotômetro UV-visível nas absorbâncias de 560 nm e 600 nm (Heath e Packer [30], citados por Rama Devi e Prasad [31]).

Para o cálculo utilizou-se do coeficiente de extinção molar do malondialdeído (155 nmol.L⁻¹), sendo então estabelecida a equação:

nmol de substâncias reativas ao TBA.g $^{-1}$ = $\frac{((((leitura 560nm - leitura 600nm)* 155)* 1000)*5)}{Massa da amostra em mg}$

RESULTADOS E DISCUSSÕES

261

262 263

264 265

266

267

268

269

270

271

272

273

274

275

276 277

278

279

280

281

282

283

284

285

286

287

288

289 290

291

292 293

294

PERFIL FITOQUÍMICO DO EXTRATO P. aculeata

Em relação ao rendimento do extrato etanólico, foi observado um rendimento de 6,34% utilizando o método de extração assistida por ultrassom do tipo sonda. Ao comparar os rendimentos do extrato etanólico de P. aculeata obtidos por diferentes métodos de extração Silva [8] encontrou rendimento inferior de 3,01% com o mesmo método de ultrassom, porém em condições diferentes de execução, além disso ele obteve 9,71% com o método de Soxhlet e 3.83% com o método de fluido supercrítico.

Embora os rendimentos tenham variado, o ultrassom ainda é a melhor escolha entre outros métodos, pois oferece a redução do tempo de extração, boa capacidade de solubilização dos compostos independente do solvente [8], o que justifica seu requisito como sustentável em relação aos métodos convencionais, e também apresenta facilidade de operação e equipamento com custo acessível quando comparado com os métodos modernos

De modo que, o ultrassom não apenas apresentou um rendimento maior neste estudo (6,34%) em comparação com o rendimento de 3,83% por método de extração por fluido supercrítico [8], mas também oferece vantagens adicionais. O método de fluido supercrítico exige equipamentos mais sofisticados e altos custos operacionais, devido à necessidade de altas pressões e controle rigoroso de temperatura. Em contraste, o ultrassom é mais acessível, requer equipamentos mais simples e pode ser realizado sob condições mais suaves de temperatura e pressão, tornando-se uma escolha eficiente e viável para a extração de compostos bioativos [7].

A análise fitoquímica do extrato etanólico das folhas de P. aculeata revelou a presença de saponinas, esteroides livres, triterpenos pentacíclicos, alcaloides, flavonas, flavonóis, xantonas e flavonoides (Tabela 1). Em outro estudo do extrato aguoso das folhas de P. aculeata foram encontrados flavonoides, taninos, além de cumarinas e compostos fenólicos [5]. Foram também identificados por Oliveira e Rocha [3] nas folhas desta espécie, flavonoides, saponinas e taninos e por Jardim et al. [4] alcaloides, flavonoides, taninos e saponinas.

Tabela 1. Composição fitoquímica do extrato etanólico das folhas de Pereskia aculeata Miller obtido nor extração assistida nor ultrassom

por extração assistida por utilassom	
Metabólitos secundários	Resultados*
Saponinas	+
Esteroides triterpenos	-
Esteroides livre	+
Triterpenos pentacíclicos	+
Alcaloides	+
Antocianinas e antocinidinas	-
Flavonas, flavonóis, xantonas	+
Chalconas e auronas	-
Flavonoides	+
Fenóis	-
Taninos pirogálico	-
Taninos flabobênicos	-
Cumarinas	-

*(+) presença do composto (-) ausência do composto

A variação na composição fitoquímica de uma mesma espécie pode ser influenciada por fatores internos, como a fase vegetativa e a idade da planta, bem como por fatores externos,

295 296

298

297

incluindo o clima, a composição do solo e os períodos de radiação solar, estações do ano [32]. Adicionalmente, a preparação do extrato como a escolha do método de extração e as condições de execução como temperatura, pressão e tempo, e até mesmo o tipo de solvente também podem influenciar na eficiência extrativa dos compostos [7]. Sendo então, provável que a diferença entre a presença de taninos nos extratos aquosos e a ausência de taninos no extrato etanólico deste estudo tenha se dado pela escolha do solvente.

Assim, é provável que a diferença entre os metabólitos identificados seja decorrente desses fatores, com destaque para o tipo de solvente utilizado, que no presente estudo foi o etanol. Diante disso, a bioprospecção se torna essencial, pois permite a identificação de compostos bioativos conforme a espécie utilizada, a escolha do método e do solvente de extração.

QUANTIFICAÇÃO DE COMPOSTOS FENÓLICOS E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DO EXTRATO ETANÓLICO

Os resultados deste estudo, obtidos a partir do extrato etanólico foliar de *P. aculeata* utilizando ultrassom por sonda, revelaram uma concentração de compostos fenólicos de 120,99 mg EAG g⁻¹ (Tabela 2). Esse valor é significativamente superior aos 2,35 mg EAG g⁻¹ registrados no extrato hidroalcoólico, obtido por banho ultrassônico com 10 minutos de extração, conforme Macedo et al. [11]. Estudos anteriores indicam que o uso de sonda ultrassônica para extração de biomoléculas proporciona um desempenho superior em relação ao banho ultrassônico [33]. Além disso, ao comparar esses resultados com o extrato hidroalcoólico obtido por maceração de *P. aculeata*, que apresentou teor de compostos fenólicos de apenas 1,01 mg EAG g⁻¹ [1], observa-se que o extrato etanólico oferece um rendimento substancialmente maior em comparação aos dois casos, e este resultado pode ter sido atingido pelo uso do etanol P.A sem adição da água.

A quantificação dos compostos fenólicos é essencial, pois esses compostos desempenham um papel fundamental na neutralização de radicais livres, atuando como antioxidantes, anti-inflamatórios e antimutagênicos [6].

Tabela 2. Atividade antioxidante pelos métodos de DPPH e ABTS e teor dos compostos fenólicos do extrato etanólico foliar de *Pereskia aculeata* Miller

	extrato etariorico ioliar de Fereskia aculeata ivillier				
DPPH		ABTS		CF	
(µmol	Trolox.g ⁻¹)	(μ	ımol _{Trolox} .g ⁻¹)	(mg _{EAG} .g ⁻¹)	
23	3,39		119,62	120,99	
*2 2-difenil-	1-nicrilhidrazil/DPPH)	Ácido	2 2'-azina-his(3-at	lhenzotiazolina-6-sulfônico\(ARTS\)	_

*2,2-difenil-1-picrilhidrazil(DPPH), Ácido 2,2'-azino-bis(3-etilbenzotiazolina-6-sulfônico)(ABTS) e Compostos fenólicos(CF).

Os dados de atividade antioxidante obtidos neste estudo, utilizando a metodologia DPPH, foram de 23,39 µmol_{Trolox}.g⁻¹, enquanto a atividade medida pelo método ABTS foi de 119,62 µmol_{Trolox}.g⁻¹ (Tabela 2). Esses resultados são comparáveis aos de Macedo et al. [11], que, ao utilizar extrato hidroalcoólico das folhas da mesma espécie, relataram valores de 24,48 µmol_{Trolox}.g⁻¹quando avaliando a atividade antioxidante pelo método DPPH e 10,24 µmol_{Trolox}.g⁻¹ quando avaliando pelo método ABTS. Embora os valores para DPPH sejam semelhantes entre os estudos, os valores de ABTS foram consideravelmente diferentes. Essa discrepância pode ser atribuída a diferenças nas condições experimentais, incluindo o equipamento utilizado (banho ultrassônico) e o tipo de solvente empregado, o que possivelmente resultou em diferentes tipos de compostos sendo extraídos, uma vez que o DPPH é adequado para compostos orgânicos e o ABTS tanto para compostos lipossolúveis quanto hidrossolúveis [34].

A atividade antioxidante das folhas de P. aculeata extraídas por maceração com solvente hidroalcoólico foi mensurada por Massocatto et al. [35], que obtiveram EC_{50} de 3351,5 μ g/mL utilizando o método DPPH e EC_{50} de 2851,7 μ g/mL com o método ABTS. Embora a maceração tenha se mostrado eficiente, esse processo demandou um longo tempo de extração — 12 dias (288 horas) — em comparação aos apenas 10 minutos do método de

ultrassom empregado neste estudo. Isso evidencia que, apesar da limitação na comparação direta da quantidade de compostos antioxidantes devido à diferença na forma de expressar os resultados, o ultrassom é um método significativamente mais rápido, especialmente para aplicações que exigem agilidade e sustentabilidade.

Além disso, ao se utilizar o extrato hidroalcoólico de *P. aculeata* também pelo método de maceração, porém com um tempo menor de 15 min., Ciríaco, Mendes e Carvalho [1] relataram valores de capacidade antioxidante de 1,4 µmol_{Trolox}.g⁻¹ quando avaliando a atividade antioxidante pelo método DPPH e 6,3 µmol_{Trolox}.g⁻¹ quando avaliando a atividade antioxidante pelo método ABTS, indicando uma atividade antioxidante inferior ao do presente estudo.

Esses resultados destacam o potencial do extrato de *P. aculeata* como agente antioxidante natural, oferecendo uma alternativa aos sintéticos empregados nos processos industriais [11]. Além disso, o ultrassom do tipo sonda pode oferecer mais eficiência em termos de extração, tornando-o uma alternativa promissora em diversas aplicações industriais [8].

ATIVIDADE ANTIMICROBIANA

O extrato etanólico de *P. aculeata* demonstrou inibição do crescimento de *K. pneumoniae* na concentração de 50 mg/mL. Para *L. monocytogenes*, *E. coli*, *P. aeruginosa*, *E. faecalis*, *S. aureus e S. Enteritidis*, a inibição foi observada em concentrações de até 25 mg/mL. Já para *B. subtilis*, a inibição ocorreu em uma concentração ainda menor, de 12,5 mg/mL (Tabela 3). Esses resultados evidenciam o potencial do extrato como agente bacteriostático.

Os compostos identificados no extrato da classe dos fenólicos, como as flavonas, flavonóis, xantonas e flavonoides, podem ter contribuído na ação inibitória dos microrganismos. Estudos demonstram que os compostos fenólicos têm ampla atividade biológica, como exemplo a rutina é reconhecida por suas propriedades antimicrobianas, antifúngicas e antialérgicas [6].

Tabela 3. Atividade antimicrobiana do extrato etanólico de *Pereskia aculeata* Miller pelo método de Concentração Inibitória Mínima (CIM) e Concentração Bactericida Mínima (CBM)

Bactérias	Gram	CIM/CBM (mg/mL)
Listeria monocytogenes	Positiva	25/100
Enterococcus faecalis	Positiva	25/100
Staphylococcus aureus	Positiva	25/100
Bacillus subtilis	Positiva	12,5/100
Salmonella Enteritidis	Negativa	25/NA
Escherichia coli	Negativa	25/NA
Pseudomonas aeruginosa	Negativa	25/NA
Klebsiella pneumoniae	Negativa	50/NA

*NA – Não apresentou atividade

Em um estudo anterior, o extrato etanólico de *P. aculeata* obtido por maceração não demonstrou atividade bacteriostática, frente à bactéria *S. aureus* [36]. Este resultado difere dos achados do presente estudo, no qual o extrato etanólico obtido por extração assistida por ultrassom demonstrou atividade antimicrobiana contra *S. aureus*, sugerindo que o método de extração pode influenciar significativamente na eficiência e no perfil bioativo do extrato vegetal.

Em outro estudo, quando o solvente utilizado foi éter de petróleo, observou-se a inibição do crescimento de *B. cereus*, *S. aureus*, *P. aeruginosa* e *Escherichia coli*. A fração clorofórmica do extrato *P. aculeata* foi eficaz na inibição de *B. cereus* e *S. aureus*, enquanto o extrato metanólico apresentou efeito inibitório em relação a *B. cereus* e *S. aureus* apenas em concentrações mais elevadas de 2 μg/mL e 4 μg/mL, ao contrário dos outros extratos que foram eficazes em concentrações de 1 μg/mL [12].

Além disso, o extrato hidroalcólico obtido pelo método do banho ultrassônico com o tempo de extração de10 minutos de extração, demonstrou maior eficácia inibitória contra S. aureus

399 400 401

402

403 404

405

417

418

419

420

421 422

423

424

425

426

427

428

429

430

431

432

433

434

435

em uma concentração de 6,25 mg/mL. No entanto, esse mesmo extrato não apresentou atividade antimicrobiana frente a E. coli [11].

Sendo assim, o extrato etanólico de *P. aculeata* se destacou por sua ação bacteriostática frente a diferentes cepas bacterianas, indicando um potencial para o desenvolvimento de futuras aplicações, como cremes e pomadas na indústria farmacêutica[9], ou até mesmo como formulações alimentares [37] no controle do crescimento microbiano.

GERMINAÇÃO DE SEMENTES

Quanto aos parâmetros da germinação de sementes de alface (Lactuca sativa L.) submetidas à embebição em diferentes concentrações do extrato etanólico de P. aculeata não foi observada diferença estatística na porcentagem de germinação (PG) entre os grupos controle e as concentrações mais baixas do extrato de P. aculeata, variando de 0,12 a 4 mg/mL. Entretanto, o tratamento com a concentração de 8 mg/mL apresentou diferença na germinação, que permaneceu com uma média de 91% (Tabela 4).

O tempo médio de germinação (TMG) foi reduzido nas concentrações de 0,12 a 4 mg/mL em comparação aos controles. No entanto, a concentração de 8 mg/mL teve efeito contrário, afetando negativamente o processo, já que as sementes levaram mais tempo para germinar em relação aos controles.

Tabela 4. Parâmetros de germinação e crescimento de plântulas de alface (Lactuca sativa L) tratadas com extrato etanólico de Pereskia aculeata Miller*

Tratamentos	PG	TMG	IVG	CMR
	(%)	(dias)	(semente/dia)	(cm)
T1 - Controle (água destilada)	98a	1,68b	18,63c	1,80a
T2 - Controle (Tween 1%)	100a	1,62b	18,95c	1,61a
T3 - Extrato etanólico 0,12 mg/mL	96a	1,34c	20,55b	2,12a
T4 - Extrato etanólico 0,25 mg/mL	98a	1,22c	22,58a	1,91a
T5 - Extrato etanólico 0,50 mg/mL	98a	1,24c	22,33a	1,83a
T6 - Extrato etanólico 1 mg/mL	96a	1,47c	19,65b	1,50a
T7 - Extrato etanólico 2 mg/mL	97a	1,37c	21,26b	1,86a
T8 - Extrato etanólico 4 mg/mL	96a	1,39c	20,33b	1,95a
T9 - Extrato etanólico 8 mg/mL	91b	1,83a	15,73d	1,87a
CV (%)	3,45	9,39	6,14	19,43

*Porcentagem de germinação (PG), tempo médio de germinação (TMG) (dias) Índice de velocidade de germinação (IVG) e Comprimento médio de raiz (CMR). Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste de Scoot-Knott à 5% de significância.

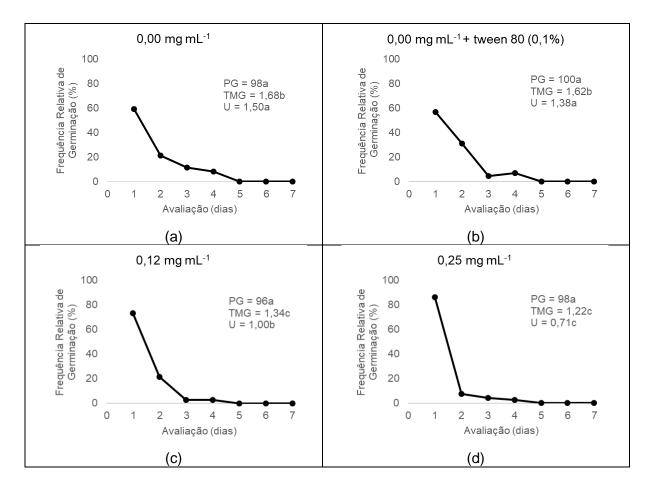
Em relação ao índice de velocidade de germinação (IVG), as concentrações de 0,25 e 0,50 mg/mL aumentaram a velocidade de germinação, seguidas pelas concentrações de 0,12, 1, 2 e 4 mg/mL, quando comparadas aos controles. Por outro lado, a concentração de 8 mg/mL resultou em uma redução na velocidade de germinação.

Destaca-se a diferença estatística e a influência positiva observada nos parâmetros nas concentrações de 0,25 e 0,50 mg/mL, que sugere um potencial bioestimulante do extrato [15] em baixas concentrações. Esse efeito estimulante pode estar associado à presença dos metabólitos secundários presentes no extrato etanólico, tais como saponinas, esteroides livres, triterpenos pentacíclicos, alcaloides, flavonas, flavonois, xantonas e flavonoides. Embora não tenha sido possível identificar qual composto exerceu a maior influência, uma vez que todos foram aplicados em conjunto sem o isolamento de uma molécula-alvo específica, é provável que a combinação desses compostos tenha contribuído de maneira sinérgica para o efeito observado.

Efeitos estimulantes e de toxicidade de extratos vegetais também foram reportados em outros estudos. Por exemplo, isoquercitrina e a isorhamnetina-3-O-glicosídeo, dois flavonois

isolados do extrato de *Annona coriacea*, demonstraram um efeito essencialmente estimulante na germinação e no crescimento inicial de alface, com até 60% de estimulação pela isorhamnetina-3-O-glicosídeo. No entanto, esses compostos também apresentaram elevada fitotoxicidade, especialmente no alongamento de coleóptilos de trigo [38].

Em nossa pesquisa, o extrato etanólico obtido por ultrassom demonstrou um efeito significativo na germinação de sementes de alface. As menores concentrações do extrato estimularam o processo germinativo, enquanto a maior concentração o inibiu, sem, contudo, influenciar o comprimento das raízes. Este resultado diverge do estudo de Silva et al. [13], em que o extrato de *P. aculeata* obtido por maceração dinâmica não interferiu na germinação das sementes, mas exerceu um efeito fisiológico no crescimento das raízes e da parte aérea, as maiores concentrações (6,5 e 13 mg/mL) reduziram o crescimento das raízes e da parte aérea, enquanto em menor concentração (3,3 mg/mL) promoveu o crescimento da parte aérea. As diferenças observadas entre os dois estudos podem ser atribuídas a dois fatores principais: o método de extração empregado para a obtenção dos extratos e a forma de aplicação. No presente trabalho, as sementes de alface foram embebidas diretamente no extrato, o que pode ter influenciado os resultados.



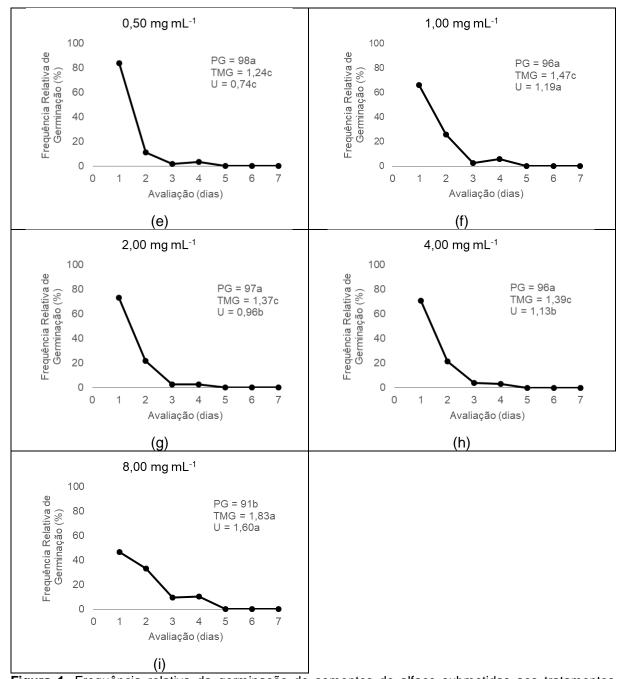


Figura 1. Frequência relativa da germinação de sementes de alface submetidas aos tratamentos controle com água destilada(a), controle com tween 0,1%(b) e extrato etanólico de *Pereskia aculeata* Miller 0,12(c), 0,25(d), 0,5(e), 1(f), 2(g), 4(h) e 8mg/mL(i) *Porcentagem de germinação (PG), tempo médio de germinação (TMG) (dias), Índice de sincronização de germinação (U). Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste de Scoot-Knott à 5% de significância.

A análise da frequência relativa de germinação das sementes de alface (*Lactuca sativa* L.) submetidas ao extrato etanólico de *P. aculeata* revelou informações importantes quanto à eficácia do uso de extratos vegetais em diferentes concentrações. Conforme apresentado na Figura 1, observou-se uma diferença na distribuição da frequência relativa de germinação entre os tratamentos, sendo que as concentrações de 0,25 mg/mL e 0,50 mg/mL apresentaram o maior pico de germinação já no primeiro dia de avaliação. Esses resultados sugerem que, nessas concentrações, o extrato etanólico de *P. aculeata* foi capaz de promover uma germinação mais rápida e sincronizada, reduzindo o tempo necessário para a emergência das plântulas. Esse efeito é considerado desejável em programas de produção de mudas, visto que proporciona uniformidade e melhor desempenho inicial das plantulas.

A formação da calda visível à direita da figura, reforça a sincronia da germinação, indicando que a maioria das sementes germinou nos primeiros dias após o tratamento. Essa rápida germinação é benéfica, pois reduz a exposição das sementes a fatores abióticos adversos, como desidratação e temperaturas extremas, conforme apontado por Müller et al. [39]. Em contraste, o tratamento com a maior concentração de 8 mg/mL apresentou o menor pico germinativo no primeiro dia, resultando em um aumento no tempo médio de germinação. Esse efeito pode ser interpretado como uma resposta negativa das sementes à alta concentração do extrato, sugerindo que doses excessivas podem exercer um efeito inibitório sobre o processo germinativo [40].

Esses achados enfatizam a importância de otimizar a concentração do extrato de *P. aculeata* para maximizar os benefícios como bioestimulante. A utilização de concentrações mais baixas pode promover um ambiente favorável à germinação e ao desenvolvimento inicial das plântulas, enquanto concentrações elevadas podem ser prejudiciais, reforçando a necessidade de um manejo cuidadoso na aplicação de extratos vegetais em práticas agrícolas.

CRESCIMENTO INICIAL DE PLÂNTULAS DE SOJA

Os resultados para o comprimento médio da raiz (CMR) mostraram que o extrato etanólico de 0,25 mg/mL apresentaram os maiores valores de média, indicando raízes mais longas, semelhante ao controle com água destilada. Em contrapartida, o controle com tween 0,1% e os tratamentos com extrato etanólico de 0,12, 0,5, 1, 2, 4 e 8 mg/mL resultaram em raízes significativamente mais curtas (Tabela 5).

Tabela 5. Parâmetros do crescimento de plântulas de soja (*Glycine max* L.) com embebição das raízes em extrato etanólico de *Pereskia aculeata* Miller*

Tratamentos	CMR (cm)	CMPA (cm)	MSPA (mg)	MSR (mg)	LPO (nmol/g)
T1 - Controle (com água destilada)	16,36a	13,59a	402,25a	82,63a	0,016a
T2 - Controle (Tween 0,1%)	14,22b	12,37a	398,88a	66,38a	0,016a
T3 - Extrato etanólico 0,12 mg/mL	14,23b	10,19b	384,98a	76,78a	0,019b
T4 - Extrato etanólico 0,25 mg/mL	16,56a	12,97a	381,35a	75,08a	0,016a
T5 - Extrato etanólico 0,50 mg/mL	12,70b	11,78b	383,95a	73,48a	0,016a
T6 - Extrato etanólico 1 mg/mL	13,64b	12,06b	377,90a	79,85a	0,016a
T7 - Extrato etanólico 2 mg/mL	14,26b	13,45a	397,63a	69,95a	0,017a
T8 - Extrato etanólico 4 mg/mL	13,77b	11,52b	383,58a	81,75a	0,018b
T9 - Extrato etanólico 8 mg/Ml	13,44b	11,59b	393,50a	74,40a	0,019b
CV (%)	10,06	9,41	6,67	9,87	9,93

*Comprimento médio de raiz (CMR), Comprimento de parte aérea (CPA), Massa seca de parte aérea (MSPA), Massa seca de raiz (MSR), e Lipoperoxidação da raiz (LPO). Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste de Scoot-Knott à 5% de significância.

Os tratamentos com extrato etanólico a 0,25mg/mL e a 2 mg/mL não afetaram o comprimento da parte aérea (CMPA). Os demais tratamentos 0,12, 0,5,1,4 e 8 mg/mL reduziram o comprimento com médias de 10,19 cm, 11,78 cm,12,06 cm,11,52 cm, 11,59 cm, respectivamente. Não houve efeito dos extratos sobre a biomassa das plântulas.

A aplicação do extrato etanólico de *P. aculeata* no crescimento inicial das plântulas de soja, embora não tenha afetado o acúmulo de biomassa, diminuiu o comprimento médio de raiz (CMR) e o comprimento médio de parte aérea (CMPA) em algumas concentrações, o que pode servir de indicativo, provavelmente gerando dano na divisão e alongamento celular das plântulas. Resultado semelhante foi observado na aplicação do extrato aquoso de *Ateleia*

glazioveana Baill que gerou redução do comprimento da raiz e parte aérea nas plântulas de soja [41].

Neste estudo o extrato etanólico de 0,12 mg/mL, 4 mg/ml e 8 mg/mL apresentaram valores mais elevados de lipoperoxidação da raiz (LPO), indicando maior dano oxidativo na membrana da raiz. Danos oxidativos na raiz podem ser mensuradas através da quantificação do MDA. É provável que a aplicação direta do extrato etanólico nas raízes tenha induzido um aumento na produção de substâncias oxidativas. Moléculas oxidativas podem causar danos à membrana e interferir em outros processos celulares, levando até mesmo à morte celular [42].

Esses resultados indicam que, embora o extrato etanólico de *P. aculeata* não tenha afetado diretamente a biomassa das plântulas, algumas concentrações provocaram redução no comprimento da raiz e da parte aérea, além de aumento nos níveis de lipoperoxidação. Esses efeitos sugerem um possível impacto fitotóxico, associado ao estresse oxidativo, que pode comprometer o crescimento inicial das plântulas de soja. Diante disso, torna-se essencial investigar com maior profundidade os mecanismos envolvidos nesse efeito, a fim de identificar concentrações seguras para a aplicação do extrato em práticas agrícolas, sem comprometer o desenvolvimento das plantas.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

O extrato etanólico de *P_a* aculeata Miller, obtido por ultrassom, mostrou-se uma fonte promissora de compostos bioativos, com atividades antioxidantes relevantes e elevada concentração de compostos fenólicos. Além disso, apresentou atividade antimicrobiana eficaz, especialmente contra *Bacillus subtilis*, com inibição observada na menor concentração (12,5 mg/mL). O extrato também demonstrou potencial como bioestimulante para a germinação de sementes. Contudo, é crucial atentar para a forma de aplicação e as concentrações utilizadas, uma vez que doses elevadas podem induzir toxicidade e inibir o crescimento das plântulas. Esses achados destacam a importância de uma aplicação cuidadosa e equilibrada do extrato, visando maximizar seus benefícios enquanto se minimizam os riscos associados ao uso de altas concentrações.

REFERÊNCIAS

- 1. Ciríaco ACA, Mendes RM, Carvalho VS. Antioxidant activity and bioactive compounds in ora-pro-nobis (Pereskia aculeata Miller) flour. Braz J Food Technol. 2023;26.
- 2. Carnevali DB, Moraes TRC, Lopes JT, Ferreira PA, Costa NLR, Ferrari RA. Ora-pro-nobis chemical characterization and sourcing of crude extract through different extraction methods: a review. Res Soc Dev. 2022;11(6).
- 3. Oliveira GHG, Rocha AD. Phytochemical bioprospecting, antifungal potential evaluation of ora-pro-nobis (Pereskia aculeata). [cited 2024 Jan 24]. Available from: https://www.faculdadecienciasdavida.com.br/sig/www/openged/ensinoBibliotecaVirtual/0000 44 6247609c569fe 049858 60ef5bd09a886 TCC2GRECE HELEN G DE OLIVEIRA.pdf
- 4. Jardim FC, Salla GB, Siqueira AA, Rabello F. Antioxidant evaluation of Pereskia aculeata Mill in natura, shade-dried, and sun-dried. Braz J Dev. 2021;7(9):89906-25.
- 5. Maciel VBV, Borém RAG, Marques DR, Souza JFO, Carneiro LMB, Teixeira CM. Ora-pronobis (Pereskia aculeata Miller): a potential alternative for iron supplementation and phytochemical compounds. Braz J Food Technol. 2021;24.
- 558 6. Garcia JAA, Hohmann LGR, Santos PO, Chaves VC, Fuentefria AM, Schenkel EP. Phytochemical profile and biological activities of 'Ora-pro-nobis' leaves (Pereskia aculeata
- Miller), an underexploited superfood from the Brazilian Atlantic Forest. Food Chem. 2019:294:302-8.
- 7. Sousa RR, Gasparoti PS, Paula JAM. Obtaining medicinal plant extracts: a scoping review
 of modern extraction methods compared to the classical Soxhlet method. Rev Movimenta.
- 564 2022;15(1):1-14.

- 565 8. Silva BM. Evaluation of the composition and overall yield of ora-pro-nobis (Pereskia aculeata
- 566 Mill.) extracts from different extraction methods [dissertation]. Florianópolis: Federal University
- 567 of Santa Catarina; 2022. 130 p.
- 9. Ortiz MFM, Guimarães RM, Oliveira DS. Study of the pharmacological potential of Pereskia 568
- 569 aculeata Miller (ora-pro-nobis) leaves: traditionally used as food and medicine. Rev Ibero-Am
- 570 Human Sci Educ. 2023;9(5).
- 571 10. Moraes TV, Ferreira PA, Macedo MCCC, Pereira JA, Almeida AG. Antioxidant potential of 572 Pereskia aculeata Mill: a bibliometric analysis. Braz J Surg Clin Res. 2020;29(1):79-85.
- 573 11. Macedo MCCC, Passos FR, Moraes TV, Pereira JA, Alves CT. Elaboration and
- 574 characterization of Pereskia aculeata Miller extracts obtained from multiple ultrasound-
- 575 assisted extraction conditions. Metabolites. 2023;13(691). doi:10.3390/metabo13060691.
- 576 12. Souza LF, Pereira PS, Batista SS, Pereira AV, de Lemos OV, Barbosa LL, et al. Pereskia 577 aculeata Miller (Cactaceae) leaves: chemical composition and biological activities. Int J Mol
- 578 Sci. 2016.
- 579 13. Silva DO, Teixeira CM, Almeida MEF, Sampaio RMD, Coelho JS, Vieira LS, et al. Acute
- 580 toxicity and cytotoxicity of Pereskia aculeata, a highly nutritious Cactaceae plant. J Med Food.
- 581 2017;20(4):403-9.
- 582 14. Carvalho RS, Souza GP, Bernardes LMA, Oliveira DR, Medeiros AM, Mendes RG. Plant 583 extracts in agriculture and their applications in seed treatment. Cienc Rural. 2021;52.
- 584 15. Paulert R, Mazaro SM, Mógor AF. Plant extracts as biofertilizers. In: Mógor AF, Mógor G,
- 585 editors. Amino acids, seaweed extracts, plant extracts, and humic substances as biofertilizers. 586 2021.
- 587 16. Weber LD, Carvalho AG, Oliveira GO, Inácio GN. Chemical composition and antimicrobial
- 588 and antioxidant activity of essential oil and various plant extracts from Prunus myrtifolia (L.)
- 589 Urb. Afr J Agric Res. 2014;9:846-53.
- 590 17. Passos FR. Extraction and processing of Pereskia aculeata Miller leaves using green 591 technology [thesis]. Toledo: State University of Western Paraná; 2022. 112 p.
- 592 18. Matos FJ. Experimental phytochemistry. Fortaleza: UFC; 1997. p. 141.
- 593 19. Bobo-Garcia G. Davidov-Pardo G. Arroqui C. Marín-Arroyo MR, Navarro M. Intra-
- 594 laboratory validation of microplate methods for total phenolic content and antioxidant activity
- 595 on polyphenolic extracts, and comparison with conventional spectrophotometric methods. J 596 Sci Food Agric. 2015;95:204-9.
- 597 20. Li Z, Lee WW, Lee ET, Kang J, Suk YG. Phytochemicals, antioxidant capacity and
- 598 cytoprotective effects of jackfruit (Artocarpus heterophyllus Lam.) axis extracts on HepG2 cells.
- 599 Food Biosci, 2021:41.
- 600 21. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Methods for dilution antimicrobial
- 601 susceptibility tests for bacteria that grow aerobically. 11th ed. CLSI standard M07. Wayne, PA: 602 CLSI; 2018.
- 22. Santos CV. Chemical composition, antimicrobial and antioxidant activity of essential oil and 603
- 604 plant extracts from Myrcia palustris DC [dissertation]. Cascavel: State University of Western 605 Paraná: 2019, 57 p.
- 606 23. Rodrigues DL, Santos DF, Pereira TBS, Andrade DA. Imbibition, physiological
- 607 conditioning, and the effect of sodium hypochlorite on lettuce seed germination. Tropica -
- 608 Cienc Agr Biol. 2012;6(1):52-61.
- 609 24. Brazil. Ministry of Agriculture, Livestock, and Supply. Rules for Seed Analysis. Brasília:
- 610 MAPA/ACS; 2009.
- 611 25. Hadas A. Water uptake and germination of leguminous seeds under changing external
- 612 water potential in osmotic solutions. J Exp Bot. 1976;27:480-9.
- 613 26. Maguire JD. Speed of germination aid in selection and evaluation for seedling emergence
- 614 and vigor. Crop Sci. 1962;2(2):176-7.
- 615 27. Edmond JB, Drapala WJ. The effects of temperature, sand and soil, and acetone on okra
- 616 seed germination. Proc Am Soc Hortic Sci. 1958;71:428-34.
- 617 28. Labouriau LG, Agudo M. On the physiology of seed germination in S. hispanica L. I.
- 618 Temperature effects. An Acad Bras Cienc. 1987;59(1):37-56.

- 29. Ferreira DF. Sisvar: a guide for its bootstrap procedures in multiple comparisons. Cienc
- 620 Agrotec. 2014;38(2):109-12.
- 621 30. Heath RL, Packer L. Photoperoxidation in isolated chloroplasts. I. Kinetics and
- stoichiometry of fatty acid peroxidation. Arch Biochem Biophys. 1968;125:189-96.
- 31. Rama Devi S, Prasad MNV. Copper toxicity in Ceratophyllum demersum L. (Coontail), a
- free-floating macrophyte: response of antioxidant enzymes and antioxidants. Plant Sci.
- 625 1998;138:157-65.
- 32. Soares NP, da Silva NC, Silva MF, Fialho FF, Silva LA, Lima CF, et al. Phytochemical
- prospecting techniques and their importance for the study of biomolecules derived from plants.
- 628 Encycl Biosphere. 2016;13(24):991-1010.
- 33. Sousa AP, Matos EP, Oliveira LM, Oliveira RD. Application of probe ultrasound to obtain
- 630 bioactive compounds derived from plant matrix. Rev Mundi Eng Technol Manage.
- 631 2022;7(3):433-1-19.
- 632 34. Sucupira NR, Oliveira AR. Methods for determining antioxidant activity in fruits. UNOPAR
- 633 Cienc Biol Health. 2012;14(4):263-9.
- 634 35. Massocatto AM, Ribeiro GBS, Moura EF, Teixeira SL, Marques FG. Biological activity
- 635 survey of Pereskia aculeata Mill. and Pereskia grandifolia Haw. (Cactaceae). Pharm Sci.
- 636 2021;28:156-65. doi:10.34172/ps.2021.27.
- 36. Colacite J, Ferreira VC, Moraes TRC, Biasi J, Souza AG, Ribeiro DC. Antimicrobial activity
- evaluation of different ora-pro-nobis (Pereskia aculeata Mill.) leaf extracts. Braz J Dev.
- 639 2022;8(5):33207-16.
- 640 37. Fernandes I, Vieira D, Cardoso C, Paiva CS, Almeida MA. Physicochemical
- characterization of leaves and antioxidant activity of Pereskia aculeata Mill. extracts obtained
- by ultrasound. Rev Perspect. 2022;46(175):41-50.
- 38. Novaes P, Carvalho Lopes J, Ferreira MJP, et al. Phytotoxicity of glycosylated flavonols
- 644 extracted from Annona coriacea (Annonaceae) on seed germination and initial growth of
- 645 standard target species and an invasive grass. Braz J Bot. 2024. Available from:
- 646 https://doi.org/10.1007/s40415-024-01018-7.]
- 39. Müller EM, Araujo MM, Rossoni TF. Physiological aspects of seed storage of Peltophorum
- 648 dubium (Spreng.) Taub. submitted to dormancy-breaking methods. Open Sci Res.
- 649 2023;XI:160-79.
- 650 40. Bitencourt GA, Santos RCD, Barros L, Souza RF, Lara IA, Marques ACM, et al.
- 651 Phytochemistry and allelopathy of Brazilian pepper tree (Schinus terebinthifolius Raddi) on
- seed germination. Ensaios Cienc. 2021;25(1).
- 41. Birck TP, Assis LN, Pereira GS, Sguario AL, Pereira MR, Zuffo AM, et al. Contribution to
- the allelopathic study of Ateleia glazioveana Baill on black-jack and soybean germination. In:
- 2015 Zuffo AM, Aquilera JG, editors. Agrarian and environmental research. Nova Xavantina-MT:
- 656 Pantanal Editora; 2021. 191 p.
- 42. Pereira I. Physiological responses in soybean plants to stress mitigators [master's thesis].
- 658 Piracicaba: University of São Paulo; 2020. 142 p.

ANEXO I – NORMAS DA REVISTA

Applied Brazilian Archives of Biology and Technology ISSN 1678-4324

Qualis: B1, Fator de Impacto: 1,18 CiteScore: 1,03

Focus and Scope

BABT publishes original and review articles on the intersection between Life (Biology in a broad sense) and Technology. Papers must cover one or two specific areas described below and must focus on technological development and innovation. The abstract and the introduction must explicitly justify the paper's application in one of these specific areas.

1) Biological, Medical and Health Technologies

The papers submitted should cover topics such as new medicines, medical devices, vaccines, and related products including advanced materials and nanotechnology, aimed at improving human and animal health. This area focuses on technological progress that strengthens health promotion, disease prevention and treatment, and physical rehabilitation. It also includes topics like innovative diagnostic methods and the One Health approach.

2) Agricultural Technologies, Biotechnology and Environment

This category encompasses papers that address technological advancements and innovative solutions for sustainable agricultural and food/feed production. It also includes studies on biotechnology-based products. Articles focused on the energy transition towards a low-carbon matrix, as well as strategies for enhancing environmental quality, conservation, and biodiversity preservation, are also pertinent to this area of BABT.

Target audience: BABT's target audience consists of researchers, professors, graduate students, and other professionals in the field.

Manuscript Sections

The following are general requirements for reporting within sections of all study designs and manuscript formats.

a. Title Page

General information about an article and its authors is presented on a manuscript title page and usually includes the article title, author information, any disclaimers, sources of support, word count, and sometimes the number of tables and figures.

Article title. The title provides a distilled description of the complete article and should include information that, along with the abstract, will make electronic retrieval of the article sensitive and specific. Reporting guidelines recommend and some journals require that information about the study design be a part of the title (particularly important for randomized trials and systematic reviews and meta-analyses). Some journals require a short title, usually no more than 40 characters (including letters and spaces) on the title page or as a separate entry in an electronic submission system. Electronic submission systems may restrict the number of characters in the title.

Author information. Each author's highest academic degrees should be listed, although some journals do not publish these. The name of the department(s) and institution(s) or organizations where the work should be attributed should be specified. Most electronic submission systems require that authors provide full contact information, including land mail and e-mail addresses, but the title page should list the corresponding author's telephone number and e-mail address. ICMJE encourages the listing of authors' Open Researcher and Contributor Identification (ORCID).

Disclaimers. An example of a disclaimer is an author's statement that the views expressed in the submitted article are his or her own and not an official position of the institution or funder.

Source(s) of support. These include grants, equipment, drugs, and/or other support that facilitated conduct of the work described in the article or the writing of the article itself. Inappropriate attribution of funding sources and affiliations are misleading and should be avoided.

Word count. A word count for the paper's text, excluding its abstract, acknowledgments, tables, figure legends, and references, allows editors and reviewers to assess whether the information contained in the paper warrants the paper's length, and whether the submitted manuscript fits within the journal's formats and word limits. A separate word count for the abstract is useful for the same reason.

Number of figures and tables. Some submission systems require specification of the number of figures and tables before uploading the relevant files. These numbers allow editorial staff and reviewers to confirm that all figures and tables were actually included with the manuscript and, because tables and figures occupy space, to assess if the information provided by the figures and tables warrants the paper's length and if the manuscript fits within the journal's space limits.

Disclosure of relationships and activities. Disclosure information for each author needs to be part of the manuscript; each journal should develop standards with regard to the form the information should take and where it will be posted. The ICMJE has developed a uniform Disclosure Form for use by ICMJE member journals, and the ICMJE encourages other journals to adopt it. Despite availability of the form, editors may require disclosure of relationships and activities on the manuscript title page or other Disclosure section in the manuscript to save the work of collecting forms from each author prior to making an editorial decision or to save reviewers and readers the work of reading each author's form.

b. Abstract

Original research, systematic reviews, and meta-analyses require structured abstracts. The abstract should provide the context or background for the study and should state the study's purpose, basic procedures (selection of study participants, settings, measurements, analytical methods), main findings (giving specific effect sizes and their statistical and clinical significance, if possible), and principal conclusions. It should emphasize new and important aspects of the study or observations, note important limitations, and not overinterpret findings. Clinical trial abstracts should include items that the CONSORT group has identified as essential. Funding sources should be listed separately after the abstract to facilitate proper display and indexing for search retrieval by MEDLINE. The funding statement should include only direct support of the work described. General institutional support for an author's time on the work should be distinguished from direct overall funding of the work. An appropriate funding statement might be: "This study was funded by ABC; Dr. F's time on the work was supported by XYZ."

Because abstracts are the only substantive portion of the article indexed in many electronic databases, and the only portion many readers read, authors need to ensure that they accurately reflect the content of the article. Unfortunately, information in abstracts often differs from that in the text. Authors and editors should work in the process of revision and

review to ensure that information is consistent in both places. The format required for structured abstracts differs from journal to journal, and some journals use more than one format; authors need to prepare their abstracts in the format specified by the journal they have chosen.

The ICMJE recommends that journals publish the clinical trial registration number at the end of the abstract. The ICMJE also recommends that, when a registration number is available, authors list that number the first time they use a trial acronym to refer to the trial they are reporting or to other trials that they mention in the manuscript. If the data have been deposited in a public repository and/or are being used in a secondary analysis, authors should state at the end of the abstract the unique, persistent data set identifier, repository name and number.

c. Introduction

Provide a context or background for the study (that is, the nature of the problem and its significance). State the specific purpose or research objective of, or hypothesis tested by, the study or observation. Cite only directly pertinent references, and do not include data or conclusions from the work being reported.

d. Methods

The guiding principle of the Methods section should be clarity about how and why a study was done in a particular way. The Methods section should aim to be sufficiently detailed such that others with access to the data would be able to reproduce the results. In general, the section should include only information that was available at the time the plan or protocol for the study was being written; all information obtained during the study belongs in the Results section. If an organization was paid or otherwise contracted to help conduct the research (examples include data collection and management), then this should be detailed in the methods.

The Methods section should include a statement indicating that the research was approved by an independent local, regional or national review body (e.g., ethics committee, institutional review board). If doubt exists whether the research was conducted in accordance with the Helsinki Declaration, the authors must explain the rationale for their approach and demonstrate that the local, regional or national review body explicitly approved the doubtful aspects of the study. (See section II.E.)

Authors who used AI technology to conduct the study should describe its use in the methods section in sufficient detail to enable replication of the approach. including the tool used, version, and prompts where applicable.

i. Selection and Description of Participants

Clearly describe the selection of observational or experimental participants (healthy individuals or patients, including controls), including eligibility and exclusion criteria and a description of the source population. Because the relevance of such variables as age, sex, or ethnicity is not always known at the time of study design, researchers should aim for inclusion of representative populations into all study types and at a minimum provide descriptive data for these and other relevant demographic variables. Comment on how representative the study sample is of the larger population of interest.

Ensure correct use of the terms sex (when reporting biological factors) and gender (identity, psychosocial or cultural factors), and, unless inappropriate, report the sex and/or gender of study participants, the sex of animals or cells, and describe the methods used to determine sex and gender. If the study was done involving an exclusive population, for example in only one sex, authors should justify why. Authors should define how they determined race or ethnicity and justify their relevance. In the case where race or ethnicity was not collected, explain why it was not collected. Race and ethnicity are social and not biological constructs; authors should interpret results associated with race and ethnicity in that context.

Authors should use neutral, precise, and respectful language to describe study participants and avoid the use of terminology that might stigmatize participants.

ii. Data Collection and Measurements

Specify the study's main and secondary objectives—usually identified as primary and secondary outcomes. Identify methods, equipment (give the manufacturer's name and address in parentheses), and procedures in sufficient detail to allow others to reproduce the results. Give references to established methods, including statistical methods (see below); provide references and brief descriptions for methods that have been published but are not well-known; describe new or substantially modified methods, give the reasons for using them, and evaluate their limitations. Identify precisely all drugs and chemicals used, including generic name(s), dose(s), and route(s) of administration. Identify appropriate scientific names and gene names.

iii. Statistics

Describe statistical methods with enough detail to enable a knowledgeable reader with access to the original data to judge its appropriateness for the study and to verify the reported results. When possible, quantify findings and present them with appropriate indicators of measurement error or uncertainty (such as confidence intervals). Avoid relying solely on statistical hypothesis testing, such as P values, which fail to convey important information about effect size and precision of estimates. References for the design of the study and statistical methods should be to standard works when possible (with pages stated). Define statistical terms, abbreviations, and most symbols. Specify the statistical software package(s) and versions used. Distinguish prespecified from exploratory analyses, including subgroup analyses.

e. Results

Present your results in logical sequence in the text, tables, and figures, giving the main or most important findings first. Do not repeat all the data in the tables or figures in the text; emphasize or summarize only the most important observations. Provide data on all primary and secondary outcomes identified in the Methods Section. Extra or supplementary materials and technical details can be placed in an appendix where they will be accessible but will not interrupt the flow of the text, or they can be published solely in the electronic version of the journal.

Give numeric results not only as derivatives (for example, percentages) but also as the absolute numbers from which the derivatives were calculated. Restrict tables and figures to those needed to explain the argument of the paper and to assess supporting data. Use graphs as an alternative to tables with many entries; do not duplicate data in graphs and tables. Avoid nontechnical uses of technical terms in statistics, such as "random" (which implies a randomizing device), "normal," "significant," "correlations," and "sample."

Separate reporting of data by demographic variables, such as age and sex, facilitate pooling of data for subgroups across studies and should be routine, unless there are compelling reasons not to stratify reporting, which should be explained.

f. Discussion

It is useful to begin the discussion by briefly summarizing the main findings, and explore possible mechanisms or explanations for these findings. Emphasize the new and important aspects of your study and put your findings in the context of the totality of the relevant evidence. State the limitations of your study, and explore the implications of your findings for future research and for clinical practice or policy. Discuss the influence or association of variables, such as sex and/or gender, on your findings, where appropriate, and the limitations of the data. Do not repeat in detail data or other information given in other parts of the manuscript, such as in the Introduction or the Results section.

Link the conclusions with the goals of the study but avoid unqualified statements and conclusions not adequately supported by the data. In particular, distinguish between clinical

and statistical significance, and avoid making statements on economic benefits and costs unless the manuscript includes the appropriate economic data and analyses. Avoid claiming priority or alluding to work that has not been completed. State new hypotheses when warranted, but label them clearly.

g. References

i. General Considerations

Authors should provide direct references to original research sources whenever possible. References should be made to published articles rather than to abstracts whenever possible. References should not be used by authors, editors, or peer reviewers to promote self-interests. Authors should avoid citing articles in predatory or pseudo-journals. When preprints are cited, the citation should clearly indicate that the reference is a preprint (also see Section III.D.3). Although references to review articles can be an efficient way to guide readers to a body of literature, review articles do not always reflect original work accurately. On the other hand, extensive lists of references to original work on a topic can use excessive space. Fewer references to key original papers often serve as well as more exhaustive lists, particularly since references can now be added to the electronic version of published papers, and since electronic literature searching allows readers to retrieve published literature efficiently.

References to papers accepted but not yet published should be designated as "in press" or "forthcoming." Information from manuscripts submitted but not accepted should be cited in the text as "unpublished observations" with written permission from the source.

Published articles should reference the unique, persistent identifiers of the data sets employed.

Avoid citing a "personal communication" unless it provides essential information not available from a public source, in which case the name of the person and date of communication should be cited in parentheses in the text. For scientific articles, obtain written permission and confirmation of accuracy from the source of a personal communication.

Referencing Al-generated material as the primary source is not acceptable.

Authors are responsible for citing references accurately and should be able to attest that the references cited support the associated statement. To minimize bibliographic citation errors, references should be verified using either a bibliographic source, such as PubMed, or original sources. Authors are responsible for checking that none of the references cite retracted articles except in the context of referring to the retraction. For articles published in journals indexed in MEDLINE, the ICMJE considers PubMed the authoritative source for information about retractions. Authors can identify retracted articles in MEDLINE by searching PubMed for "Retracted publication [pt]", where the term "pt" in square brackets stands for publication type, or by going directly to the PubMed's list of retracted publications.

References should be numbered consecutively in the order in which they are first mentioned in the text. Identify references in text, tables, and legends by Arabic numerals in parentheses.

References cited only in tables or figure legends should be numbered in accordance with the sequence established by the first identification in the text of the particular table or figure. The titles of journals should be abbreviated according to the style used for MEDLINE (www.ncbi.nlm.nih.gov/nlmcatalog/journals). Journals vary on whether they ask authors to cite electronic references within parentheses in the text or in numbered references following the text. Authors should consult with the journal to which they plan to submit their work.

ii. Style and Format

References should follow the standards summarized in the NLM's Sample References webpage and detailed in the NLM's *Citing Medicine*, *2nd edition*. These resources

are regularly updated as new media develop, and currently include guidance for print documents; unpublished material; audio and visual media; material on CD-ROM, DVD, or disk; and material on the Internet.

h. Tables

Tables capture information concisely and display it efficiently; they also provide information at any desired level of detail and precision. Including data in tables rather than text frequently makes it possible to reduce the length of the text.

Prepare tables according to the specific journal's requirements; to avoid errors it is best if tables can be directly imported into the journal's publication software. Number tables consecutively in the order of their first citation in the text and supply a title for each. Titles in tables should be short but self-explanatory, containing information that allows readers to understand the table's content without having to go back to the text. Be sure that each table is cited in the text.

Give each column a short or an abbreviated heading. Authors should place explanatory matter in footnotes, not in the heading. Explain all nonstandard abbreviations in footnotes, and use symbols to explain information if needed. Symbols may vary from journal to journal (alphabet letter or such symbols as * , $^+$, $^+$, $^+$), so check each journal's instructions for authors for required practice. Identify statistical measures of variations, such as standard deviation and standard error of the mean.

If you use data from another published or unpublished source, obtain permission and acknowledge that source fully.

Additional tables containing backup data too extensive to publish in print may be appropriate for publication in the electronic version of the journal, deposited with an archival service, or made available to readers directly by the authors. An appropriate statement should be added to the text to inform readers that this additional information is available and where it is located. Submit such tables for consideration with the paper so that they will be available to the peer reviewers.

i. Illustrations (Figures)

Digital images of manuscript illustrations should be submitted in a suitable format for print publication. Most submission systems have detailed instructions on the quality of images and check them after manuscript upload. For print submissions, figures should be either professionally drawn and photographed, or submitted as photographic-quality digital prints.

For radiological and other clinical and diagnostic images, as well as pictures of pathology specimens or photomicrographs, send high-resolution photographic image files. Before-and-after images should be taken with the same intensity, direction, and color of light. Since blots are used as primary evidence in many scientific articles, editors may require deposition of the original photographs of blots on the journal's website.

Although some journals redraw figures, many do not. Letters, numbers, and symbols on figures should therefore be clear and consistent throughout, and large enough to remain legible when the figure is reduced for publication. Figures should be made as self-explanatory as possible, since many will be used directly in slide presentations. Titles and detailed explanations belong in the legends—not on the illustrations themselves.

Photomicrographs should have internal scale markers. Symbols, arrows, or letters used in photomicrographs should contrast with the background. Explain the internal scale and identify the method of staining in photomicrographs.

Figures should be numbered consecutively according to the order in which they have been cited in the text. If a figure has been published previously, acknowledge the original source and submit written permission from the copyright holder to reproduce it. Permission is required irrespective of authorship or publisher except for documents in the public domain.

In the manuscript, legends for illustrations should be on a separate page, with Arabic numerals corresponding to the illustrations. When symbols, arrows, numbers, or letters are used to identify parts of the illustrations, identify and explain each one clearly in the legend.

j. Units of Measurement

Measurements of length, height, weight, and volume should be reported in metric units (meter, kilogram, or liter) or their decimal multiples.

Temperatures should be in degrees Celsius. Blood pressures should be in millimeters of mercury, unless other units are specifically required by the journal.

Journals vary in the units they use for reporting hematologic, clinical chemistry, and other measurements. Authors must consult the Information for Authors of the particular journal and should report laboratory information in both local and International System of Units (SI).

Editors may request that authors add alternative or non-SI units, since SI units are not universally used. Drug concentrations may be reported in either SI or mass units, but the alternative should be provided in parentheses where appropriate.

k. Abbreviations and Symbols

Use only standard abbreviations; use of nonstandard abbreviations can be confusing to readers. Avoid abbreviations in the title of the manuscript. The spelled-out abbreviation followed by the abbreviation in parentheses should be used on first mention unless the abbreviation is a standard unit of measurement.

CÁPITULO 2 - SÍNTESE VERDE SUSTENTÁVEL DE NANOPARTÍCULAS DE PRATA A PARTIR DE *Pereskia aculeata* Miller COM ATIVIDADES ANTIMICROBIANA E ANTIBIOFILME

A.B. Vieira¹, J. Rosset², A.B. Seabra³, R.H. Pereira³, C.C.Triques⁴, G.C. Peiter⁵, M.L. Fiorese⁴, P.C. Zonetti⁶, F.G. S. Pinto¹

¹Programa de Pós-graduação em Conservação e manejo de recursos naturais da Universidade Estadual do Oeste do Paraná - Unioeste, Cascavel, Paraná, Brasil; ²Programa de Pós-graduação em Engenharia agrícola da Universidade Estadual do Oeste do Paraná - Unioeste, Cascavel, Paraná, Brasil; ³Programa de Pós-graduação em Biotecnociência da Universidade Federal do ABC, Santo André, São Paulo, Brasil; ⁴Programa de Pós-graduação em Engenharia química da Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Toledo, Paraná, Brasil; ⁵Universidade Federal do Paraná, Toledo, Paraná, Brasil; ⁶ Universidade Federal do Paraná, Departamento de Ciências Agrônomicas, Palotina, Paraná, Brasil

RESUMO

A nanotecnologia sustentável é uma alternativa que impulsiona a síntese verde, aliando os avanços da nanotecnologia às propriedades bioativas dos extratos vegetais para a produção de nanopartículas de prata (AgNPs). Neste estudo, *Pereskia aculeata* Miller foi utilizada como agente redutor e estabilizante para a síntese de AgNPs, cujas propriedades antioxidantes, antimicrobianas e antibiofilme foram avaliadas. A caracterização por Espalhamento Dinâmico de Luz (DLS) revelou tamanhos hidrodinâmicos de 84,34 nm para as AgNPs obtidas por maceração (AgNPsOM) e 89,56 nm para aquelas sintetizadas por infusão (AgNPsOI), ambas com potencial zeta indicando boa estabilidade coloidal. A espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier (FTIR) confirmou a presença do grupo C=O, sugerindo o envolvimento de compostos bioativos na estabilização das nanopartículas. As AgNPs apresentaram elevada atividade antioxidante, com destaque para as AgNPsOM. Em relação à atividade antimicrobiana, ambas as formulações demonstraram eficácia significativa contra bactérias Gram-positivas, incluindo Staphylococcus aureus, Enterococcus faecalis e Bacillus subtilis. Além disso, as AgNPs exibiram atividade antibiofilme relevante, tornando-se uma alternativa promissora na prevenção de infecções. Os resultados obtidos ressaltam o potencial das AgNPs sintetizadas a partir de P. aculeata como ferramentas sustentáveis e versáteis, com aplicações terapêuticas e biomédicas.

Palavras-chave: Nanotecnologia sustentável; Nanopartículas de prata (AgNPs); Compostos bioativos; Atividades antioxidante e antimicrobiana.

INTRODUÇÃO

A nanotecnologia é uma área multidisciplinar dedicada ao estudo e manipulação da matéria em escala nanométrica, na qual as nanopartículas (NPs) apresentam dimensões entre 1 e 100 nanômetros (Sanfelice, Pavinatto e Corrêa, 2022). Entre as diversas classes de NPs, as metálicas, especialmente as nanopartículas de prata (AgNPs), têm despertado grande interesse devido às suas propriedades físico-químicas únicas. Essas características tornam as AgNPs promissoras para diversas aplicações, incluindo tecnologia de alimentos, farmacologia, microbiologia e outras áreas (Luhata et al., 2022).

As AgNPs podem ser sintetizadas por biossíntese, também chamada de síntese verde, uma abordagem sustentável que substitui métodos químicos e físicos, os quais geram resíduos tóxicos, exigem condições extremas e consomem grande quantidade de energia (Jalab et al., 2021; Oselusi et al., 2025). Nesse processo, extratos vegetais são amplamente utilizados, pois contêm compostos fitoquímicos, como flavonoides, terpenoides e alcaloides, que atuam como agentes redutores e estabilizadores (Dúran et al., 2011; Flieger et al., 2021). Esses compostos doam elétrons, reduzindo os íons de prata (Ag⁺) a prata metálica (Ag⁰), conferindo às AgNPs elevada estabilidade coloidal e biocompatibilidade (Skłodowski et al., 2023; Ayama et al., 2024). Além disso, os extratos vegetais incorporam às nanopartículas suas propriedades bioativas às AgNPs, como atividades antioxidantes e antimicrobianas, ampliando seu potencial biotecnológico (Mohammed et al., 2022; Mikhailova, 2025).

As AgNPs demonstram ampla eficácia contra uma gama de microrganismos, devido à sua capacidade de interagir com membranas celulares bacterianas, causar disfunção e aumentar o estresse oxidativo, levando à morte celular (Nyabola et al., 2020; Radzikowska-Buchner et al. 2023). Essa propriedade é especialmente relevante para o combate a biofilmes, que consistem em comunidades microbianas organizadas em uma matriz extracelular resistente a tratamentos antimicrobianos convencionais (Ankudze, Neglo & Nsiah, 2024). Os biofilmes representam um desafio crítico em setores como saúde pública, indústria alimentícia e sistemas de abastecimento de água, reforçando a necessidade de novas estratégias antimicrobianas (Korkmaz et al., 2024).

Diversas plantas, como *Camellia sinensis* (Flieger et al., 2021), *Ilex paraguariensis* (Bavaresco et al., 2020) e *Moringa oleifera* (Mohammed et al., 2022), têm sido utilizadas na síntese verde de AgNPs, devido ao seu perfil fitoquímico rico em compostos bioativos. Nesse contexto, a *Pereskia aculeata* Miller (ora-pro-nóbis) se destaca como uma planta nativa

reconhecida por suas propriedades medicinais e nutricionais. Essa espécie é rica em flavonoides, taninos, alcaloides, saponinas (Jardim et al., 2021) e compostos fenólicos (Garcia et al., 2019), os quais apresentam diversas atividades biológicas (Massocatto et al., 2021). No entanto, até o momento, não há relatos na literatura sobre o uso de *P. aculeata* na síntese de AgNPs, tampouco investigações sobre suas propriedades biológicas.

Diante desse cenário, este estudo teve como objetivo sintetizar AgNPs a partir de extratos aquosos de *P. aculeata*, avaliando suas propriedades antioxidantes, antimicrobianas e antibiofilme. Os achados desta pesquisa contribuirão para a exploração do potencial biotecnológico das AgNPs, além de fomentar o desenvolvimento de alternativas sustentáveis e eficazes no combate a infecções resistentes e na prevenção de biofilmes microbianos.

MATERIAL E MÉTODOS

PREPARO DO EXTRATO AQUOSO DE P. aculeata

Método de Maceração

O extrato aquoso foi preparado utilizando uma razão de 1:10 (biomassa vegetal: água destilada), resultando em uma concentração final de 100 mg/mL. A mistura foi transferida para um Erlenmeyer e submetida à agitação constante em shaker por 24 horas. Após esse período, o extrato foi filtrado por meio de papel filtro acoplado a uma bomba de vácuo para remoção de partículas sólidas. O extrato obtido foi então armazenado em freezer a -20°C até o momento de sua utilização (Batista et al., 2024).

Método de Infusão

Para o preparo do extrato por infusão, 1,0 g de biomassa seca de *P. aculeata* foi incorporada a água aquecida (60°C a 80°C) em um béquer sob agitação constante em agitador magnético com aquecimento. Após a incorporação, o béquer foi coberto com um vidro de relógio, mantendo-se a temperatura e a agitação constantes por 30 minutos. Em seguida, o material foi centrifugado a 3800 rpm por 10 minutos e filtrado, obtendo-se um extrato aquoso com concentração final de 1 mg/mL (Pelegrino et al. 2020).

SÍNTESE VERDE

Após o preparo dos extratos aquosos de OPN pelos métodos de maceração e infusão, os extratos foram submetidos à reação com solução de nitrato de prata sob agitação constante, seguindo a metodologia descrita no pedido de patente BR 1020220041920, com adaptações de Rolim et al. (2019). Esse processo de biossíntese foi conduzido para a obtenção das nanopartículas de prata derivadas de *P. aculeata* por maceração (AgNPsOM) e por infusão (AgNPsOI).

CARACTERIZAÇÃO DAS NANOPARTÍCULAS

Na caracterização das nanopartículas os parâmetros de tamanho hidrodinâmico (nm), índice de polidispersidade (PdI) e potencial zeta (mV) foram mensurados por Espalhamento Dinâmico de Luz (DLS) utilizando o equipamento Zetasizer® (Manosalva et al., 2019). Os dados de FTIR dos extratos por maceração e infusão e das nanopartículas AgNPsOM e AgNPsOI foram determinados na faixa do comprimento de onda de 4000 cm⁻¹ a 400 cm⁻¹ usando um espectro FTIR PerkinElmer Spectrum Two (Waltham, MA, EUA) (Ayama et al., 2024), e a morfologia foi analisada por microscopia eletrônica de varredura (MEV) utilizando um microscópio da marca Tesca modelo VEJA 3 LMU.

ATIVIDADE ANTIOXIDANTE

Ensaio 2,2-difenil-1-picrilhidrazil (DPPH)

A captura de radicais livres de DPPH (1,1-difenil-2-picril-hidrazil) por AgNPs sintetizadas a partir do extrato aquoso de *P. aculeata* foi avaliada por meio do ensaio de DPPH descrito por Li et al. (2021). Em resumo, foram adicionados 100 μL na concentração de 107 μg/mL das AgNPs obtidas por síntese verde e 100 μL de uma solução de DPPH (0,03 mmol/L). A mistura foi incubada por 30 minutos ao abrigo da luz. A curva padrão foi construída utilizando trolox (11,71 a 200 μmol L⁻¹), enquanto o DPPH livre foi usado como controle negativo. Após a incubação, a mudança de cor da solução foi observada e realizada a leitura da absorbância a 515 nm em espectrofotômetro UV-visível. Os resultados expressos em μg de trolox por mL (μg_{Trolox}/mL).

Ensaio Ácido 2,2'-azino-bis(3-etilbenzotiazolina-6-sulfônico) (ABTS)

A captura de radicais livres de ABTS [ácido 2,2'-azino-bis(3-etilbenzotiazolina-6-sulfônico)] pelas AgNPs sintetizadas a partir do extrato aquoso de *P. aculeata* foi avaliada por meio do ensaio de ABTS descrito por Li et al. (2021). Para o ensaio, 100 μL das AgNPs na concentração de 107 μg/mL foram misturados com 100 μL de uma solução de radical ABTS (ABTS + persulfato de potássio). A mistura foi incubada por 10 minutos em condições de ausência de luz. Após a incubação, as absorbâncias foram medidas em uma leitora de microplacas a 750 nm. Os resultados foram comparados a uma curva padrão de trolox (11,71 a 200 μmol L⁻¹) e expressos em μg de trolox por mL (μg_{Trolox}/mL).

ATIVIDADE ANTIMICROBIANA

A determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM) e Concentração Bactericida Mínima (CBM) seguiu conforme normas do Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) (2018), com adaptações feitas por Santos (2019). O ensaio foi realizado em placas de microdiluição de 96 poços, sendo que 150 μL de caldo Müller-Hinton (MH) foram adicionados em todos os poços. No primeiro poço, foram acrescentados 150 μL da solução contendo as nanopartículas, seguida de uma microdiluição sequencial com as concentrações de 53,5 a 0,4 μg/mL nos poços subsequentes. Em cada poço, foram adicionados 20 μL do inóculo com as cepas bacterianas provenientes da American Type Culture Collection (ATCC): Escherichia coli (ATCC 25922), Pseudomonas aeruginosa (ATCC 27853), Salmonella Enteritidis (ATCC 13076), Klebsiella pneumoniae (ATCC 13883), Staphylococcus aureus (ATCC 25923), Enterococcus faecalis (ATCC 19433) e Listeria monocytogenes e da Coleção de Culturas Cefar Diagnóstica (CCCD): Bacillus subtillis (CCD-04).

ATIVIDADE ANTIBIOFILME

Para a determinação da atividade antibiofilme foi utilizado a concentração inibitória mínima (CIM) já determinada de cada microrganismo testado no ensaio de atividade antimicrobiana. Como controle positivo foi utilizado solução salina tamponada com Tris (TBS) suplementado com 1% de glicose, e como controle do diluente foi o dimetilsulfóxido (DMSO). A capacidade antibiofilme das AgNPs foi estabelecida com leitura da densidade óptica (DO) a 570 nm pelo uso do cristal violeta, e calculado a Inibição percentual (%):((controle positivo DO-experimental DO) / controle positivo DO) x 100) (Christensen et al. (1985) adaptado por Bandeira et al. (2022)). O teste de viabilidade celular utilizando o 3-(4,5-dimetiltiazol-2yl)-2,5-

di-fenil brometo de tetrazolina (MTT) também foi mesurada com a leitura a 570 nm (DO de controle positivo/DO experimental) x100) (Jia et al., 2011; Bandeira et al., 2022). A classificação seguiu (< 50%) indicando baixa atividade celular e (> 50%) indicando alta atividade celular (Sandasi et al. 2008; Batista et al., 2024). Para análise estatística dos dados da biomassa do biofilme e viabilidade celular, foram utilizados o Teste t.

RESULTADOS E DISCUSSÕES

CARACTERIZAÇÃO DAS NANOPARTÍCULAS

A análise da distribuição de tamanho por intensidade das AgNPsOM revela uma faixa de tamanho predominante entre 80 e 90 nm. Os picos bem definidos na distribuição indicam alta consistência nas propriedades das nanopartículas, com tamanho médio de 84,34 nm. O índice de polidispersividade (PdI) obtido foi de 0,246, sugerindo homogeneidade (Figura 1A). Além disso, o potencial zeta de -21,9 mV indica estabilidade coloidal das AgNPsOM (Figura 1B).

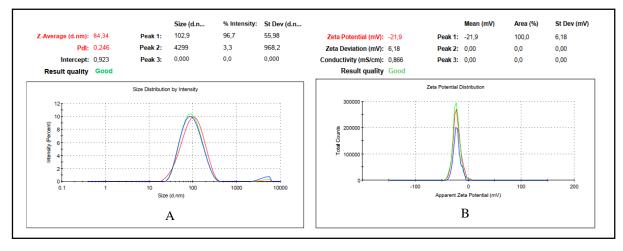


Figura 1. (A) Distribuição do tamanho e (B) potencial zeta das AgNPsOM mediadas pelo extrato aquoso de *P. aculeata* por maceração pela técnica de espalhamento dinâmico de luz.

A AgNPsOI apresentou uma faixa de tamanho predominante entre 90 e 100 nm. Os registros apresentaram picos bem definidos, indicando significativa consistência nas propriedades das nanopartículas, com tamanho médio de 89,56 nm. O índice de polidispersividade (PdI) foi de 0,352, sugere homogeneidade da amostra (Figura 2A). Além disso, o potencial zeta de -24,4 mV confirma a estabilidade coloidal das AgNPsOI (Figura 2B).

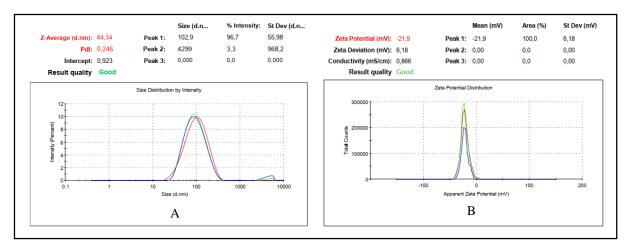


Figura 2. (A) Distribuição do tamanho e (B) potencial zeta das AgNPsOI mediadas pelo extrato aquoso de *P. aculeata* por infusão pela técnica de espalhamento dinâmico de luz.

Em comparação, as AgNPsOM apresentam tamanho menor e uma distribuição mais homogênea em relação as AgNPsOI. No entanto, as AgNPsOI apresentam maior estabilidade, evidenciada por um potencial zeta mais negativo em relação às AgNPsOM.

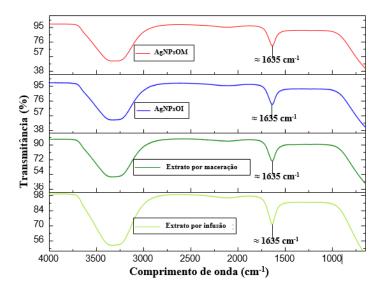


Figura 3. Espectro FTIR das AgNPsOM, AgNPsOM e extrato aquoso por maceração e infusão.

O resultado do FTIR das nanopartículas AgNPOM e AgNPOI, assim como dos extratos obtidos por maceração e infusão (Figura 3), demonstrou um pico em aproximadamente 1635 cm⁻¹. Valores na faixa de 1623 a 1638 cm⁻¹ podem ser atribuídos ao grupo C=O (Oselusi et al., 2025). Os compostos fenólicos presentes nos extratos contêm grupos funcionais, como hidroxila (-OH) e carboxila (-COOH), sendo este último formado pela união dos grupamentos carbonila e hidroxila. Essas estruturas químicas desempenham um papel fundamental na

biorredução dos íons de prata e na estabilização das AgNPs, conferindo maior estabilidade às nanopartículas sintetizadas (Nyabola et al., 2020).

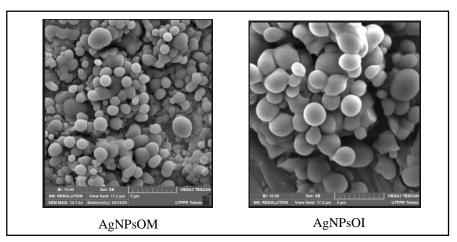


Figura 4. Imagens de MEVs a morfologia das AgNPsOM e AgNPsOI.

A morfologia das AgNPsOM e AgNPsOI, obtidas por síntese verde com extrao aquoso de *P. aculeata*, revelou partículas esféricas em escala nanométrica, com distribuição homogênea e pequenas variações de tamanho (Figura 4), indicando uma síntese bem-sucedida. Estruturas esféricas semelhantes também foram observados em AgNPs biossintetizadas com extrato aquoso das flores e folhas de *Tanacetum vulgare* (Radzikowska-Buchner et al. 2023).

As AgNPsOM e AgNPsOI atenderam aos três parâmetros avaliados: tamanho inferior a 100 nm, índice de polidispersividade (PdI) menor que 0,400 e valores moderados de potencial zeta. O tamanho uniforme das nanopartículas e o baixo PdI garantem a homogeneidade, prevenindo aglomerações e mantendo suas propriedades funcionais. Já o potencial zeta em ± 20 a 30 mV indica estabilidade, evitando a agregação das partículas, sendo esse parâmetro crucial, pois avalia a repulsão ou atração eletrostática entre as nanopartículas, influenciando diretamente sua estabilidade (Mourdikoudis et al., 2018; Garcia et al., 2021). Assim, ambas as nanopartículas demonstram excelente potencial para futuras aplicações, como biomarcardores de câncer (Yang et al., 2025), no tratamento de águas residuais (Bashir et al., 2025), e desenvolvimento de novos medicamentos (Mikhailova, 2025) entre outras.

ATIVIDADE ANTIOXIDANTE

A atividade antioxidante das AgNPs sintetizadas com extrato de *P. aculeata* permitiu avaliar a capacidade de neutralização de radicais livres, conforme observado nos ensaios DPPH e ABTS (Tabela 1).

Tabela 1. Atividade antioxidante pelos métodos de DPPH e ABTS das nanopartículas de Pereskia aculeata Miller.

Nanopartículas	DPPH	ABTS
	(µg _{Trolox} /mL)	(µg _{Trolox} /mL)
AgNPsOM	107,78	403,25
AgNPsOI	85,33	230,79

As AgNPsOM apresentaram maior capacidade antioxidante, com 107,78 μg_{Trolox}/mL quando avaliando a atividade antioxidante pelo método DPPH e 403,25 μg_{Trolox}/mL pelo método ABTS. Já as AgNPsOI demonstraram atividade inferior, com 85,33 μg_{Trolox}/mL quando avaliando a atividade antioxidante pelo método do DPPH e 230,79 μg_{Trolox}/mL pelo método ABTS. A diferença observada pode ser atribuída ao método de extração utilizado para obter o extrato aquoso, uma vez que este influencia diretamente tanto a quantidade quanto o perfil de fitoquímicos presentes, os quais desempenham um papel fundamental na síntese das nanopartículas e, consequentemente, na modulação de suas propriedades antioxidantes.

Em outros estudos, as AgNPs sintetizadas com extrato aquoso de *Acalypha bracteolata* apresentaram IC₅₀ de 54,64 μg/mL pelo método DPPH e 78 μg/mL no método do ABTS (Than et al., 2022). Por outro lado, as AgNPs sintetizadas com *Justicia adhatoda L.* mostraram IC₅₀ de 11,52 μg/mL pelo método do DPPH e 160,22 μg/mL com o método ABTS (Chandraker et al., 2022). Essa variabilidade dos resultados reforça a importância dos compostos fitoquímicos específicos presentes nos extratos.

Além disso, estudos indicam que as AgNPs sintetizadas por métodos verdes apresentam atividade antioxidante superior às obtidas por sínteses químicas, devido à presença de fitoquímicos que modificam sua superfície e conferem maior estabilidade e reatividade biológica. Um exemplo é a biossíntese com folhas de *Mallotus frondosa*, que demonstrou um aumento significativo nas propriedades antioxidantes das AgNPs (Sreelekha et al., 2021). Esses achados reforçam o papel dos extratos vegetais na potencialização das atividades bioativas das AgNPs, destacando a importância da escolha da matriz vegetal na síntese verde de nanopartículas.

ATIVIDADE ANTIMICROBIANA

A atividade antimicrobiana das AgNPs sintetizadas a partir do extrato aquoso de *P. aculeata*, obtido por maceração (AgNPsOM) e infusão (AgNPsOI), foi avaliada pelos métodos

de Concentração Inibitória Mínima (CIM) e Concentração Bactericida Mínima (CBM). Os resultados estão detalhados na Tabela 2.

Tabela 2 – Atividade antimicrobiana pelo método de CIM das AgNPs do extrato aquoso por maceração de *Pereskia aculeata* Miller.

		AgNPsOM		AgNPsOI	
		CIM	CBM	CIM	CBM
Bactérias	Gram	$(\mu g/mL)$	$(\mu g/mL)$	$(\mu g/mL)$	$(\mu g/mL)$
Escherichia coli	Negativa	26,7	53,5	53,5	53,5
Pseudomonas aeruginosa	Negativa	26,7	53,5	26,7	53,5
Klebsiella pneumoniae	Negativa	26,7	53,5	53,5	53,5
Salmonella Enteritidis	Negativa	53,5	53,5	53,5	53,5
Staphylococcus aureus	Positiva	26,7	53,5	26,7	53,5
Enterococcus faecalis	Positiva	26,7	53,5	26,7	53,5
Bacillus subtilis	Positiva	26,7	26,7	26,7	53,5
Listeria monocytogenes	Positiva	NA	NA	NA	NA

*NA - não apresentou atividade.

As AgNPsOM demonstraram atividade inibitória significativa contra *S. Enteritidis* a 53,5 μg/mL e contra *E. coli, P. aeruginosa, E. faecalis, S. aureus, K. pneumoniae* e *B. subtilis* a 26,7 μg/mL. Além disso, apresentaram potencial bactericida contra *B. subtilis* na concentração de 26,7 μg/mL, enquanto para as demais cepas, o efeito bactericida foi observado a 53,5 μg/mL. Já as AgNPsOI inibiram *S. Enteritidis, E. coli* e *K. pneumoniae* a 53,5 μg/mL, enquanto *P. aeruginosa, E. faecalis, S. aureus* e *B. subtilis* foram inibidas a 26,7 μg/mL. O efeito bactericida das AgNPsOI foi registrado a 53,5 μg/mL para todas as cepas avaliadas. Nenhuma das nanopartículas apresentou atividade contra *L. monocytogenes*.

Comparativamente, as AgNPsOM demonstraram maior eficácia antimicrobiana do que as AgNPsOI, especialmente contra *E. coli* e *K. pneumoniae*. Essa superioridade pode estar relacionada ao método de extração empregado, que influencia a concentração e o tipo de compostos fitoquímicos presentes no extrato, os quais desempenham um papel essencial na funcionalidade das nanopartículas.

Estudos prévios corroboram o potencial antimicrobiano das AgNPs. Por exemplo, AgNPs biossintetizadas a partir de folhas de *Cestrum nocturnum* apresentaram concentração inibitória mínima (CIM) de 4 μg/mL contra *E. faecalis* e 16 μg/mL contra *E. coli* (Keshari et al., 2020). De forma semelhante, AgNPs obtidas do extrato de guaraná (*Paullinia cupana*), preparado por infusão, demonstraram atividade inibitória contra *E. coli* e *S. aureus*, com CIM de 50 μg/mL (Nogueira et al., 2025).

No presente estudo, tanto as AgNPsOM quanto as AgNPsOI demonstraram eficácia contra bactérias Gram-negativas e Gram-positivas, com destaque para a atuação contra as Gram-positivas (*S. aureus*, *E. faecalis* e *B. subtilis*), devido à maior suscetibilidade dessas cepas à interação com nanopartículas. A ação antimicrobiana das AgNPs está associada à sua capacidade de adsorção rápida às membranas bacterianas, penetração no citoplasma e indução de danos irreversíveis, incluindo desnaturação de proteínas e ruptura da membrana celular (Nyabola et al., 2020).

Esses resultados reforçam o potencial das AgNPs sintetizadas por métodos verdes como agentes antimicrobianos promissores. Estudos futuros podem explorar sua aplicação em tratamentos antimicrobianos, focando no refinamento das condições de síntese e na avaliação de sua eficácia em modelos mais complexos.

ATIVIDADE ANTIBIOFILME

A atividade antibiofilme das AgNPs sintetizadas com extrato de *P. aculeata*, obtidas por maceração (AgNPsOM) e infusão (AgNPsOI), foi avaliada em concentrações equivalentes à CIM. A eficácia das nanopartículas foi analisada por dois métodos complementares: quantificação da biomassa do biofilme pelo ensaio com cristal violeta e avaliação da viabilidade celular pelo ensaio MTT (Figura 5).

Os resultados demonstraram que as AgNPsOM foram eficazes na redução da biomassa do biofilme de *S. Enteritidis*, com uma inibição de 75,06%. No entanto, para as demais bactérias testadas (*E. coli, K. pneumoniae, B. subtilis, S. aureus, E. faecalis* e *P. aeruginosa*), não foi observada diferença estatisticamente significativa. Por outro lado, as AgNPsOI apresentaram maior eficácia contra *E. coli* (66,81%) e *K. pneumoniae* (55,98%), sem impacto significativo sobre as demais bactérias avaliadas.

Esses achados evidenciam que a eficácia das AgNPs na redução da biomassa biofilme varia conforme o tipo de nanopartícula e sua interação com o microrganismo, sendo as AgNPsOM mais eficazes contra *S. Enteritidis*, enquanto as AgNPsOI demonstraram atividade predominante contra *E. coli* e *K. pneumoniae*.

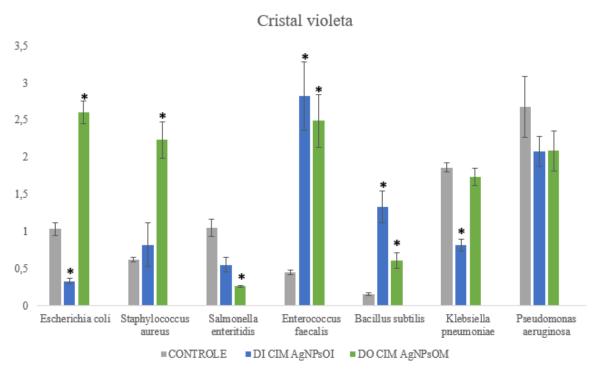


Figura 5. Atividade antibiofilme das AgNPs sintetizadas com extrato de *Pereskia aculeata* Miller em biofilmes de bactérias padrão avaliando biomassa com o método do cristal violeta. DO = densidade óptica. CIM = Concentração inibitória mínima.

*= Valores diferem pelo Teste t (p > 0.05).

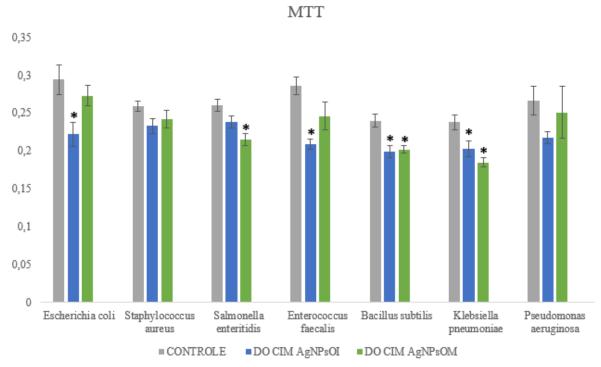


Figura 6. Atividade antibiofilme das AgNPs sintetizadas com extrato de *Pereskia aculeata* Miller em biofilmes de bactérias padrão avaliando viabilidade celular através do MTT. DO = densidade óptica. CIM = Concentração inibitória mínima.

* = Valores diferem pelo Teste t (p > 0.05).

A viabilidade celular dos biofilmes foi avaliada pelo ensaio MTT, que mede a atividade metabólica das células viáveis (Figura 6). As AgNPsOI demonstraram maior eficácia na redução da viabilidade celular de *K. pneumoniae* (14,85%), *B. subtilis* (17,08%), E. coli (24,46%) e *E. faecalis* (26,72%). Para as demais bactérias, não foi observada diferença estatisticamente significativa.

Por outro lado, as AgNPsOM demonstraram maior eficácia na redução da viabilidade celular de *B. subtilis* (15,69%), *S. Enteritidis* (17,07%) e *K. pneumoniae* (22,13%). Para *P. aeruginosa, E. coli, E. faecalis* e *S. aureus*, não foram observadas diferenças estatisticamente significativas.

Comparativamente, os resultados destacam a eficácia das AgNPs na inibição de biofilmes, mas com diferenças específicas entre os tipos de nanopartículas e os microrganismos avaliados. Na viabilidade celular, as AgNPsOM foram mais eficazes contra *B. subtilis*, enquanto as AgNPsOI apresentaram melhor desempenho contra *K. pneumoniae*.

Estudos prévios corroboram a eficácia das AgNPs no combate a biofilmes. Por exemplo, AgNPs sintetizadas com extrato de *Ficus carica* (11–20 nm) demonstraram 38,7% de inibição do biofilme de *B. subtilis* (Korkmaz et al., 2024). De forma semelhante, AgNPs obtidas a partir de *Dialium cochinchinense* (20–54 nm) reduziram a formação de biofilmes de *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa* e *E. coli* (Ankudze, Neglo & Nsiah, 2024).

A maior eficácia das AgNPs biossintetizadas pode estar associada aos fitoquímicos presentes no extrato de *P. aculeata*, que modulam propriedades como tamanho, estabilidade e interação com as células bacterianas. Esses compostos fitoquímicos podem interferir na matriz extracelular do biofilme e comprometer a viabilidade celular dos microrganismos.

Esses achados reforçam o potencial biotecnológico das AgNPs sintetizadas com *P. aculeata*, especialmente no controle de biofilmes bacterianos, com possíveis aplicações em saúde, indústria alimentícia e tratamentos de superfícies. Estudos futuros devem investigar as condições ótimas de síntese e aplicação, bem como os mecanismos moleculares subjacentes à atividade antibiofilme das AgNPs.

CONCLUSÕES

A síntese verde de nanopartículas de prata (AgNPs) utilizando extratos aquosos de Pereskia aculeata Miller demonstrou ser uma abordagem sustentável e eficiente para a produção de nanomateriais funcionais. As nanopartículas biossintetizadas pelos métodos de maceração e infusão apresentaram desempenho significativo nas análises realizadas, evidenciando seu potencial para aplicações biotecnológicas e antimicrobianas.

Os resultados deste estudo reforçam a aplicabilidade das AgNPs de *P. aculeata* no controle de bactérias, com possíveis implicações na área da saúde e em outros setores biotecnológicos. No entanto, apesar do potencial promissor, são necessárias investigações adicionais para consolidar sua utilização. Estudos futuros devem incluir avaliações *in vivo*, bem como análises de estabilidade, segurança ambiental e eficácia em sistemas mais complexos, a fim de viabilizar o uso das AgNPs de *P. aculeata* como agentes antimicrobianos sustentáveis e seguros para múltiplas aplicações.

AGRADECIMENTOS

Agradecimento à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Capes pela concessão da bolsa de mestrado, e a Fundação Araucária pelo fomento do projeto via NAPI Biodiversidade: Recursos Genéticos e Biotecnologia.

REFERÊNCIAS

Ankudze, B., Neglo, D. & Nsiah, F. Síntese verde de nanopartículas de prata de conchas descartadas de tamarindo aveludado (*Dialium cochinchinense*) e seus potenciais sinérgicos antimicrobianos e propriedades de inibição de biofilme. Biometals 37, 143–156 (2024). https://doi.org/10.1007/s10534-023-00534-5.

Ayma CF, Anaya OAM, Peiter GC, Jaerger S, Schneider R. Green synthesis and characterization of silver nanoparticles from Minthostachys acris Schmidt Lebuhn (Muña) and its evaluation as a bactericidal agent against *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. Micro. 2024;4(4):706–20. doi:10.3390/micro4040043.

Bandeira DM, Correa JM, Laskoski LV, Batista JM, Rosset J, da Costa WF, Kuo LH, Pinto FGS. Extraction, characterization of bioactive compounds and biological activities of the leaves of *Podocarpus lambertii* Klotzch ex Endl. J Appl Res Med Aromat Plants. 2022;31:100427.

Batista JM, et al. Analysis of the chemical constituents of *Myrcia glomerata* G. Burton & E. Lucas leaves and assessment of their antimicrobial, antioxidant, and antibiofilm potential against pathogenic microorganisms. Caderno Pedagógico. 2024;21(3):1-34. doi: 10.54033/cadpedv21n3-145.

Bavaresco JB, Bandeira M, Raota CS, Crespo JS, Giovanela M. Síntese verde de nanopartículas de prata a partir do extrato de folhas de erva-mate (*Ilex paraguariensis*). Scientia cum Industria. 2020;8(1):39-45. doi: http://dx.doi.org/10.18226/23185279.v8iss1p39.

Bashir, N., Afzaal, M., Khan, A.L. et al. Green-synthesized silver nanoparticle-enhanced nanofiltration mixed matrix membranes for high-performance water purification. Sci Rep 15, 1001 (2025).

Christensen GD, et al. Adherence of coagulase-negative *Staphylococci* to plastic tissue culture plates: a quantitative model for the adherence of *Staphylococci* to medical devices. Journal of Clinical Microbiology. 1985;22(6):996-1006.

CLSI. Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically. 11th ed. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2018. (CLSI standard M07).

Chandraker SK, Lal M, Kumar A, Shukla R. *Justicia adhatoda* L. mediated green synthesis of silver nanoparticles and assessment of their antioxidant, hydrogen peroxide sensing and optical properties. Materials Technology. 2021;37(10):1355–1365.

Dhar SA, Chowdhury RA, Das S, Nahian MK, Islam D, Gafur MA. Plant-mediated green synthesis and characterization of silver nanoparticles using *Phyllanthus emblica* fruit extract. Materials Today: Proceedings. 2021; 42:1867-1871.

Dúran N, Marcato PD, De Souza GIH, Alves OL, Esposito E. Mechanistic aspects in the biogenic synthesis of extracellular metal nanoparticles by peptides, bacteria, fungi, and plants. Applied Microbiology and Biotechnology. 2011;90(5):1609-1624.

Flieger J, Franus W, Panek R, et al. Green Synthesis of Silver Nanoparticles Using Natural Extracts with Proven Antioxidant Activity. Molecules. 2021;26(16):4986. doi: 10.3390/molecules26164986.

Garcia JAA, Hohmann LGR, Santos PO, Chaves VC, Fuentefria AM, Schenkel EP. Phytochemical profile and biological activities of 'Ora-pro-nobis' leaves (*Pereskia aculeata* Miller), an underexploited superfood from the Brazilian Atlantic Forest. Food Chemistry. 2019; 294:302-308.

Garcia DG, Santos KO, Freitas KFD, Cardoso MJB, Fook MVL. Synthesis of silver nanoparticles by electrodeposition technique for biosensor development. Brazilian Journal of Development. 2021;7(3):31130-31145. doi:10.34117/bjdv7n3-709.

Jalab J, Abdelwahed W, Kitaz A, Al-Kayali R. Green synthesis of silver nanoparticles using aqueous extract of *Acacia cyanophylla* and its antibacterial activity. Heliyon. 2021;7(9).

Jardim FC, Salla GB, Siqueira AA, Rabello F. Antioxidant evaluation of *Pereskia aculeata* Mill in natura, shade-dried, and sun-dried. Braz J Dev. 2021;7(9):89906-25.

Keshari AK, Srivastava R, Singh P, Yadav VB, Nath G. Antioxidant and antibacterial activity of silver nanoparticles synthesized by *Cestrum nocturnum*. J Ayurveda Integr Med. 2020;11(1):37-44.

Korkmaz N, et al. Eco-friendly biogenic silver nanoparticles: synthesis, characterization and biological applications. Int J Environ Sci Technol. 2024. Available from: https://doi.org/10.1007/s13762-024-05860-w.

Li Z, et al. Phytochemicals, antioxidant capacity and cytoprotective effects of jackfruit (*Artocarpus heterophyllus* Lam.) axis extracts on Hepg2 cells. Food Biosci. 2021;41.

Luhata LP, Chick CN, Mori N, Tanaka K, Uchida H, Hayashita T, Usuki T. Synthesis and antioxidant activity of silver nanoparticles using the *Odontonema strictum* leaf extract. Molecules. 2022;27(10):3210. Available from: https://doi.org/10.3390/molecules27103210.

Jia P, et al. Effect of cinnamaldehyde on biofilm formation and sarA expression by methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. Lett Appl Microbiol. 2011;53(4):409-16.

Oselusi SO, Akinyemi TF, Oboh BO, Adeyemi OS. Phytofabrication of silver nanoparticles using *Ehretia rigida* leaf aqueous extract, their characterization, antioxidant and antimicrobial activities. Mater Today Sustain. 2025;29:101059.

Pelegrino MT, Melegari SP, Cardoso RF, Matias WG. Effects of copper oxide nanoparticles on growth of lettuce (Lactuca sativa L.) seedlings and possible implications of nitric oxide in their antioxidative defense. Environ Monit Assess. 2020;192(1):1-14.

Massocatto AM, Ribeiro GBS, Moura EF, Teixeira SL, Marques FG. Biological activity survey of *Pereskia aculeata* Mill. and *Pereskia grandifolia* Haw. (Cactaceae). Pharm Sci. 2021; 28:156-65. DOI: 10.34172/ps.2021.27.

Manosalva N, Tortella G, Diez MC, Rubilar O, Schalchli H, Seabra AB, et al. Green synthesis of silver nanoparticles: effect of synthesis reaction parameters on antimicrobial activity. World J Microbiol Biotechnol. 2019;35(6):88. doi:10.1007/s11274-019-2664-3.

Mikhailova EO. Green silver nanoparticles: an antibacterial mechanism. Antibiotics. 2025;14(1):5. Available from: https://doi.org/10.3390/antibiotics14010005.

Mourdikoudis, S., Pallares, R. M., & Thanh, N. T. K. (2018). Characterization techniques for nanoparticles: comparison and complementarity upon studying nanoparticle properties. Nanoscale, 10(27), 12871-12934.

Mohammed ABA, et al. Antioxidant and antibacterial activities of silver nanoparticles biosynthesized by *Moringa oleifera* through response surface methodology. J Nanomater. 2022;2022(1):1-15.

Nogueira B, Manzato R, Gurgel RS, Albuquerque PM, Mendes FMT, Hotza D. Optimized green synthesis of silver nanoparticles from guarana seed skin extract with antibacterial potential. Green Process Synth. 2025;14(1):20230210.

Nyabola AO, et al. Formação de nanopartículas de prata via extratos de *Aspilia pluriseta* e sua atividade antimicrobiana e catalítica. J Inorg Organomet Polym Mater. 2020:3493–501. Available from: https://doi.org/10.1007/s10904-020-01497-7.

Radzikowska-Büchner E, Flieger W, Pasieczna-Patkowska S, Franus W, Panek R, Korona-Głowniak I, et al. Antimicrobial and apoptotic efficacy of plant-mediated silver nanoparticles. Molecules. 2023 Jul 1;28(14):5519.

Rolim WR, et al. Antimicrobial activity and cytotoxicity to tumor cells of nitric oxide donor and silver nanoparticles containing PVA/PEG films for topical applications. ACS Appl Mater Interfaces. 2019;11(6):6589–604. DOI: 10.1021/acsami.8b19021.

Sandasi M, Leonard CM, Viljoen AM. The effect of five common essential oil components on *Listeria monocytogenes* biofilms. Food Control. 2008;19(11):1070-5.

SKŁODOWSKI, Karol et al. Metallic nanosystems in the development of antimicrobial strategies with high antimicrobial activity and high biocompatibility. International Journal of Molecular Sciences, v. 24, n. 3, p. 2104, 2023.

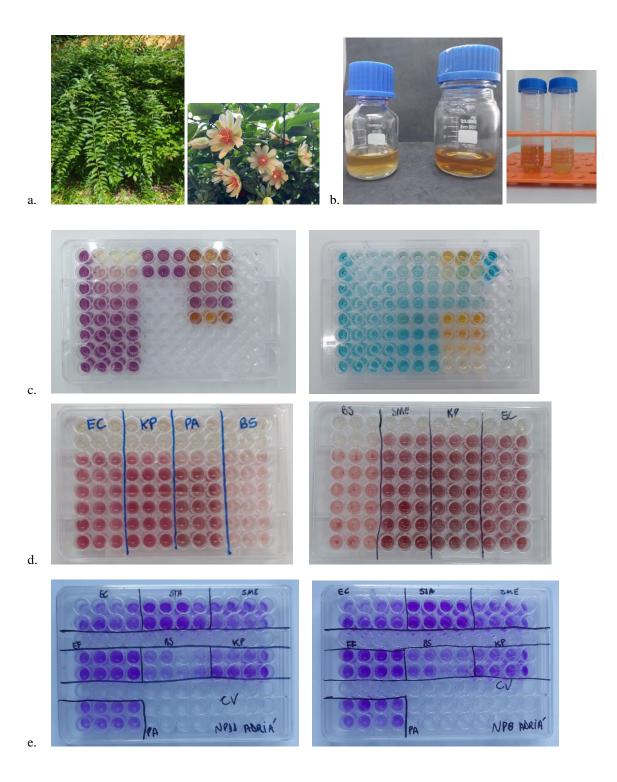
Sreelekha E, George B, Shyam A, et al. Um estudo comparativo sobre a síntese, caracterização e atividade antioxidante de nanopartículas de prata verde e quimicamente sintetizadas. BioNanoScience. 2021;11:489–96. DOI: 10.1007/s12668-021-00824-7.

Sanfelice RC, Pavinatto A, Correa D, Correa DS. Introdução à nanotecnologia. In: Nanotecnologia aplicada a polímeros. São Paulo: Blucher; 2022. cap. 1.

Thanh NC, et al. Silver nanoparticles (AgNPs) fabricating potential of aqueous shoot extract of *Aristolochia bracteolata* and assessed their antioxidant efficiency. Environ Res. 2022;208:112683.

Yang L, Guo T, Yao B, Chen G. Silver amplified enzyme-free colorimetric immunoassay via graphene oxide as AgNPs carrier for sensitive detection of cancer biomarker. Microchem J. 2025 Feb;209:112795.

ANEXO II - MATERIAL COMPLEMENTAR



Legenda: a - Planta adulta de *P. aculeata* localizada próxima ao Horto de Plantas Medicinais e Aromáticas da UFPR, na cidade de Palotina-PR, com as coordenadas -24°10′08" S -53°50′27" O; b - AgNPsOM e AgNPsOI; c - Ensaio da atividade antioxidante DPPH e ABTS; d - Ensaio da atividade antimicrobiana MIC; e - Ensiao da atividade antibiofilme – cristal violeta.

ANEXO III - NORMAS DA REVISTA

Applied International Journal of Environmental Science and Technology ISSN 1735-2630

Qualis: A1, Fator de Impacto: 3,0 CiteScore: 5,6

Aims and scope

International Journal of Environmental Science and Technology (IJEST) is an international scholarly refereed research journal which aims to promote the theory and practice of environmental science and technology, innovation, engineering and management. A broad outline of the journal's scope includes; peer reviewed original research articles, case and technical reports, reviews and analyses papers, short communications and notes to the editor, in interdisciplinary information on the practice and status of research in environmental science and technology, both natural and human made. The main aspects of research areas include, but are not exclusive to; environmental chemistry and biology, environments pollution control and abatement technology, transport and fate of pollutants in the environment, concentrations and dispersion of wastes in air, water, and soil, point and non-point sources pollution, heavy metals and organic compounds in the environment, atmospheric pollutants and trace gases, solid and hazardous waste management; soil biodegradation and bioremediation of contaminated sites; environmental impact assessment, industrial ecology, ecological and human risk assessment; improved energy management and auditing efficiency and environmental standards and criteria.

Title

The title should be concise and informative.

Author information

- The name(s) of the author(s)
- The affiliation(s) of the author(s), i.e. institution, (department), city, (state), country
- A clear indication and an active e-mail address of the corresponding author
- If available, the 16-digit <u>ORCID</u> of the author(s)

If address information is provided with the affiliation(s) it will also be published.

For authors that are (temporarily) unaffiliated we will only capture their city and country of residence, not their e-mail address unless specifically requested.

Large Language Models (LLMs), such as <u>ChatGPT</u>, do not currently satisfy our <u>authorship criteria</u>. Notably an attribution of authorship carries with it accountability for the work, which cannot be effectively applied to LLMs. Use of an LLM should be properly documented in the Methods section (and if a Methods section is not available, in a suitable alternative part) of the manuscript. The use of an LLM (or other AI-tool) for "AI assisted copy editing" purposes does not need to be declared. In this context, we define the term "AI assisted copy editing" as AI-assisted improvements to human-generated texts for readability and style, and to ensure that the texts are free of errors in grammar, spelling, punctuation and tone. These AI-assisted improvements may include wording and formatting changes to the texts, but do not include generative editorial work and autonomous content creation. In all cases, there must be human accountability for the final version of the text and agreement from the authors that the edits reflect their original work.

Abstract

Please provide an abstract of 150 to 250 words. The abstract should not contain any undefined abbreviations or unspecified references.

For life science journals only (when applicable)

- Trial registration number and date of registration for prospectively registered trials
- Trial registration number and date of registration, followed by "retrospectively registered", for retrospectively registered trials

Keywords

Please provide 4 to 6 keywords which can be used for indexing purposes.

Statements and Declarations

The following statements should be included under the heading "Statements and Declarations" for inclusion in the published paper. Please note that submissions that do not include relevant declarations will be returned as incomplete.

• Competing Interests: Authors are required to disclose financial or non-financial interests that are directly or indirectly related to the work submitted for publication. Please refer to "Competing Interests and Funding" below for more information on how to complete this section.

Please see the relevant sections in the submission guidelines for further information as well as various examples of wording. Please revise/customize the sample statements according to your own needs.

Important remark

- According to the journal policy, all first names should be abbreviated.
- All manuscripts shall have ONLY ONE corresponding author. Normally, the author who submits the manuscript is defined as the corresponding author in the system and, thereby, ONLY he/she shall be specified as the corresponding author in the title page.

Text

Text Formatting

Manuscripts should be submitted in Word.

- Use a normal, plain font (e.g., 10-point Times Roman) for text.
- Use italics for emphasis.
- Use the automatic page numbering function to number the pages.
- Do not use field functions.
- Use tab stops or other commands for indents, not the space bar.
- Use the table function, not spreadsheets, to make tables.
- Use the equation editor or MathType for equations.
- Save your file in docx format (Word 2007 or higher) or doc format (older Word versions).

Headings

Please use no more than three levels of displayed headings.

Abbreviations

Abbreviations should be defined at first mention and used consistently thereafter.

Footnotes

Footnotes can be used to give additional information, which may include the citation of a reference included in the reference list. They should not consist solely of a reference citation, and they should never include the bibliographic details of a reference. They should also not contain any figures or tables.

Footnotes to the text are numbered consecutively; those to tables should be indicated by superscript lower-case letters (or asterisks for significance values and other statistical data). Footnotes to the title or the authors of the article are not given reference symbols.

Always use footnotes instead of endnotes.

Acknowledgments

Acknowledgments of people, grants, funds, etc. should be placed in a separate section on the title page. The names of funding organizations should be written in full.

Please note:

The manuscript should be structured as follows:

- Introduction
- Materials and methods
- Results and discussion
- Conclusion
- Acknowledgements (they are obligatory)

References

Citation

Cite references in the text by name and year in parentheses. Some examples:

- Negotiation research spans many disciplines (Thompson 1990).
- This result was later contradicted by Becker and Seligman (1996).
- This effect has been widely studied (Abbott 1991; Barakat et al. 1995a, b; Kelso and Smith 1998; Medvec et al. 1999, 2000).

Reference list

The list of references should only include works that are cited in the text and that have been published or accepted for publication. Personal communications and unpublished works should only be mentioned in the text.

Reference list entries should be alphabetized by the last names of the first author of each work. Please alphabetize according to the following rules: 1) For one author, by name of author, then chronologically; 2) For two authors, by name of author, then chronologically; 3) For more than two authors, by name of first author, then chronologically.

If available, please always include DOIs as full DOI links in your reference list (e.g. "https://doi.org/abc").

Journal article

Gamelin FX, Baquet G, Berthoin S, Thevenet D, Nourry C, Nottin S, Bosquet L (2009) Effect of high intensity intermittent training on heart rate variability in prepubescent children. Eur J Appl Physiol 105:731-738. https://doi.org/10.1007/s00421-008-0955-8

Ideally, the names of all authors should be provided, but the usage of "et al" in long author lists will also be accepted:

Smith J, Jones M Jr, Houghton L et al (1999) Future of health insurance. N Engl J Med 965:325–329

Article by DOI

Slifka MK, Whitton JL (2000) Clinical implications of dysregulated cytokine production. J Mol Med. https://doi.org/10.1007/s001090000086

Book

South J, Blass B (2001) The future of modern genomics. Blackwell, London

Book chapter

Brown B, Aaron M (2001) The politics of nature. In: Smith J (ed) The rise of modern genomics, 3rd edn. Wiley, New York, pp 230-257

Online document

Cartwright J (2007) Big stars have weather too. IOP Publishing PhysicsWeb. http://physicsweb.org/articles/news/11/6/16/1. Accessed 26 June 2007

Dissertation

Trent JW (1975) Experimental acute renal failure. Dissertation, University of California