



UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS-UFAM  
INSTITUTO DE CIÊNCIAS EXATAS E TECNOLOGIA-ICET  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA PARA  
RECURSOS AMAZÔNICOS- PPGCTRA

Alef Ney Nunes da Silva Torres

**Nanopartículas metálicas mediadas por extrato vegetal como possíveis agentes  
alelopáticos**

**ITACOATIARA - AM**

**2026**

Alef Ney Nunes da Silva Torres

**Nanopartículas metálicas mediadas por extrato vegetal como possíveis  
agentes alelopáticos**

Dissertação apresentada ao Programa de  
Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia  
para Recursos Amazônicos (PPGCTRA)  
como pré-requisito para obtenção da  
titulação de Mestre em Ciência e  
Tecnologia para Recursos Amazônicos.

Orientador: Prof. Dr. Paulo José de Sousa Maia

Coorientadora: Prof. M<sup>a</sup> Sanderleia dos Santos

**ITACOATIARA - AM**

**2026**

Ficha Catalográfica

Elaborada automaticamente de acordo com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

---

T693n      Torres, Alef Ney Nunes da Silva  
Nanopartículas metálicas mediadas por extrato vegetal como  
possíveis agentes alelopáticos / Alef Ney Nunes da Silva Torres. -  
2026.  
61 f. ; 31 cm.

Orientador(a): Paulo José de Sousa Maia.  
Coorientador(a): Maria Sanderleia dos Santos.  
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal do Amazonas,  
Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia para  
Recursos Amazônicos, Itacoatiara - AM, 2026.

1. Alelopatia. 2. Murici. 3. nanopartículas de cobre. 4. síntese  
verde. 5. *Byrsonima crassifolia*. I. Maia, Paulo José de Sousa. II.  
Santos, Maria Sanderleia dos. III. Universidade Federal do  
Amazonas. Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia  
para Recursos Amazônicos. IV. Título

---



**Alef Ney Nunes da Silva Torres**

## **Nanopartículas metálicas mediadas por extrato vegetal como possíveis agentes alelopáticos**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia para Recursos Amazônicos da Universidade Federal do Amazonas, como parte do requisito para obtenção do título de Mestre em Ciência e Tecnologia para Recursos Amazônicos, área de concentração Desenvolvimento Científico e Tecnológico em Recursos Amazônicos.

Aprovado(a) em 28.05.2026

### **BANCA EXAMINADORA**

Documento assinado digitalmente  
 PAULO JOSE DE SOUSA MAIA  
Data: 16/06/2026 23:54:54-0300  
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Dr. Paulo José de Sousa Maia (Presidente e Orientador)

Documento assinado digitalmente  
 JOSE WILMO DA CRUZ JUNIOR  
Data: 29/05/2026 11:04:09-0300  
CPF: \*\*\*.670.326-\*\*  
Verifique as assinaturas em <https://v.ufsc.br>

Prof. Dr. José Wilmo da Cruz Junior (UFSC)

Documento assinado digitalmente  
 DOMINIQUE FERNANDES DE MOURA DO CARMO  
Data: 16/06/2026 23:33:01-0300  
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Profa. Dra. Dominique Fernandes de Moura do Carmo  
(PPGCTRA/UFAM)

Rua Nossa Senhora do Rosário, 3863, Tiradentes. CEP: 69103-128 – Itacoatiara/AM

Telefone: (92) 99271-8661 e-mail: [secretariappgctra@ufam.edu.br](mailto:secretariappgctra@ufam.edu.br)

## **AGRADECIMENTOS**

Os meus agradecimentos vão primeiro à meu Deus que por mim tudo fez e tudo proverá, a minha família que sempre torceram por mim e depois vai para meus amigos que fiz ao longo da carreira acadêmica, Matheus Feitosa, Marcio Laranjeira Anselmo, Noelly Figueredo e muitos outros que por mim torceram, agradeço também ao meu orientador Paulo Maia e coorientadora Sanderléia pelos ensinamentos, pois as orientações de ambos foram muito importantes nesta caminhada de conhecimento.

E assim, finalizo deixando uma frase à todos: “para quem tem pensamento forte, o impossível é só questão de opinião”.

## RESUMO

Na atualidade o Brasil é um dos líderes mundiais na produção e exportação de commodities agrícolas, atividade com impacto direto no seu PIB e acordos comerciais. Neste contexto, o uso de agroquímicos é uma prática consolidada, mas que tem gerado intensos debates. Neste viés, órgãos ambientais e a comunidade científica alertam para os riscos de seu uso excessivo, que incluem a contaminação do solo e de corpos hídricos, a intoxicação da fauna e danos à saúde humana. Como alternativa, a Química Verde surge como uma abordagem científica para revisar práticas convencionais sob a ótica da sustentabilidade. Paralelo, a nanotecnologia tem obtido avanços significativos, especialmente na síntese de nanopartículas com estudos com aplicações biológicas. Para tal, sintetizar nanopartículas de cobre (CuNPs) a partir de sulfato de cobre (II) mediadas por extrato de murici (*Byrsonima crassifolia*) e avaliar seu potencial alelopático é o objetivo do estudo. Para isso, realizou-se a coleta do vegetal, a obtenção do extrato aquoso bruto e a análise do seu perfil fitoquímico. A síntese das CuNPs foi bem-sucedida, conforme indicado pela caracterização por UV-Vis, mostrando bandas de absorção entre 240-260 nm e 270-340 nm, compatíveis com a formação de nanopartículas. Além do mais, os testes qualitativos do extrato confirmaram a presença de classes metabólicas ativas, como saponinas, taninos hidrolisáveis, quinonas, alcaloides, terpenos e flavonoides. Por outro lado, a análise de variância, demonstrou que 71,9% da variabilidade total nos dados, ou seja, o fator concentração do extrato emergiu significativamente para ( $p < 0,001$ ), sendo responsável por 54,2% da variância explicada no estudo. Quanto aos efeitos padronizados a linha tracejada vertical indica o limite de significância ( $\alpha=0,05$ ), o fator concentração do extrato apresenta o efeito absoluto mais significativo. Somado a isso, as técnicas de validação, usando a ANOVA explica 71,9% da variância ( $R^2 = 0,719$ ), sendo o coeficiente positivo para concentração (0,3637) confirmando o impacto benéfico. Para tanto, a interação negativa (-0,1417) revela que o efeito positivo da alta concentração é atenuado a 40°C. Assim, a condição ótima identificada pH 7, extrato 1,0%, 30°C representa um equilíbrio, máxima concentração de agente redutor, em uma temperatura que modera a cinética para um crescimento controlado, em um pH alcalino que favorece a desprotonação dos grupos fenólicos, aumentando seu poder redutor. Neste sentido, a temperatura mostrou-se o parâmetro mais sensível, com variações no custo total superando 0.15 unidades para uma oscilação de 20%, a concentração do extrato apresentou sensibilidade moderada, enquanto o pH foi o parâmetro menos impactante. Além disso, ambos os cenários analisados (Low\_Cost e Optimal\_Technical) apresentam curvas de decaimento pronunciadas, com reduções de custo superiores a 70% ao se passar da menor para a maior escala. Por fim, os estudos alelopáticos indicam os efeitos principais para ambos os fatores sendo significativos (Tratamento:  $p < 0,0001$ ; Cultura/Espécie:  $p = 0,0211$ ), indicando que tanto a concentração do nanomaterial quanto a espécie vegetal foram determinantes e essenciais no desfecho germinativo, alcançando resultados concretos ao estudo.

**Palavras chaves:** Alelopatia, Murici, nanopartículas de cobre, síntese verde, *Byrsonima crassifolia*.

## ABSTRACT

Currently, Brazil is one of the world leaders in the production and export of agricultural commodities, an activity with a direct impact on its GDP and trade agreements. In this context, the use of agrochemicals is a well-established practice, but one that has generated intense debate. In this context, environmental agencies and the scientific community warn of the risks of its excessive use, which include soil and water contamination, wildlife poisoning, and damage to human health. As an alternative, Green Chemistry emerges as a scientific approach to revise conventional practices from a sustainability perspective. In parallel, nanotechnology has made significant progress, especially in the synthesis of nanoparticles with studies exploring biological applications. Para tal, sintetizar nanopartículas de cobre (CuNPs) a partir de sulfato de cobre (II) mediadas por extrato de murici (*Byrsonima crassiifolia*) e avaliar seu potencial alelopático é o objetivo do estudo. Para isso, realizou-se a coleta do vegetal, a obtenção do extrato aquoso bruto e a análise do seu perfil fitoquímico. A síntese das CuNPs foi bem-sucedida, conforme indicado pela caracterização por UV-Vis, mostrando bandas de absorção entre 240-260 nm e 270-340 nm, compatíveis com a formação de nanopartículas. Furthermore, qualitative tests of the extract confirmed the presence of active metabolic classes, such as saponins, hydrolyzable tannins, quinones, alkaloids, terpenes, and flavonoids. On the other hand, the analysis of variance demonstrated that 71.9% of the total variability in the data, that is, the extract concentration factor, emerged significantly ( $p < 0.001$ ), being responsible for 54.2% of the variance explained in the study. Regarding the standardized effects, the vertical dashed line indicates the significance limit ( $\alpha=0.05$ ), the extract concentration factor presents the most significant absolute effect. In addition, validation techniques using ANOVA explain 71.9% of the variance ( $R^2 = 0.719$ ), with the positive coefficient for concentration (0.3637) confirming the beneficial impact. However, the negative interaction (-0.1417) reveals that the positive effect of high concentration is attenuated at 40°C. Thus, the optimal condition identified – pH 7, 1.0% extract, 30°C – represents an equilibrium, maximum concentration of reducing agent, at a temperature that moderates the kinetics for controlled growth, in an alkaline pH that favors the deprotonation of phenolic groups, increasing their reducing power. In this regard, temperature proved to be the most sensitive parameter, with total cost variations exceeding 0.15 units for a 20% fluctuation; extract concentration showed moderate sensitivity, whereas pH was the least impactful parameter. Furthermore, both analyzed scenarios (Low\_Cost and Optimal\_Technical) exhibit steep decay curves, with cost reductions exceeding 70% when moving from the smallest to the largest scale. Finally, the allelopathic studies indicate that the main effects for both factors were significant (Treatment:  $p < 0.0001$ ; Crop/Species:  $p = 0.0211$ ), demonstrating that both nanomaterial concentration and plant species were decisive and essential factors in the germination outcome, yielding concrete results for the study.

**Keywords:** Allelopathy, Murici, copper nanoparticles, green synthesis, *Byrsonima crassifolia*.

## Listas de Figuras

|                                                                                                                                                         |    |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>Figura 1</b> - Representação da agricultura familiar no Brasil .....                                                                                 | 16 |
| <b>Figura2</b> - Imagem que representa da existência do uso de agroquímicos<br>.....                                                                    | 17 |
| <b>Figura 3</b> - A importância da Química Verde agregada a nanotecnologia .....                                                                        | 18 |
| <b>Figura 4</b> - Representação da síntese de nanopartícula em vegetal .....                                                                            | 20 |
| <b>Figura 5</b> - Características gerais da árvore do muricizeiro.....                                                                                  | 21 |
| <b>Figura 6</b> - Frutos verdes e amarelos de <i>Byrsonima crassifolia</i> - Murici .....                                                               | 26 |
| <b>Figura7</b> - Compostos isolados do Murici ( <i>Byrsonima crassifolia</i> ) .....                                                                    | 22 |
| <b>Figura 8</b> - Tamanhos dimensionais de objetos em escala nanométrica .....                                                                          | 23 |
| <b>Figura 9</b> - Representação da produção de nanoestruturas através do bottom-up e<br>top-down.....                                                   | 24 |
| <b>Figura 10</b> - Imagem representativa dos aspectos alelopáticos .....                                                                                | 25 |
| <b>Figura 11</b> - Representação da coleta do vegetal <i>Byrsonima crassifolia</i> (Murici)<br>.....                                                    | 27 |
| <b>Figura 12</b> - Obtenção do material (A), secagem em estufa(B), pesagem (C),<br>elaboração de extrato (D), usando <i>Byrsonima crassifolia</i> ..... | 28 |
| <b>Figura 13</b> - Representação do sistema nanoparticulado (A), solução de CuSO <sub>4</sub> (B),<br>testes em diferentes temperaturas (C).....        | 31 |
| <b>Figura 14</b> - Representação da árvore, coleta e obtenção de extrato bruto usando<br><i>Byrsonima crassifolia</i> .....                             | 35 |
| <b>Figura 15</b> - Triagem fitoquímica do extrato aquoso de <i>Byrsonima crassifolia</i><br>.....                                                       | 36 |
| <b>Figura 16</b> - (A) Espectro Uv-Vis do extrato aquoso de <i>Byrsonima crassifolia</i> , (B)<br>decaimento temporal da absorbância .....              | 37 |
| <b>Figura 17</b> - Gráfico de Pareto dos defeitos padronizados para o delineamento<br>fatorial.....                                                     | 39 |
| <b>Figura 18</b> - Superfície de resposta para síntese de CuSO <sub>4</sub> .....                                                                       | 41 |
| <b>Figura 19</b> - Análise de Taguchi e análise de potência estatística .....                                                                           | 42 |
| <b>Figura 20</b> - Eficiência custo benefício por cenário.....                                                                                          | 43 |
| <b>Figura 21</b> - Relação custo-Absorbância por cenário .....                                                                                          | 44 |
| <b>Figura 22</b> - Composição percentual de custos .....                                                                                                | 45 |

|                                                                                                         |    |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>Figura 23</b> - Impacto no custo total de variações.....                                             | 45 |
| <b>Figura 24</b> - Economia de escala na síntese de CuO-NPs .....                                       | 46 |
| <b>Figura 25</b> - Espectro Uv-vis de suspensões coloidais obtidos por oito condições de sínteses ..... | 46 |
| <b>Figura 26</b> - Perfil Multidimensional dos parâmetros de germinação .....                           | 52 |
| <b>Figura 27</b> - Perfil temporal diário de germinação .....                                           | 53 |
| <b>Figura 28</b> - valores de entropia .....                                                            | 53 |
| <b>Figura 29</b> - Matrizes de relação de Pearson .....                                                 | 53 |
| <b>Figura 30</b> - Heatmap (mapa de calor) .....                                                        | 54 |
| <b>Figura 31</b> - Matriz de correlação de Pearson geral.....                                           | 56 |
| <b>Figura 32</b> - Comparação de múltiplos parâmetros germinativos. ....                                | 57 |

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

Carbono - Carbono

CuNPs - Nanopartículas de cobre

CuSO<sub>4</sub> - Sulfato de cobre

C=O - Funcional

°C - Celsius

Mililitro - mL

Milímetro - mm

NaOH - Hidróxido de sódio

nm - Nanômetro

N - Nitrogênio

NPMs - Nanopartículas metálicas

NPs - Nanopartículas

OH - Grupo hidroxila

O - Oxigênio

pH - Potencial Hidrogeniônico

RPS - Ressonância de *plasmon* de superfície

TEM - Microscopia eletrônica de transmissão

u. a - Unidade adimensional

UV-Vis - Espectroscopia de ultravioleta-visível

V - Volume

$\lambda$  - Lâmbda

## SUMÁRIO

|                                                                                  |    |
|----------------------------------------------------------------------------------|----|
| 1. INTRODUÇÃO .....                                                              | 14 |
| 2. REFERENCIAL TEÓRICO .....                                                     | 16 |
| 2.1 Agricultura no Brasil.....                                                   | 16 |
| 2.2 Agroquímicos nas lavouras .....                                              | 17 |
| 2.3 Química Verde Atrelada Aos Estudos Nanoparticulados .....                    | 18 |
| 2.4 Síntese de nanopartículas de Cobre (CuNPs) .....                             | 19 |
| 2.5 Muricí ( <i>Byrsonima crassifolia</i> ) .....                                | 21 |
| 2. 6. Nanotecnologia.....                                                        | 23 |
| 2. 7. Alelopatia.....                                                            | 24 |
| 3. OBJETIVOS.....                                                                | 26 |
| 3. 1. Objetivo geral.....                                                        | 26 |
| 3. 2. Objetivos específicos .....                                                | 26 |
| 4. METODOLOGIA.....                                                              | 27 |
| 4. 1 Obtenção e Análise Fitoquímica do Extrato de Murici .....                   | 27 |
| 4.1.1Pesquisa de Saponinas (Teste da Espuma) .....                               | 28 |
| 4. 1. 2 Pesquisa de Taninos (Teste de Cloreto Férrico e da gelatina) .....       | 28 |
| 4. 1. 3 Pesquisa de Quinonas (Reação de Borntrager) .....                        | 29 |
| 4. 1. 4 Pesquisa de Alcalóides (Teste de Mayer e Wagner).....                    | 29 |
| 4. 1. 5 Pesquisa de Terpenos e Esteróides ( Reação de Liebermann-Burchard) ..... | 28 |
| 4. 1. 6 Pesquisa de Flavonóides ( Teste com NaOH e Cloreto Férrico).....         | 29 |
| 4. 2 Síntese Verde e Otimização das Nanopartículas de cobre (CuNPs).....         | 30 |
| 4.2.1 Delineamento Experimental e Análise Estatística.....                       | 30 |
| 4.2.2 Procedimento de Síntese e Purificação .....                                | 30 |
| 4.3 Caracterização Físicoquímica das CuNPs .....                                 | 31 |
| 4.4 Bioensaio de Germinação e Fitotoxicidade.....                                | 31 |
| 4.4.1 Material Vegetal e Esterilização das Sementes .....                        | 31 |
| 4.4.2 Delineamento Experimental e Aplicação dos tratamentos. ....                | 31 |
| 4.4.3 Monitoramento e Análise de Parâmetros Germinativos .....                   | 33 |

|                                                                                              |    |
|----------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| 4.5 Análise Estatística .....                                                                | 33 |
| 4.6 Metodologia da Análise de Custo .....                                                    | 34 |
| 5 RESULTADOS E DISCUSSÕES .....                                                              | 35 |
| 5.1 Caracterização do Extrato de <i>Byrsonima crassifolia</i> e seu Perfil Fitoquímico ..... | 35 |
| 5.2 Otimização Estatística da Síntese Verde de CuNPs .....                                   | 38 |
| 5.3 Eficiência Custo-Benefício dos Cenários .....                                            | 42 |
| 5.4 Caracterização óptica e Confirmação de Síntese de CuNPs .....                            | 47 |
| 5.5 Avaliação do Efeito Alelopático das CuNPs Sintetizadas por Síntese verde .....           | 49 |
| 6 CONSIDERAÇÕES FINAIS .....                                                                 | 57 |
| PERSPECTIVAS FUTURAS .....                                                                   | 59 |
| REFERÊNCIAS .....                                                                            | 69 |

## 1. INTRODUÇÃO

O Brasil consolida-se como um dos maiores produtores e exportadores de commodities agrícolas do mundo, atividade com impacto direto no seu Produto Interno Bruto (PIB). Para sustentar essa produção, analogicamente, cultivos como soja, café e milho dependem intensivamente de insumos, entre os quais se destacam os agroquímicos, cujo uso tem gerado debates e alertas em cultivos nas produções em escala global (De Azevedo *et al.*, 2024; Brainer e Ximenes, 2021; Cardoso, 2024).

O termo "agroquímicos" abrange uma variedade de produtos, como inseticidas, herbicidas e fungicidas, classificados conforme o alvo biológico. Apesar de suas aplicações específicas, compartilham uma característica comum: o risco intrínseco devido ao seu potencial de contaminação ambiental (Rembischevski & Caldas, 2018).

Diante dessa realidade, órgãos ambientais e a comunidade científica manifestam crescente preocupação com os efeitos do emprego excessivo desses compostos. Com isso, sua infiltração no solo, o escoamento para corpos hídricos e a contaminação da biota acarretam graves problemas ecossistêmicos e de saúde pública, incluindo a incidência de diversos tipos de câncer em humanos e animais. Tais impactos contradizem a função original desses produtos, que é o controle de pragas, ervas daninhas e microrganismos (Brangioni e Gomides, 2021).

Apesar da existência de legislação restritiva, dois problemas persistem: o contrabando de defensivos não registrados e os impactos negativos daqueles legalmente permitidos. Nesse contexto, o avanço tecnológico tem fomentado projetos que buscam alternativas sustentáveis para a agricultura. Dentre eles, a nanotecnologia emerge como uma ferramenta promissora, capaz de agregar valor e inovação de forma alinhada aos preceitos de sustentabilidade (Silva e Sato, 2024).

Dessa forma, a nanotecnologia, ao manipular materiais em escala nanométrica (inferior à de uma bactéria, por exemplo), abre possibilidades de aplicação em diversas áreas. Na agricultura, destaca-se o avanço em estudos alelopáticos, que podem auxiliar na germinação de sementes, no reflorestamento e no cultivo de hortaliças, contribuindo assim para a segurança alimentar (Silva *et al.*, 2017).

Nesse panorama, a síntese verde apresenta-se como uma abordagem fundamental, pois demonstra ser viável a produção de nanopartículas metálicas por vias sustentáveis, minimizando impactos ambientais e riscos à saúde. Essa

perspectiva reforça a urgência de se adotarem soluções tecnológicas que estejam intrinsicamente alinhadas aos princípios da preservação ambiental, um requisito essencial para os desafios do mundo contemporâneo (Lemos *et al.*, 2021).

Portanto, há à necessidade de alternativas eficazes e menos impactantes, pois este trabalho teve como objetivo sintetizar nanopartículas de cobre (CuNPs) a partir de sulfato de cobre (II) ( $\text{CuSO}_4$ ), utilizando extrato de Murici (*Byrsonima crassifolia*) como agente redutor e estabilizante, e avaliar seu potencial alelopático.

## 2. REFERENCIAL TEÓRICO

### 2. 1 Agricultura no Brasil

A agricultura é uma prática milenar e um marco fundamental para a sociedade humana, tendo possibilitado a transição do nomadismo para os assentamentos fixos. Historicamente, o cultivo de diversas espécies vegetais garantiu a produção de alimentos e a subsistência das populações na atualidade (Castanho, 2017).

**Figura 1** – Representação da agricultura familiar



**Fonte:** Nascimento *et al.*, 2025.

No cenário nacional, as principais commodities agrícolas são a soja, o milho e o café. Em 2024, o complexo soja (grão, farelo e óleo) destacou-se como o produto mais exportado, contribuindo significativamente para os cerca de US\$ 97,8 bilhões gerados pelas exportações do agronegócio no Brasil (Cardoso *et al.*, 2024).

A Companhia Nacional de Abastecimento (CONAB) projeta que a safra 2024/25 alcance 345,2 milhões de toneladas, superando a produção de 320,91 milhões de toneladas registrada no biênio 2022/2023. O último Censo Agropecuário (2017) apontou a existência de aproximadamente 580.613 propriedades rurais na região Norte do Brasil, mais de 80% das quais são classificadas como de agricultura familiar. Entretanto, esses agricultores enfrentam o desafio de competir em condições desiguais com a agricultura comercial em larga escala. Para gerar renda de forma sustentável, torna-se necessário o desenvolvimento de estratégias inovadoras, uma

vez que depender exclusivamente da agricultura de subsistência tem se mostrado uma realidade cada vez mais difícil e de inúmeros debates (Belik *et al.*, 2015).

## 2. 2. Agroquímicos nas lavouras

Segundo estudos, desde 2008, o Brasil, é detentor de um vasto território agrícola, liderando o ranking mundial de consumo de agrotóxicos. Esta posição não é vista com prestígio pela comunidade científica, ainda que se argumente que tais substâncias sejam necessárias para garantir a segurança alimentar da população e atender à demanda de consumidores externos via exportações (Ogino e Bacha, 2021).

**Figura 2** - Imagem que representa a existência do uso de agroquímicos em lavouras



**Fonte:** Bacha *et al.*, 2021.

Estes produtos podem ser aplicados por meio de pulverização aérea, tratores ou manualmente. Para tal, seu manuseio exige rigor técnico, pois a aplicação irresponsável tem sido associada a diversos casos de contaminação de rios, lagos e cultivos. Além do mais, o consumo de água e alimentos provenientes dessas regiões contaminadas pode levar à intoxicação de pessoas e animais, com consequências que variam de problemas de saúde crônicos e até mesmo a óbitos (Pignati *et al.*, 2017).

Neste sentido, os agroquímicos, categorizados conforme sua ação (ex.: inseticidas, herbicidas), representam riscos ambientais devido ao seu potencial de infiltração no solo e contaminação de aquíferos, contribuindo para tal fatores como a degradação de ecossistemas na natureza (Jankowska, Embaya e Kuczynski, 2024).

Segundo Matias *et al.* (2021), enquanto a área plantada no Brasil cresceu 9 milhões de hectares entre 2009 e 2017, os lucros gerados pelo uso intensivo de

agrotóxicos concentram-se em uma pequena parcela da população. A maioria permanece em situação de vulnerabilidade e ainda carrega o ônus dos riscos à saúde associados à ingestão de produtos contaminados. Como exemplo, em Goiás e Mato Grosso, as vendas de agrotóxicos aumentaram 239% e 255%, respectivamente, em um período em que o crescimento da área plantada foi proporcionalmente muito menor.

Neste cenário, o avanço de pesquisas que buscam alternativas sustentáveis torna-se crucial. O objetivo é reduzir significativamente, ou até mesmo substituir, o uso desses produtos químicos convencionais. Atualmente, um dos caminhos mais promissores é o desenvolvimento de insumos agrícolas por meio de sínteses verdes, que minimizem os impactos ambientais durante e após sua aplicação (Benelli, 2015).

### 2.3. Química verde atrelada aos estudos nanoparticulados

Ao longo do tempo, todas as áreas da ciência enfrentaram obstáculos, muitas vezes percebidos quando os efeitos negativos de suas aplicações começaram a superar os benefícios. A Química, como ciência para o desenvolvimento tecnológico e industrial, não foi exceção. Após décadas de contribuições para o progresso, tornou-se evidente seu papel na geração de resíduos tóxicos, usando substâncias perigosas e em impactos adversos à saúde humana e ao meio ambiente (Machado, 2012).

**Figura 3 - A importância da Química Verde agregada a nanotecnologia**



Fonte: Machado *et al.*, 2012.

Nesse contexto, a Química Verde surgiu como uma resposta à necessidade de revisar as práticas tradicionais. Além disso, ela constitui uma abordagem científica fundamentada na sustentabilidade, cujo objetivo primordial é a prevenção da poluição e a mitigação de impactos ambientais. Por outro lado, esta vertente incorpora tais preocupações desde a fase de planejamento de processos e produtos, norteando-se por doze princípios que consolidaram um referencial teórico e prático para indústrias e instituições de pesquisa científicas na área (Sousa, Silva e Costa, 2020).

Analogicamente, o primeiro princípio é a prevenção, pois evitar a geração de resíduos é mais eficiente e seguro do que tratá-los posteriormente. A eficiência atômica busca maximizar a incorporação dos átomos dos reagentes no produto final, minimizando perdas. A síntese de substâncias menos perigosas incentiva o uso de reagentes com baixa toxicidade para humanos e para o ecossistema (Prado, 2003).

Paralelamente, busca-se a criação de produtos mais seguros, que não persistam no ambiente após o uso. A escolha de solventes e substâncias auxiliares seguras e, contudo, renováveis, também é priorizada, reduzindo a dependência de recursos não renováveis (De Sousa *et al.*, 2021; Ventapane e Santos, 2021).

Outro ponto crucial é o planejamento para a degradação final dos produtos, assegurando que não deixem resíduos persistentes. Para isso, o monitoramento em tempo real dos processos é essencial para prevenir a formação de subprodutos tóxicos. Afinal, a prevenção de acidentes feita na escolha de reagentes e processos seguros protege tanto os profissionais quanto o meio ambiente (Lenardão *et al.*, 2003).

Em suma, a adoção desses princípios tem fomentado práticas mais sustentáveis na indústria química, incluindo o uso de recursos naturais como microrganismos e extratos vegetais. Mediante a isso, plantas como a Aloe vera e o guaraná (*Paullinia cupana*) têm demonstrado eficiência como agentes em diversas aplicações da Química Verde nas últimas décadas (Vieira, 2021; Prado, 2003).

## **2.4 Síntese de Nanopartículas de Cobre (CuNPs)**

As nanopartículas de cobre (CuNPs) despertam grande interesse científico devido às suas propriedades físico-químicas singulares. A síntese verde, que



## 2.5 Murici (*Byrsonima crassifolia*)

O uso das mais variadas espécies de plantas para benefício humano é uma prática ancestral. A origem envolve o misticismo, a fitoterapia foi gradualmente consolidando-se como forma de tratamento das enfermidades (Pessoa *et al.*, 2018).

Neste contexto, a *Byrsonima crassifolia*, popularmente conhecida como murici, é uma árvore frutífera perene que pode atingir de 2 a 6 metros de altura. A mesma, possui tronco irregular com diâmetro entre 15 e 25 cm, casca espessa e folhas curto-pecioladas com indumento ferrugíneo na face inferior. Suas inflorescências apresentam flores hermafroditas de cinco pétalas amarelas (Dos Santos *et al.*, 2019).

**Figura 5** – Características gerais da árvore do muricizeiro



**Fonte:** Dos Santos *et al.*, 2019.

Na região amazônica, essa espécie é conhecida por diversos nomes populares, como murici, douradinha-falsa e orelha-de-veado. Seu fruto é uma drupa pequena, arredondada, de coloração amarela quando madura. A polpa é pastosa e aromática, envolvendo um endocarpo rígido que contém uma semente viável (De Araújo e Dos Santos, 2014), como observado na Figura 6 (De Araújo, Dos Santos, 2014).

**Figura 6** - Frutos verdes e amarelos de *Byrsonima crassifolia* – Murici



**Fonte:** Oliveira *et al.*, 2022.

Entretanto, do ponto de vista fitoquímico, é rico em metabólitos secundários biologicamente orgânicos. Ensaios com teor qualitativos detectam a presença de esteroides, terpenoides e compostos ativos, como mostra Figura 7. Tradicionalmente, a casca é utilizada por suas propriedades antipirética, antidiarreica e broncodilatadora, enquanto as folhas e sementes são empregadas como diuréticas, antioxidantes, antibacterianas e anti-inflamatórias segundo (Sobrinho, 2020; Oliveira *et al.*, 2020).

**Figura 7** - Compostos isolados do (*Byrsonima crassifolia*)



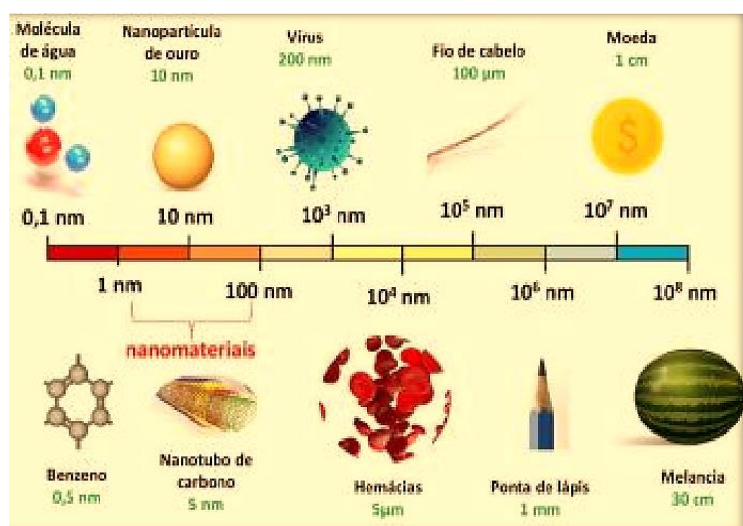
**Fonte:** Saldanha *et al.*, 2025.

## 2.6 Nanotecnologia

A nanotecnologia é um ramo da ciência com crescimento exponencial, cujas aplicações abrangem materiais orgânicos e inorgânicos e permeiam áreas como biologia, física, química e biotecnologia. Suas nanoestruturas são consideradas fundamentais no desenvolvimento de novos produtos (Faramarzi *et al.*, 2020).

Além disso, essa ciência explora propriedades únicas (eletroquímicas, ópticas, elétricas) que emergem na escala nanométrica (abaixo de 100 nm), pois as nanopartículas podem apresentar formatos variados (esféricos, cúbicos, triangulares) e, devido ao seu tamanho diminuto, requerem equipamentos específicos e essenciais para sua visualização, como exemplificado na figura 8 (Sadighi *et al.*, 2013).

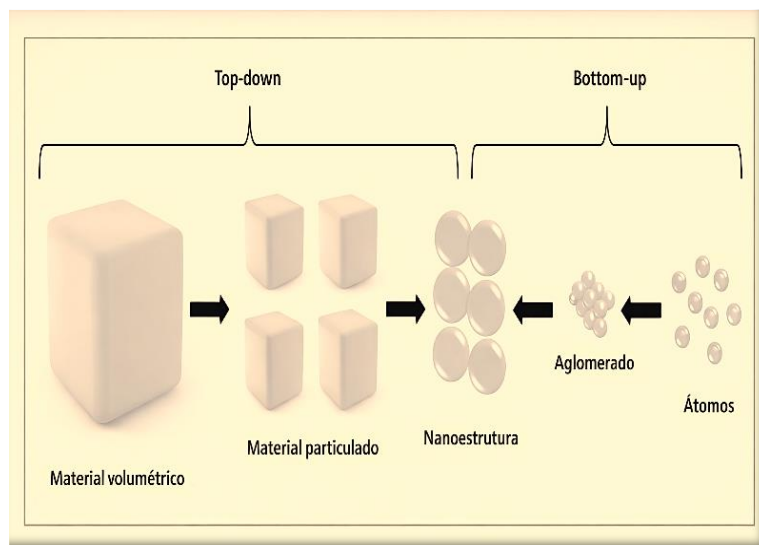
**Figura 8** - Tamanhos dimensionais de objetos conhecidos em escala nanométrica



**Fonte:** Sanfilice *et al.*, 2022.

Na produção de nanomateriais, duas abordagens principais são reconhecidas: bottom-up e top-down. A abordagem bottom-up constrói materiais a partir de átomos ou moléculas, podendo demandar muitos recursos e gerar subprodutos (Fig. 9). Já a abordagem top-down parte de um material macroscópico e o fragmenta até a escala nanométrica. A síntese verde, como a empregada neste trabalho para produção de CuNPs, geralmente se alinha ao conceito bottom-up, utilizando recursos naturais de forma eficiente e com menor geração de resíduos poluentes (Sanfilice *et al.*, 2022).

**Figura 9** - Representação da produção de nanoestruturas através do “*bottom-up*” e “*top-down*”



**Fonte:** Sanfilice *et al.*, 2022.

A intersecção entre nanotecnologia e biotecnologia dá origem à nanobiotecnologia, uma área interdisciplinar e sem fronteiras definidas. Desta forma, a síntese verde, utilizando fungos, bactérias ou extratos vegetais, é um pilar desta convergência nas pesquisas. No contexto vegetal, compostos como polifenóis, flavonoides e terpenos atuam como agentes redutores e estabilizantes na formação de nanopartículas, usando metais específicos (Rai, 2013; Kobayashi *et al.*, 2015).

## 2.7. Alelopatia

O fisiologista vegetal Hans Molisch, descreveu que alelopatia é uma palavra grega que significa “sofrimento mútuo entre si”, ele descreveu a palavra de forma comparativa, e assim fizeram outros autores, dizendo que é possível obter efeito alelopático até mesmo de petróleo, caído de um navio, e que teria efeito (Willis, 2007).

Consoante a isso, Molisch diz que a alelopatia significa “efeito de uma planta sobre a outra”, mas o que se compreende sobre esse assunto que geram muitas pesquisas, é que existem substâncias (aleloquímicos) presentes dentro das plantas que são capazes de gerar esse efeito conhecido como alelopático (Ferreira, 2018).

**Figura 10** - Imagem representativa dos aspectos alelopáticos



**Fonte:** Gonçalves *et al.*, 2020.

Com base, em sua essência, a alelopatia envolve a ação de substâncias conhecidas como aleloquímicos, que são capazes de influenciar a germinação, o crescimento e o desenvolvimento de plantas medicinais (Ferreira, 2018).

Os efeitos alelopáticos podem ser classificados como positivos (estimulantes), negativos (inibitórios) ou neutros. Definições mais recentes, como as propostas por Haida *et al.* (2010) e Graeber *et al.* (2017), ampliam o conceito para incluir a interação de aleloquímicos liberados por qualquer organismo vivo sobre a fisiologia vegetal. Esses compostos têm potencial para aplicação como bioherbicidas, inseticidas, nematocidas ou mesmo como estimulantes do crescimento (Pires e Oliveira, 2021).

Portanto, este trabalho buscou utilizar o extrato de *Byrsonima crassifolia* para a síntese verde de nanopartículas de cobre (CuNPs) e aplicar essas nanopartículas em ensaios alelopáticos. As espécies-alvo escolhidas foram *Ochroma pyramidale* (pau-de-balsa), cuja germinação na natureza pode levar de 12 dias a vários meses, e *Citrullus lanatus* (melancia), que normalmente germina entre 5 e 10 dias. O objetivo é avaliar o comportamento germinativo dessas sementes frente às soluções de CuNPs sintetizadas com extrato aquoso de murici.

### **3. OBJETIVOS**

#### **3. 1 Objetivo Geral**

Sintetizar e caracterizar nanopartículas de cobre (CuNPs) a partir de sulfato de Cobre (II) ( $\text{CuSO}_4$ ), utilizando extrato da casca seca de Murici (*Byrsonima crassifolia*) como agente redutor e estabilizante, e avaliar o potencial alelopático.

#### **3.2. Objetivos específicos**

1. Obter o extrato aquoso bruto a partir da casca seca de Murici (*Byrsonima crassifolia*).
2. Realizar a caracterização fitoquímica preliminar (perfil químico) do extrato da casca de Murici.
3. Sintetizar nanopartículas de cobre (CuNPs) pelo método de síntese verde, utilizando o extrato aquoso de *Byrsonima crassifolia* como agente redutor do precursor de sulfato de Cobre (II) ( $\text{CuSO}_4$ ).
4. Avaliar o efeito alelopático das nanopartículas de cobre (CuNPs) sintetizadas sobre a germinação de espécies-alvo.

## 4. METODOLOGIA

### 4.1. Obtenção e Análise Fitoquímica do Extrato de Murici

A casca do caule de *Byrsonima crassifolia* (Murici), Figura 11, foi coletada no município de Itacoatiara, Amazonas, Brasil (03°08'01.65"S, 58°26'19.04"W). Para tal o material vegetal foi lavado, seco em estufa a 40 °C até adquirir a massa constante e posteriormente foi triturado até obter um pó fino que foi usado nos testes seguintes.

**Figura 11** - Representação da coleta do vegetal *Byrsonima crassifolia* (Murici)



Fonte: Autor, 2024.

O extrato foi obtido por meio da maceração, usando 1 g do pó seco em 100 mL de água destilada (H<sub>2</sub>O) por 1 hora, à temperatura de 40 °C e totalmente protegido da luz, (Figura 12). Assim, a mistura foi filtrada em papel de filtro Whatman nº 1. Dessa forma, o extrato bruto resultante foi armazenado a - 20 °C até o uso subsequentes.

**Figura 12** – Obtenção do material (A), secagem em estufa (B), pesagem (C) e elaboração do extrato (D) usando *Byrsonima crassifolia* (Murici)



Fonte: Autor, 2024.

Uma análise fitoquímica qualitativa preliminar foi realizada para identificar as principais classes de metabólitos secundários, seguindo os protocolos descritos.

#### **4.1.1. Pesquisa de Saponinas (Teste da Espuma)**

Em um tubo de ensaio contendo 2 mL do extrato aquoso, adicionou-se clorofórmio. Após filtração, acrescentou-se 2 mL de água destilada e a mistura foi agitada vigorosamente por 3 minutos. A formação de uma espuma persistente indicou a presença preliminar de saponinas. Para confirmação, adicionou-se 2 gotas de NaOH 0,1M à solução, que foi novamente agitada; a persistência da espuma confirmou o resultado positivo.

#### **4.1.2. Pesquisa de Taninos (Teste do Cloreto Férrico e da Gelatina)**

Dissolveram-se 20 mg do extrato em 2 mL de metanol, adicionou-se 4 mL de água destilada e filtrou-se a solução. A amostra foi dividida em dois tubos (3 mL cada). Ao primeiro, adicionaram-se cinco gotas de cloreto férrico a 20%; a formação de coloração azul-esverdeada indicou taninos hidrolisáveis. Ao segundo tubo, adicionaram-se duas gotas de HCl e algumas gotas de solução de gelatina a 2%; a formação de precipitado confirmou a presença de taninos.

#### **4.1.3. Pesquisa de Quinonas (Reação de Bornträger)**

Para esse teste, adicionaram-se 5,0 mL de clorofórmio a 2,0 mL do extrato em um tubo de ensaio. Após agitação e repouso, a fase clorofórmica foi separada e dividida. Ao primeiro tubo, adicionou-se 1,0 mL de NaOH aquoso 5%; uma coloração roxa na fase aquosa indicou presença de quinonas. Ao segundo tubo, adicionou-se 1,0 mL de solução de acetato de magnésio 5% em metanol; a formação de coloração roxa também confirmou o resultado positivo.

#### **4.1.4. Pesquisa de Alcaloides (Testes de Mayer e Wagner)**

Para alcaloides, o extrato foi misturado com 2 mL de HCl 1% e aquecido suavemente. Em seguida, adicionaram-se os reagentes de Mayer e Wagner separadamente. Assim, com a formação de um precipitado turvo ou floculado em cada teste, foi considerada indicativa da presença de alcaloides.

#### **4.1.5. Pesquisa de Terpenos e Esteroides (Reação de Liebermann-Burchard)**

Transferiu-se 2 mL do extrato para tubos de ensaio. A cada um, adicionou-se 1 mL de anidrido acético 0,1% (m/v), 1 mL de ácido sulfúrico 0,01% (v/v) e 3 mL de clorofórmio. Os tubos foram resfriados e, posteriormente, receberam mais 1 mL de anidrido acético e 1 mL de ácido sulfúrico. A formação de um complexo de coloração azulada indicou a presença de terpenos e/ou esteroides.

#### **4.1.6. Pesquisa de Flavonoides (Testes com NaOH e Cloreto Férrico)**

- ✓ Para a reação com hidróxido de sódio: Diluiu-se 1 mL do extrato em 9 mL de água destilada. A 5 mL desta solução, adicionaram-se 25 gotas de NaOH 0,1M. O aparecimento de uma coloração amarela intensa indicou a presença de flavonoides com hidroxilas fenólicas livres.
- ✓ Reação com cloreto férrico: Da mesma diluição, transferiram-se 5 mL para

um tubo de ensaio, ao qual se adicionou uma gota de cloreto férrico 2%. A observação de colorações verdes (claro a escuro) ou amareladas indicou a presença de diferentes subclasses de flavonoides.

### **3.1. Síntese Verde e Otimização das Nanopartículas de Cobre (CuNPs)**

#### **3.1.1. Delineamento Experimental e Análise Estatística**

Para otimizar sistematicamente os parâmetros de síntese e avaliar as interações entre os fatores, foi empregado um delineamento fatorial completo. Os fatores independentes e seus níveis foram: pH (7 e 8), Concentração do Extrato Vegetal (0,1% e 1,0% v/v) e Temperatura de Reação (30°C e 40°C). A variável resposta selecionada foi a absorbância da suspensão coloidal no comprimento de onda de máxima absorção (~400 nm para CuNPs), que se correlaciona com a concentração e o rendimento das nanopartículas. Entretanto, a matriz experimental completa do sistema é apresentada na Tabela S1 (Material Suplementar).

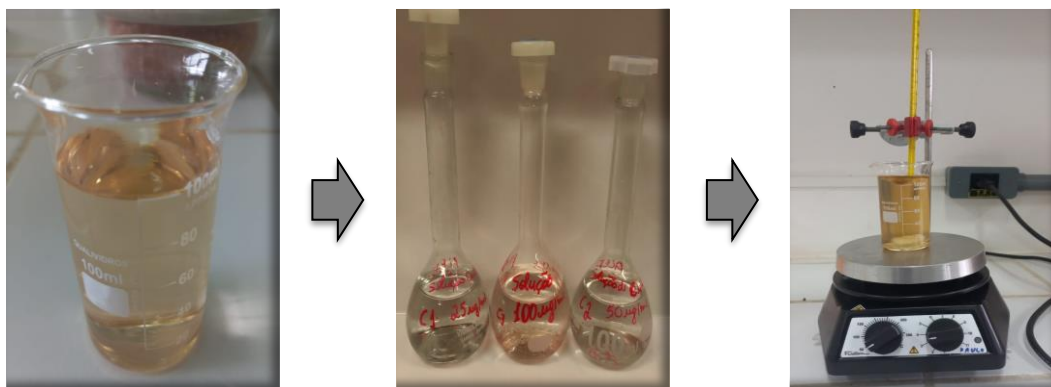
O efeito dos fatores na absorbância foi avaliado por meio de uma Análise de Variância (ANOVA) trifatorial. Os pressupostos de normalidade (Shapiro-Wilk,  $p > 0,05$ ) e independência dos resíduos foram atendidos. A análise estatística, incluindo o cálculo dos efeitos principais, interações e ANOVA, foi realizada no software R (versão 4.3.0). Neste contexto, um modelo de regressão linear múltipla foi ajustado aos dados, e sua significância foi avaliada a um nível de confiança de 95% ( $p < 0,05$ ). Dessa forma, o poder estatístico do delineamento experimental foi superior a 99%.

## 3.2. Síntese Verde e Otimização das Nanopartículas de Cobre (CuNPs)

### 3.2.1. Procedimento de Síntese e Purificação

As nanopartículas de cobre (CuNPs) foram sintetizadas pelo método de redução verde, utilizando o extrato aquoso de murici como agente redutor e estabilizante. Em um procedimento padrão, 92,5 mL de uma solução aquosa de sulfato de cobre(II) ( $\text{CuSO}_4$ , 0,1 M) foram misturados com 7,5 mL do extrato de murici na concentração definida pelo delineamento fatorial, sob agitação magnética constante (500 rpm). A reação prosseguiu nas combinações de pH e temperatura especificadas, como representado na Figura. 13

**Figura 13** – Representação do sistema nanoparticulado (A), solução de  $\text{CuSO}_4$  (B), testes experimentais em diferente temperatura (C) usando *Byrsonima crassifolia* (Murici)



Fonte: Próprio autor, 2024.

Após a síntese, as nanopartículas foram recuperadas por centrifugação a 12.000 rpm por 20 minutos. O pellet foi lavado sequencialmente três vezes com água deionizada e etanol absoluto para remover precursores não reagidos e resíduos orgânicos. Finalmente, o material foi seco em estufa a 60 °C por 12 horas. O pó seco de CuNPs foi armazenado em frascos herméticos para caracterização e ensaios biológicos.

### 3.3. Caracterização Fisicoquímico das CuNPs

As CuNPs sintetizadas foram caracterizadas por técnicas complementares para determinação de suas propriedades estruturais, morfológicas e térmicas.

- **Espectroscopia no Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR):** Os espectros foram obtidos em um espectrômetro Bruker Alpha II com acessório de Reflectância Total Atenuada (ATR), na faixa de 400–4000  $\text{cm}^{-1}$ , com resolução de 4  $\text{cm}^{-1}$  e 32 varreduras, para identificar grupos funcionais envolvidos na redução e estabilização das nanopartículas.
- **Análise Termogravimétrica (TGA):** A análise foi realizada em um equipamento PerkinElmer TGA-4000. Aproximadamente 5 mg da amostra foram aquecidos de 50 a 800 °C a uma taxa de 10 °C  $\text{min}^{-1}$ , sob atmosfera de ar sintético (vazão: 20 mL  $\text{min}^{-1}$ ), para avaliar a estabilidade térmica e o conteúdo orgânico residual.
- **Microscopia Eletrônica de Transmissão (TEM):** Para análise do tamanho, forma e morfologia, as CuNPs foram dispersas em água deionizada por ultrasonicação por 15 minutos. Uma gota da suspensão foi depositada em uma grade de cobre revestida com carbono e seca à temperatura ambiente. As imagens foram adquiridas em um microscópio JEOL JEM-2100, operado a uma voltagem de aceleração de 200 kV.

### **3.4. Bioensaio de Germinação e Fitotoxicidade**

#### **3.4.1. Material Vegetal e Esterilização das Sementes**

Sementes de melancia (*Citrullus lanatus*) e pau de balsa (*Ochroma pyramidale*) foram adquiridas de fornecedor local em Itacoatiara-AM. As sementes foram esterilizadas superficialmente por imersão em solução de hipoclorito de sódio a 2% (v/v) por 10 minutos, seguidas de três lavagens com água destilada estéril.

#### **3.4.2. Delineamento Experimental e Aplicação dos Tratamentos**

Os ensaios de germinação foram conduzidos em placas de Petri estéreis (9 cm de diâmetro) forradas com duas camadas de papel-filtro Whatman nº1. O delineamento foi inteiramente casualizado, com quatro repetições por tratamento. Foram aplicados os seguintes tratamentos:

- (i) Controle Negativo (CN): Água destilada estéril.
- (ii) Controle do Extrato (CE): Solução do extrato aquoso de *B. crassifolia* a 1% (v/v), para verificar efeitos dos compostos do vegetal.
- (iii) Tratamentos com CuNPs: Suspensões aquosas das CuNPs sintetizadas, nas concentrações de 2,5 µg/mL, 5 µg/mL e 100 µg/mL.

As suspensões de nanopartículas foram homogeneizadas por agitação magnética (30 min) e sonicação em banho ultrassônico (40 kHz, 15 min) imediatamente antes da aplicação. Para cada réplica, 25 sementes foram distribuídas sobre o papel-filtro, e 5 mL da solução do tratamento correspondente foram adicionados. As placas foram vedadas com parafilme e mantidas em câmara de germinação do tipo B.O.D. sob condições controladas:  $25 \pm 1$  °C, fotoperíodo de 12 horas (intensidade luminosa de 2200 lux) e 70% de umidade relativa.

### 3.4.3. Monitoramento e Análise de Parâmetros Germinativos

As sementes germinadas foram contadas diariamente durante 14 dias. Considerou-se germinada a semente que apresentou protrusão radicular  $\geq 2$  mm. A partir dos dados, foram calculados os índices de germinação e vigor:

- Percentual de Germinação (PG%)

$$PG\% = \left(\frac{N_i}{N}\right) \times 100 \quad (\text{Eq. 1})$$

- Tempo Médio de Germinação (TMG):

$$TMG = \frac{\sum N_i T_i}{N} \quad (\text{Eq. 2})$$

onde:  $N$ : número total de sementes usadas no experimento;  $N_i$ : número de sementes germinadas no dia  $T$ .

- Índice de velocidade de germinação (IVG):

$$IVG = \sum \frac{N_i}{T_i} \quad (\text{Eq. 3})$$

- Velocidade de Germinação (VG):

$$VG = \frac{1}{MGT} \quad (\text{Eq. 4})$$

- Comprimento primário da raiz (PRL):

$$PRL = \frac{\sum(\text{comprimento primário individual})}{\text{Número total de sementes germinadas}} \quad (\text{Eq. 5})$$

### 3.5. Análise Estatística

Para a análise do delineamento fatorial da síntese, os cálculos de efeitos principais, interações e ANOVA foram realizados no software R (v. 4.3.0), com significância a  $p < 0,05$ .

Para os dados dos bioensaios, os experimentos foram realizados com quatro repetições. A normalidade (teste de Shapiro-Wilk) e a homogeneidade das variâncias (teste de Levene) foram verificadas. Para comparações múltiplas entre tratamentos, foi aplicada análise de variância (ANOVA one-way), seguida pelo teste post-hoc de Tukey. O nível de significância adotado foi  $p < 0,05$ . As análises foram conduzidas no software IBM SPSS Statistics (v. 28.0) e os gráficos no GraphPad Prism (v. 9.0).

### 3.6. Metodologia da Análise de Custos para a síntese de CuNPs

Foram definidos cinco cenários distintos: Low\_Cost (Baixo Custo): Focado na minimização de insumos e energia. Intermediate\_Cost (Custo Intermediário): Configuração de parâmetros medianos. High\_Temperature (Alta Temperatura): Ênfase na elevação da temperatura de reação. High\_Absorption (Alta Absorbância): Otimizado para maximizar a absorbância no UV-Vis. e Optimal\_Technical (Técnico Ótimo): Busca o melhor compromisso entre desempenho técnico e custos.

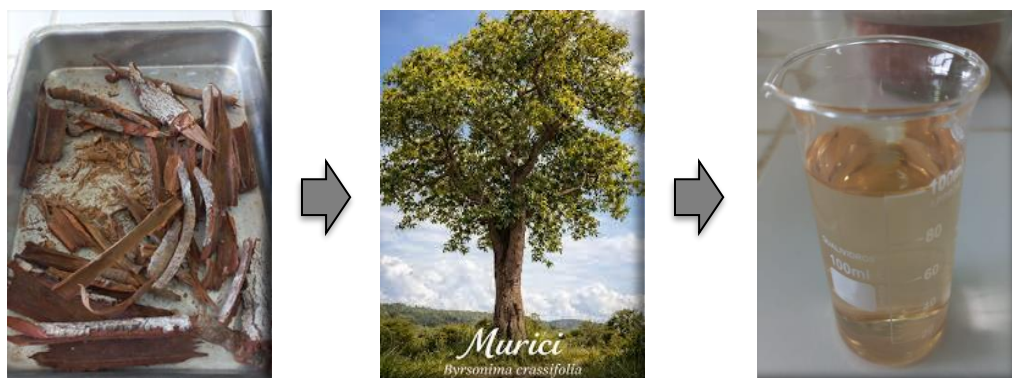
Nesta dimensão, o custo total por unidade de produção foi calculado considerando todos os componentes diretos: aquisição e preparo do extrato vegetal, consumo de energia para agitação e controle térmico, mão de obra especializada, reagentes para ajuste de pH, análises de caracterização (ex.: espectroscopia UV-Vis) e o custo de oportunidade do tempo do equipamento. Neste sentido, a métrica de eficiência principal adotada foi a Absorbância por Unidade de Custo, que relaciona diretamente o principal output técnico com o input financeiro nos testes.

## 4. RESULTADOS E DISCUSSÕES

### 4.1. Caracterização do Extrato de *Byrsonima crassifolia* e seu Perfil Fitoquímico

A etapa inicial consistiu na obtenção e caracterização do agente biológico chave: o extrato da casca de *Byrsonima crassifolia* (Murici). O extrato aquoso apresentou coloração laranja clara (**Figura 14**), tonalidade intimamente associada ao seu perfil de metabólitos secundários, como compostos fenólicos e carotenoides (De Rezende *et al.*, 2020).

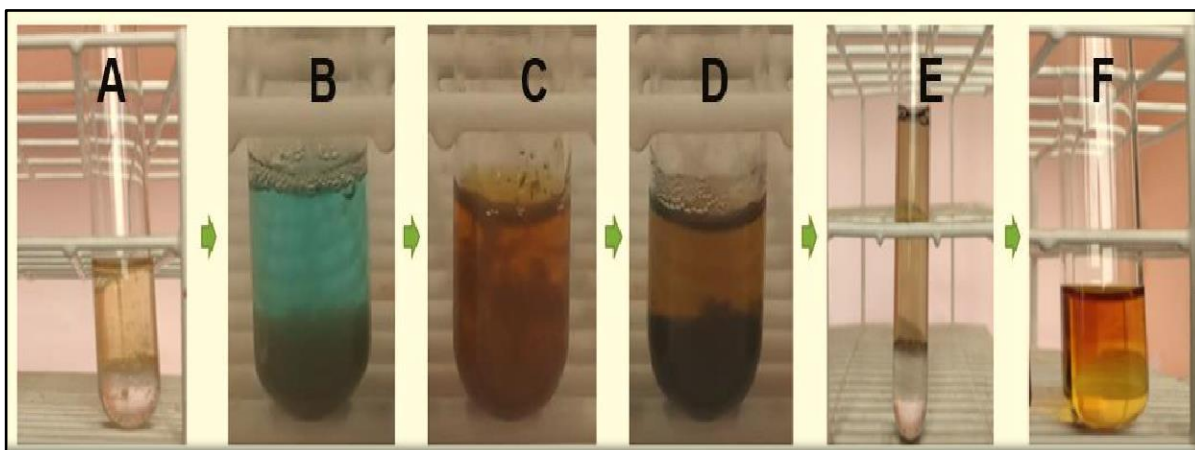
**Figura 14** - Representação da árvore, coleta e obtenção do extrato bruto usando *Byrsonima crassifolia* (Murici)



Fonte: O próprio autor, 2024.

A triagem fitoquímica qualitativa confirmou a presença de uma gama diversificada de classes bioativas, incluindo saponinas, taninos hidrolisáveis, quinonas, alcaloides, terpenos e flavonoides (Quadro 1 e Figura 16). Estes resultados estão em plena concordância com estudos anteriores que reportam o murici como uma fonte rica em polifenóis, destacando-se a quercetina como um composto majoritário (Guilhermino & Baziquetto, 2020; Sereno *et al.*, 2018). A relevância desta composição transcende a caracterização botânica, posicionando o extrato como um reagente multifuncional para síntese verde. Por outro lado, os grupos hidroxilas fenólicos e carbonilas presentes, especialmente em taninos e flavonoides, atuam como sítios ativos para a quelação de íons metálicos, facilitando sua subsequente redução e servindo como agentes estabilizantes durante a nucleação e crescimento de nanopartículas (Makarov *et al.*, 2014; Shahzadi *et al.*, 2025).

**Figura 15** - Triagem fitoquímica qualitativa do extrato aquoso de *Byrsonima crassifolia*. Testes positivos para: (A) saponinas (formação de espuma persistente), (B) taninos hidrolisáveis (coloração azul-esverdeada com cloreto férrico), (C) quinonas (reação de Bornträger), (D) alcaloides (precipitado com reagente de Wagner), (E) terpenos/esteroides (reação de Liebermann-Burchard) e (F) flavonoides (reação com NaOH).



**Fonte:** Kobayashi *et al.*, (2019).

A partir dos resultados que constam na Figura 16, verificou que os compostos orgânicos observados no extrato aquoso bruto de *Byrsonima crassifolia* (Murici) são metabólitos característicos de saponinas, taninos hidrolisáveis, alcaloides, terpenos e flavonoides, testados positivos como mostra o quadro 1 a seguir.

**Quadro 1** - Perfil Fitoquímico (positivo) para *Byrsonima crassifolia* (Murici)

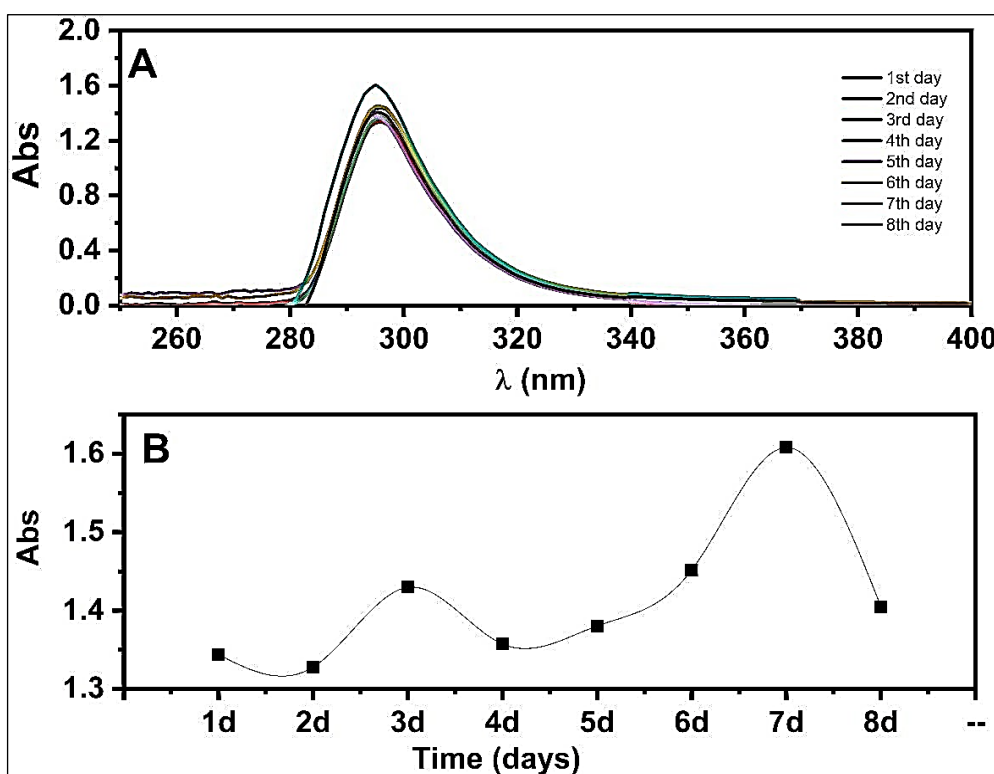
| Metabólito presente na planta | Confirmação ( + ) |
|-------------------------------|-------------------|
| Saponinas                     | ( + )             |
| taninos hidrolisáveis         | ( + )             |
| Quinonas                      | ( + )             |
| Alcaloides                    | ( + )             |
| Terpenos                      | ( + )             |
| Flavonoides                   | ( + )             |

**Fonte:** Autor, 2025.

A análise espectroscópica do extrato aquoso de Murici revelou um espectro UV-Vis típico de metabólitos secundários, com uma banda de absorção ampla centrada em ~ 290 nm (Fig. 17A). Esta banda é característica de transições  $\pi \rightarrow \pi^*$  em anéis aromáticos, atribuída principalmente a compostos fenólicos, como taninos e flavonoides, que são conhecidos por suas propriedades redutoras e quelantes de íons

metálicos. A presença destes grupos funcionais é o pré-requisito químico para a redução dos íons  $\text{Cu}^{2+}$  a  $\text{Cu}^0$  e subsequente oxidação/formação de CuO-NPs.

**Figura 16** - (A) Espectro UV-Vis do extrato aquoso fresco de *Byrsonima crassifolia*, mostrando a banda de absorção característica de compostos fenólicos (~290 nm). (B) Decaimento temporal da adsorbância a 280 nm ao longo dias, indicando a diminuição da concentração de agentes redutores ativos e um pico ativo no sétimo dia.



Fonte: Autor, 2025.

O monitoramento da absorbância a 290 nm durante oito dias (Fig. 17B) demonstrou uma diminuição gradual (~20%) na intensidade da banda característica. Este declínio indica uma possível degradação oxidativa, polimerização ou precipitação dos compostos fenólicos ativos. Consequentemente, extratos frescos (com 1-3 dias de preparação) apresentam maior concentração de agentes redutores disponíveis, o que pode impactar diretamente a eficiência e a cinética das nanopartículas.

Para garantir a consistência dos resultados reportados neste estudo, todas as sínteses foram realizadas utilizando extrato fresco (preparado no máximo 24h).

#### 4.2. Otimização Estatística da Síntese Verde de CuNPs

Um planejamento fatorial completo  $2^3$  foi empregado para otimizar sistematicamente a síntese verde de nanopartículas de CuO, avaliando pH (7, 8), concentração de extrato vegetal (0,1%, 1,0%) e temperatura (30, 40°C). Todos os experimentos foram realizados em triplicata, totalizando 24 unidades experimentais.

A estatística descritiva (Tabela S2) revelou uma variação substancial na absorbância (0,563 a 1,810), confirmando a forte influência das condições experimentais no rendimento de nanopartículas. A condição ótima, identificada pela absorbância média máxima ( $1,810 \pm 0,272$ ), foi pH 8, concentração de extrato de 1,0% e 30°C, apresentando reprodutibilidade aceitável (CV = 15,0%).

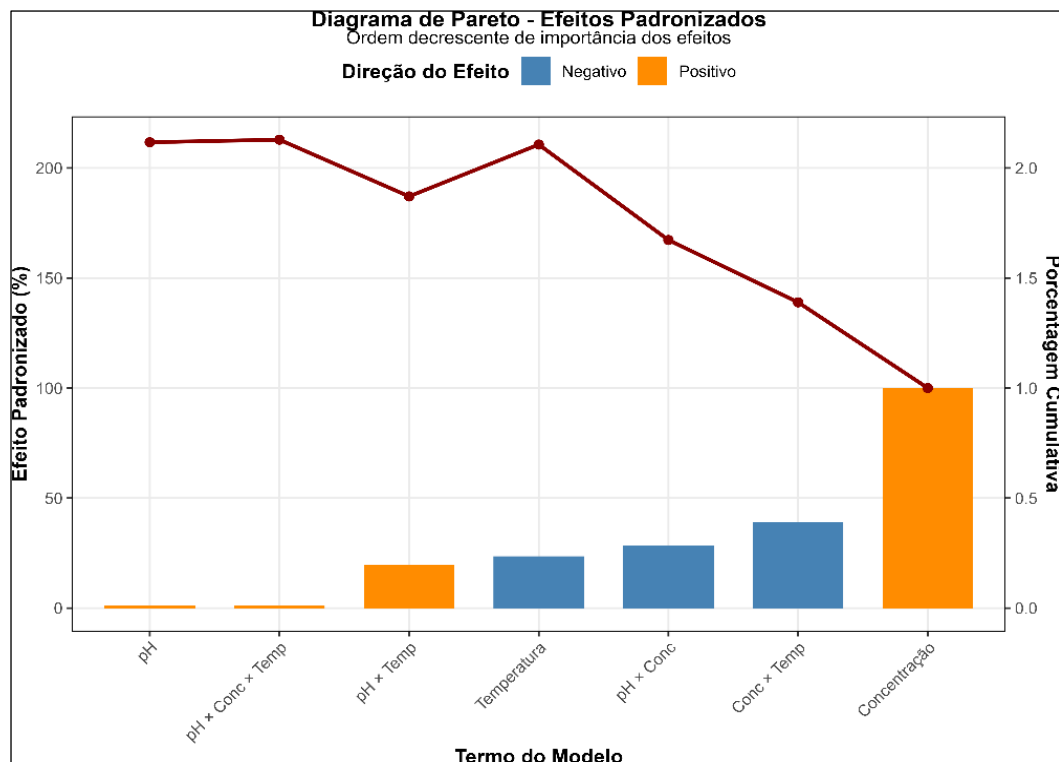
Tabela 1: Matriz de planejamento experimental (fatorial  $2^3$ ) e respostas medidas para a síntese de nanopartículas de CuO-NPs.

| Run | pH | Ext. Conc. (w/v) | T (°C) |
|-----|----|------------------|--------|
| E1  | 7  | 0.1              | 30     |
| E2  | 8  | 0.1              | 30     |
| E3  | 7  | 1.0              | 30     |
| E4  | 8  | 1.0              | 30     |
| E5  | 7  | 0.1              | 40     |
| E6  | 8  | 0.1              | 40     |
| E7  | 7  | 1.0              | 40     |
| E8  | 8  | 1.0              | 40     |

Fonte: Autor, 2025.

A análise de variância (ANOVA) demonstrou que o modelo explicou 71,9% da variabilidade total nos dados ( $R^2 = 0,719$ ;  $p = 0,0017$ ). O Fator Concentração do Extrato emergiu como o mais significativo ( $p < 0,001$ ), responsável por 54,2% da variância explicada (Figura 18, Gráfico de Pareto). Este forte efeito positivo é bioquimicamente intuitivo: maior concentração de extrato fornece uma densidade superior de agentes redutores (polifenóis, flavonoides) e estabilizantes, promovendo uma nucleação controlada e suprimindo a agregação (Kumar *et al.*, 2021).

**Figura 17.** Gráfico de Pareto dos efeitos padronizados para o delineamento fatorial 2<sup>3</sup>. A linha tracejada vertical indica o limite de significância ( $\alpha=0,05$ ). O fator concentração do extrato apresenta o efeito absoluto mais significativo.



**Fonte:** Autor, 2025.

Para quantificar matematicamente os efeitos, foi desenvolvido um modelo de regressão linear múltipla utilizando variáveis codificadas (-1 para nível baixo, +1 para nível alto). O modelo completo é representado pela Equação 1:

$$Abs. = 1,0446 + 0,0038(pH) + 0,3637(Conc.) - 0,0857(T \text{ } ^\circ C) - 0,1029(pH \times Conc.) + 0,0721(pH \times T \text{ } ^\circ C) - 0,1417(Conc. \times T \text{ } ^\circ C) + 0,0042(pH \times Conc. \times T \text{ } ^\circ C) \text{ (Equação 1)}$$

Os coeficientes de regressão e sua significância estatística são apresentados na Tabela 2. Considerando apenas os termos estatisticamente significativos ( $p < 0,05$ ), o modelo simplificado passa a ser, equação 2:

$$Abs = 1,0446 + 0,3637(Conc.) - 0,1417(Conc. \times T^\circ C) \text{ (Equação 2)}$$

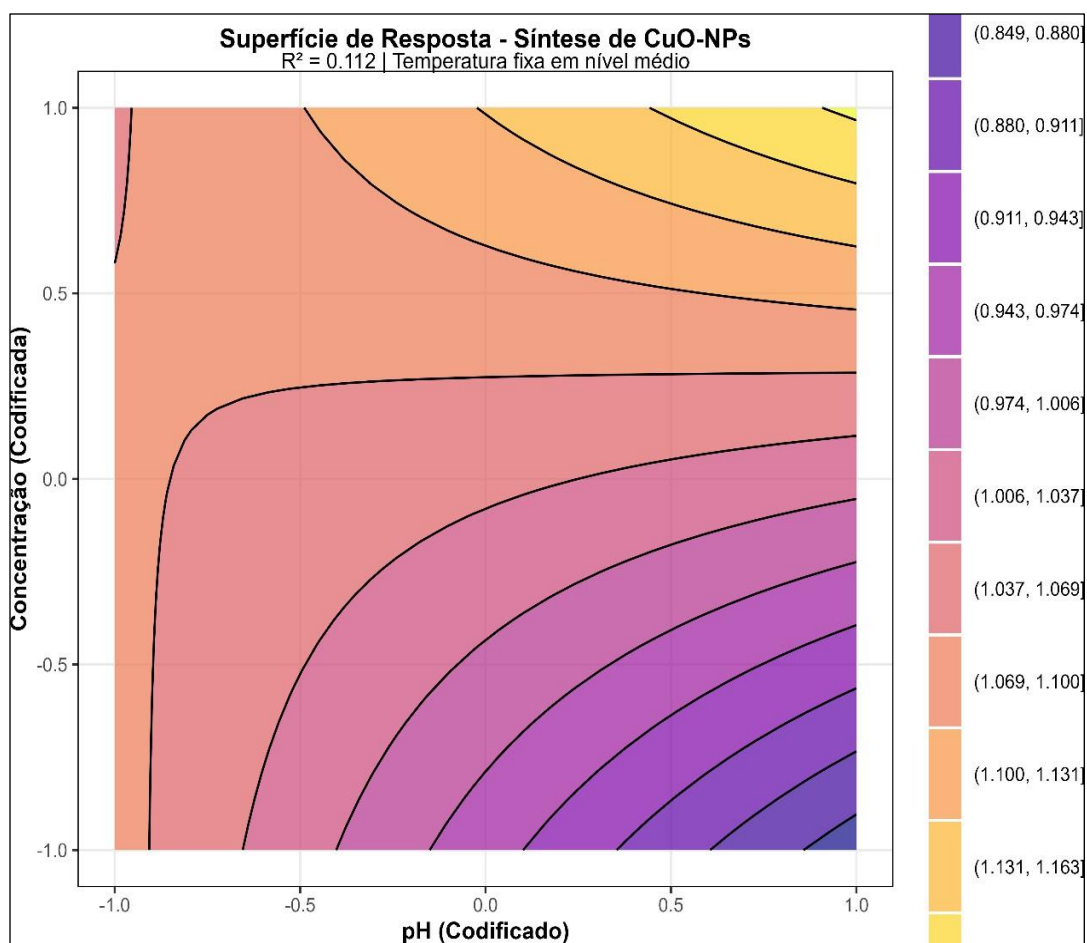
Tabela 2: Coeficientes do modelo de regressão linear múltipla para a síntese de CuNPs. Apresenta o termo, coeficiente, erro padrão, valor-t, valor-p e intervalo de confiança de 95% para cada efeito principal e interação.

| Termo                                        | Coefficiente   | Erro          | Valor-t       | Valor-p          | IC 95% inferior | IC 95% superior |
|----------------------------------------------|----------------|---------------|---------------|------------------|-----------------|-----------------|
| Intercept ( $\beta_0$ )                      | 1.0446         | 0.0655        | 15.945        | <0.001           | 0.9056          | 1.1836          |
| pH ( $\beta_1$ )                             | 0.0038         | 0.0655        | 0.058         | 0.954            | -0.1352         | 0.1428          |
| <b>Concentration (<math>\beta_2</math>)</b>  | <b>0.3637</b>  | <b>0.0655</b> | <b>5.549</b>  | <b>&lt;0.001</b> | <b>0.2247</b>   | 0.5027          |
| Temperature ( $\beta_3$ )                    | -0.0857        | 0.0655        | -1.308        | 0.209            | -0.2247         | 0.0533          |
| pH×Conc. ( $\beta_{12}$ )                    | -0.1029        | 0.0655        | -1.571        | 0.136            | -0.2419         | 0.0361          |
| pH×Temp. ( $\beta_{13}$ )                    | 0.0721         | 0.0655        | 1.101         | 0.287            | -0.0669         | 0.2111          |
| <b>Conc.×Temp. (<math>\beta_{23}</math>)</b> | <b>-0.1417</b> | <b>0.0655</b> | <b>-2.163</b> | <b>0.045</b>     | -0.2807         | <b>-0.0027</b>  |
| pH×Conc.×Temp. ( $\beta_{123}$ )             | 0.0042         | 0.0655        | 0.064         | 0.950            | -0.1348         | 0.1432          |

Fonte: Autor, 2025.

A adequação do modelo estatístico derivado foi avaliada por meio de técnicas de validação. Embora a ANOVA tenha indicado um modelo global significativo que explica 71,9% da variância ( $R^2 = 0,719$ ), a sua capacidade preditiva requer uma avaliação separada. O gráfico da superfície de resposta (Fig. 18), gerado com temperatura fixada no ponto médio, visualiza a relação modelada entre pH, concentração e resposta de absorbância.

Figura 18: Superfície de resposta para a síntese de CuNPs, mostrando a absorbância predita em função do pH e da concentração do extrato, com a temperatura fixa em 35°C.



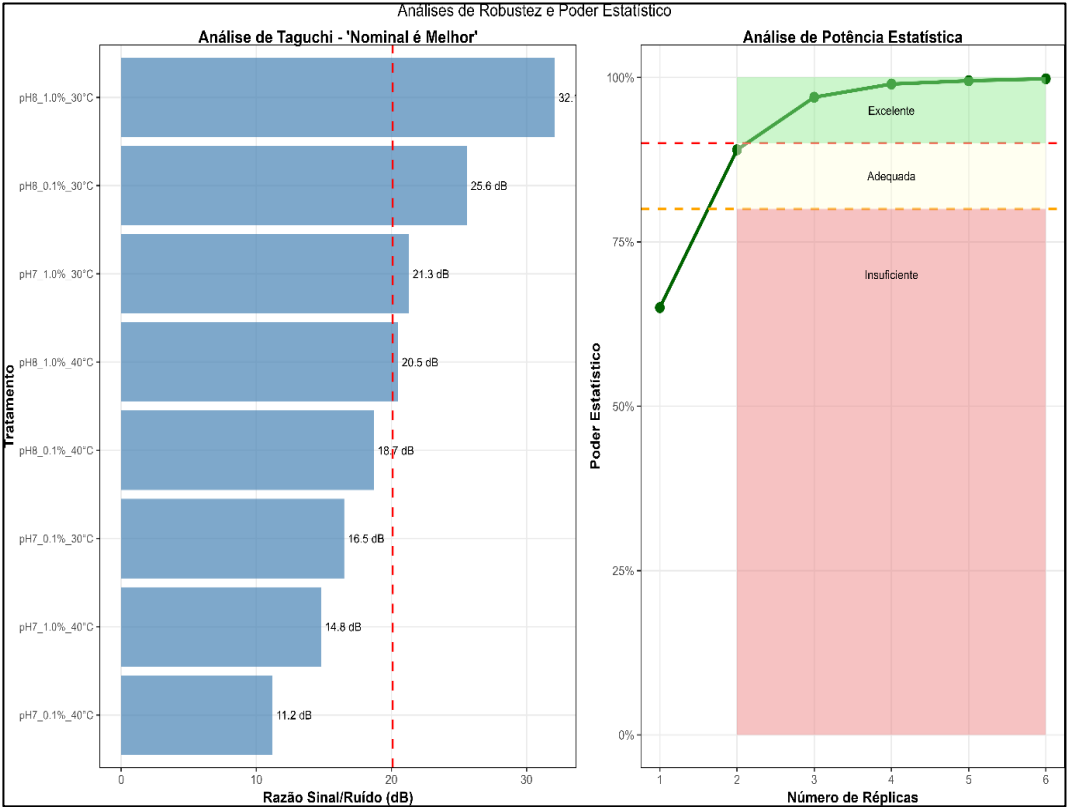
Fonte: Autor, 2025.

O coeficiente positivo para Concentração (0,3637) confirma seu impacto benéfico. A interação negativa (-0,1417) revela que o efeito positivo da alta concentração é atenuado a 40°C. Este fenômeno pode ser explicado pela cinética acelerada em temperatura elevada, que pode levar ao consumo rápido e exaustivo dos agentes redutores ou à desnaturação das biomoléculas estabilizantes, resultando em agregação e menor rendimento (Mittal *et al.*, 2013).

Portanto, a condição ótima identificada — pH 7, Extrato 1,0%, 30°C — representa um equilíbrio: máxima concentração de agente redutor, em uma temperatura que modera a cinética para um crescimento controlado, em um pH alcalino que favorece a desprotonação dos grupos fenólicos, aumentando seu poder redutor (Aromal & Philip, 2012). Esta condição não só produziu a maior absorbância média ( $1,810 \pm 0,272$ ), mas também apresentou a melhor robustez, com o maior índice Sinal/Ruído (32,1 dB) na análise de Taguchi (Figura 19) e uma reprodutibilidade aceitável (Coeficiente de Variação = 15,0%).

A validação do modelo foi confirmada pela análise de resíduos, que atendeu aos pressupostos de normalidade (Shapiro-Wilk,  $p=0,172$ ) e homocedasticidade, e por uma análise de poder estatístico que indicou poder  $>99,9\%$  para detectar os efeitos observados (Figura 19).

**Figura 19: Análise de Taguchi e Análise de potência estatística**



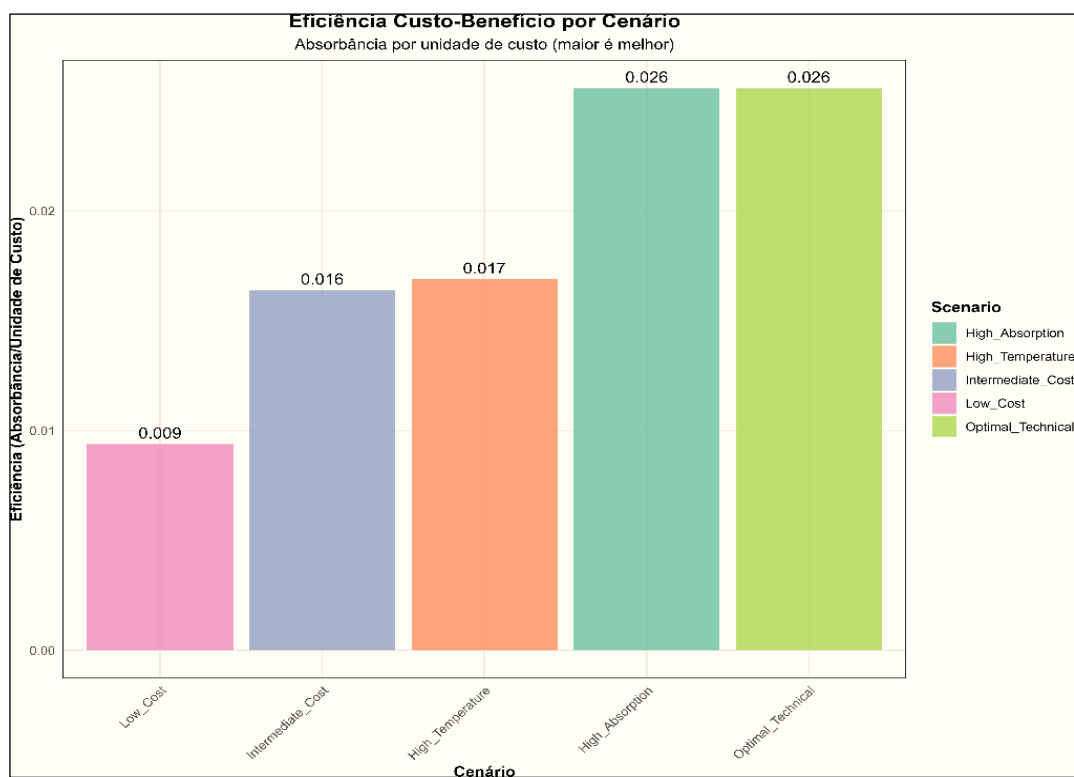
**Fonte:** Autor, 2025.

Figura 18B. Análises complementares de validação. (A) Análise de Taguchi (razão Sinal/Ruído - S/N, "Nominal é Melhor") para as oito condições. Maior S/N indica maior robustez. (B) Poder estatístico do experimento em função do número de réplicas, baseado no tamanho de efeito observado (Cohen's  $*f* = 1,598$ ).

**5.3 Eficiência Custo-Benefício dos Cenários**

A Figura 20 (Eficiência Custo-Benefício por Cenário) compara a métrica de absorbância por unidade de custo para os cinco cenários.

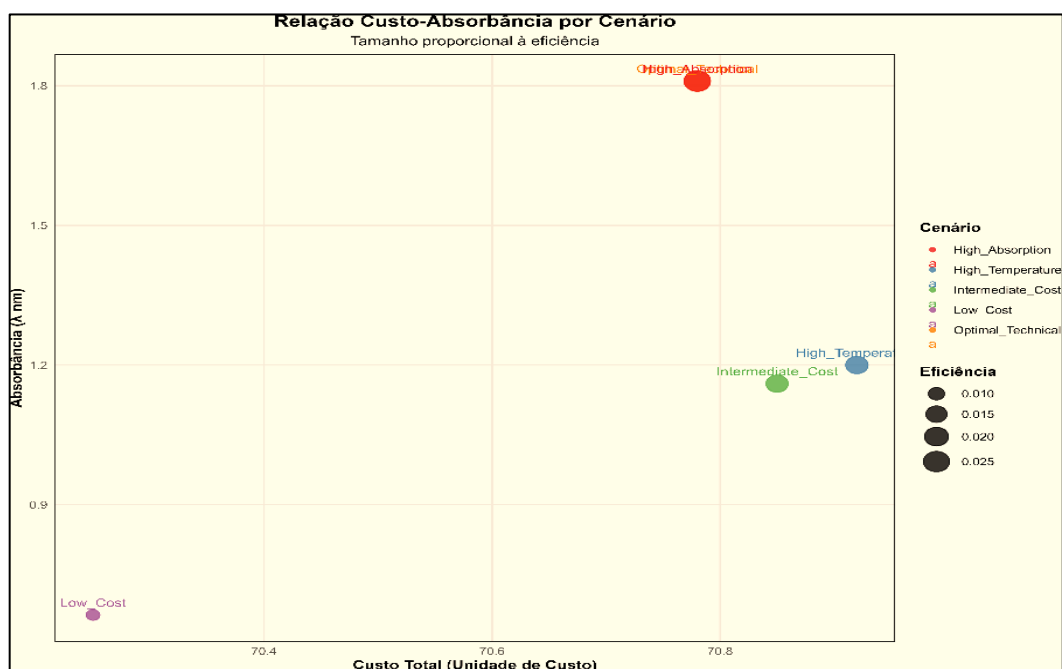
**Figura 20:** A altura da barra representa a absorbância alcançada por unidade monetária investida. Cenários com maior valor são mais eficientes economicamente.



**Fonte:** Autor, 2025.

O cenário Low\_Cost apresentou a maior eficiência, demonstrando que é possível produzir CuO-NPs com um rendimento óptico satisfatório a um investimento significativamente menor. Em contrapartida, o cenário High\_Absorption, embora tenha gerado a maior absorbância absoluta (como visto na Fig. 21), revelou a pior eficiência custo-benefício, indicando um custo marginal muito elevado para ganhos incrementais na absorbância. O cenário Optimal\_Technical posicionou-se em um ponto intermediário de eficiência, validando sua premissa de equilibrar desempenho e custo.

**Figura 21:** A absorbância ( $\lambda$  nm) é plotada contra o custo total. O tamanho do marcador é proporcional à eficiência (Absorbância/Custo)



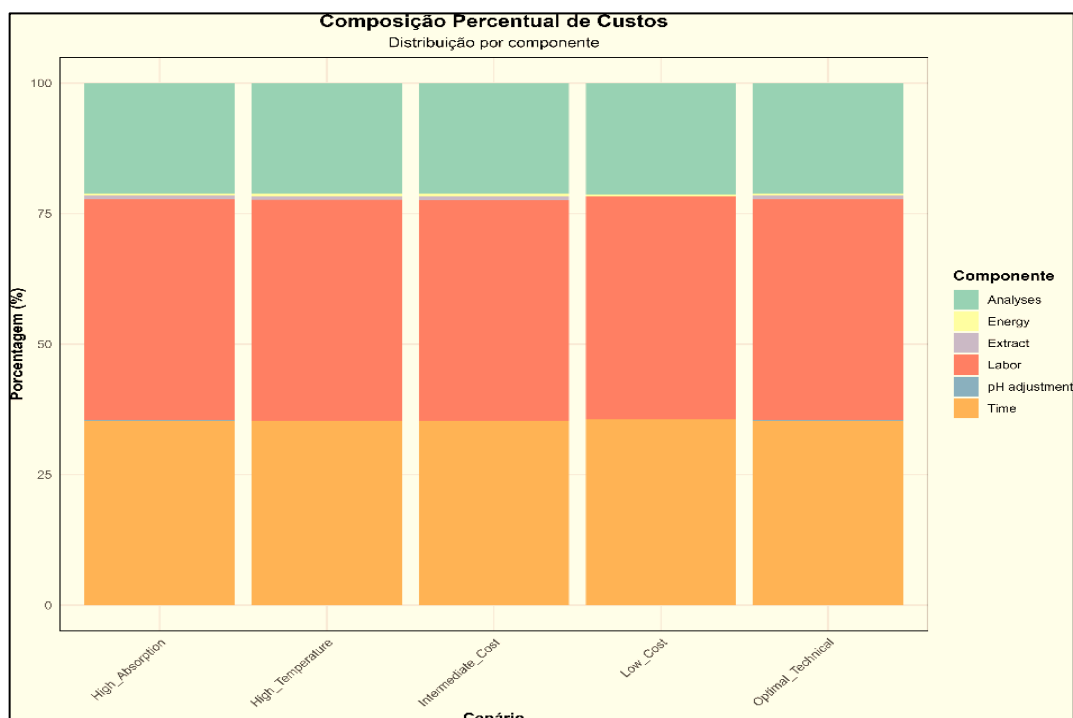
Fonte: Autor, 2025.

A análise bidimensional na Figura 21 fornece uma visão mais detalhada. Nela, o eixo Y representa a absorbância máxima, o eixo X o custo total por unidade, e a área dos marcadores é proporcional à eficiência custo-benefício. Observa-se uma clara correlação positiva não-linear entre custo e absorbância.

O cenário High\_Absorption ocupa a região de alta performance e alto custo, enquanto o Low\_Cost situa-se na região de baixo custo e performance moderada. Esta visualização confirma o *trade-off* clássico entre qualidade e custo, e destaca o Low\_Cost como o ponto de maior retorno marginal.

Para entender os drivers econômicos, a Figura 21 desagrega a estrutura de custos de cada cenário. A análise revela que os dois componentes majoritários são, de forma consistente, o Extrato e a Energia.

**Figura 22:** Distribuição relativa dos custos por componente (Extrato, Energia, Mão de Obra, Ajuste de pH, Análises, Tempo) em cada cenário experimental. Fonte: Dados da pesquisa

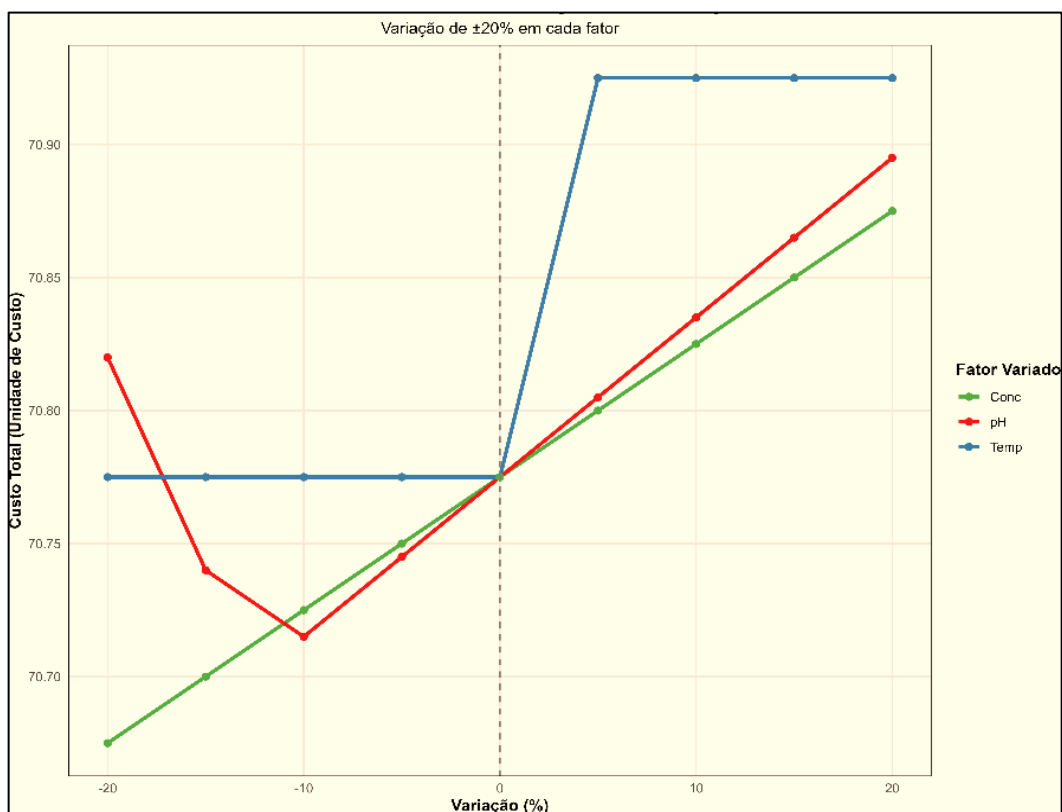


**Fonte:** Autor, 2025.

No cenário High\_Temperature, o custo com energia é drasticamente ampliado. Já no High\_Absorption, que provavelmente utiliza maior concentração de extrato, o item Extrato domina a planilha de custos. Esta decomposição é crucial para estratégias de redução de custos, indicando que otimizar a concentração do extrato e a temperatura de reação são as alavancas mais poderosas para a economia do processo.

A robustez econômica do processo em relação a flutuações nas condições operacionais foi testada através de uma análise de sensibilidade de  $\pm 20\%$ , apresentada na Figura 23.

**Figura 23:** Impacto no custo total de variações de  $\pm 20\%$  na Concentração (Conc.), pH e Temperatura (Temp.) do processo. Fonte: Dados da pesquisa.

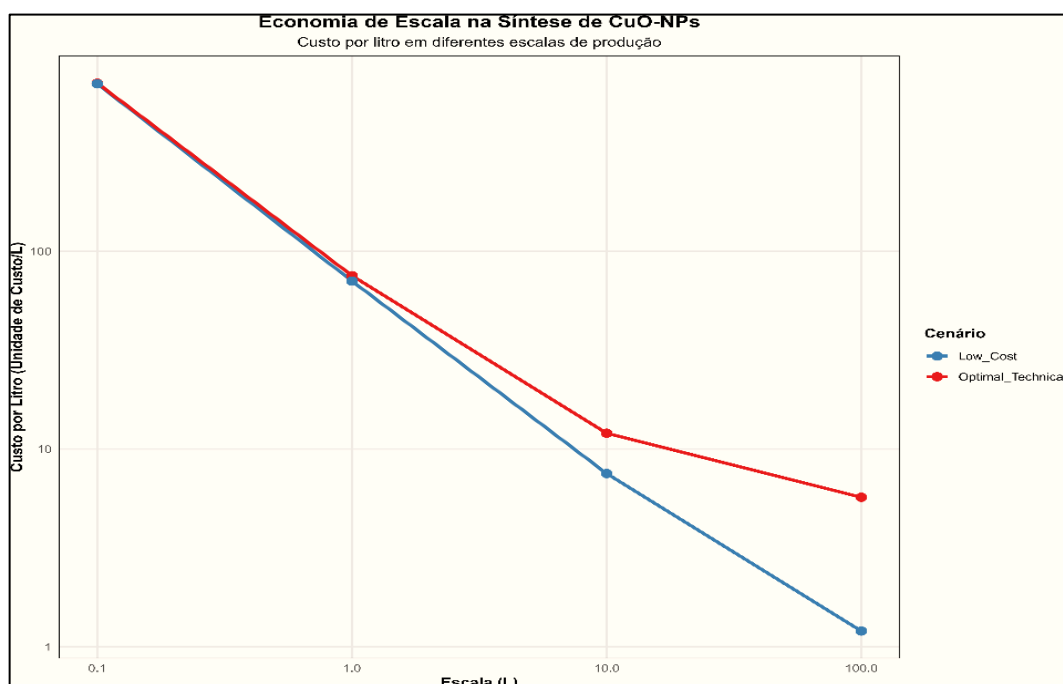


Fonte: Autor, 2025.

A Temperatura mostrou-se o parâmetro mais sensível, com variações no custo total superando 0.15 unidades para uma oscilação de 20%. A Concentração do extrato apresentou sensibilidade moderada, enquanto o pH foi o parâmetro menos impactante. Este resultado tem implicações práticas diretas: o controle preciso e estável da temperatura é não apenas uma necessidade técnica, mas também um imperativo econômico para a reprodutibilidade e previsibilidade de custos da síntese.

A viabilidade de escalonamento foi investigada na Fig. 25. O gráfico mostra uma redução logarítmica no Custo por Litro à medida que o volume de produção aumenta de escala de bancada (0.1 L) para escala piloto/pré-industrial (100 L).

**Figura 24:** Economia de Escala na Síntese de CuO-NPs. Variação do custo por litro em função do volume total de produção (escala logarítmica) para os cenários Low\_Cost e Optimal\_Technical. Fonte: Dados da pesquisa.



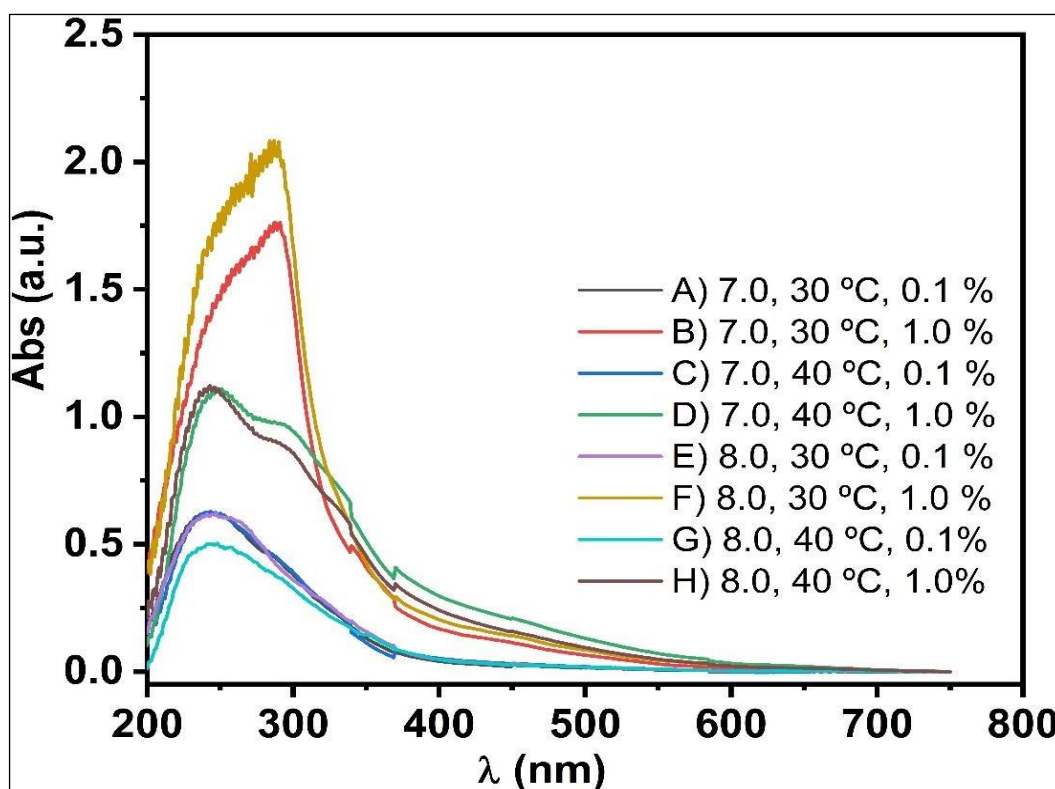
**Fonte:** Autor, 2025.

Ambos os cenários analisados (Low\_Cost e Optimal\_Technical) apresentam curvas de decaimento pronunciadas, com reduções de custo superiores a 70% ao se passar da menor para a maior escala. Isso demonstra que os custos fixos (como análise e mão de obra qualificada) e os ganhos de eficiência na utilização de insumos são bem aproveitados, tornando a síntese verde de CuO-NPs com murici economicamente atraente para produções em maior volume.

#### 5.4. Caracterização Óptica e Confirmação da Síntese de CuNPs

A formação das nanopartículas de cobre (CuNPs) foi monitorada e confirmada por espectroscopia UV-Vis. Os espectros das suspensões coloidais sob as diferentes condições (Fig 25) exibiram bandas de absorção na região de 250-350 nm. Esta banda é característica de nanopartículas de óxido de cobre (CuO/Cu<sub>2</sub>O), frequentemente associada a transferência de carga ligante-metal (LMCT), diferenciando-se da banda de plasmom de superfície (~550-600 nm) típica do cobre metálico (Cu<sup>0</sup>).

**Figura 25:** Espectros UV-Vis de suspensões coloidais obtidos a partir das oito condições de síntese do planejamento fatorial  $2^3$ . Os espectros são identificados de A a H, correspondendo às seguintes condições: A) pH 7, 30 °C, 0,1%; B) pH 7, 30 °C, 1,0%; C) pH 7, 40 °C, 0,1%; D) pH 7, 40 °C, 1,0%; E) pH 8, 30 °C, 0,1%; F) pH 8, 30 °C, 1,0% (Condição Ótima); G) pH 8, 40 °C, 0,1%; H) pH 8, 40 °C, 1,0%. São apresentados espectros representativos de uma réplica por condição. Todas as análises estatísticas quantitativas (absorbância média, desvio padrão, coeficiente de variação) foram realizadas com o conjunto completo de três réplicas independentes.



Fonte: Autor, 2025.

A análise visual dos espectros valida diretamente as conclusões do delineamento fatorial. O experimento F (pH 8, 1,0%, 30°C), identificado estatisticamente como a condição ótima, apresenta a maior absorbância em toda a faixa espectral, especialmente na região característica das CuO-NPs (~300 nm).

Comparativamente, as condições com baixa concentração de extrato (0,1% - séries A, C, E, G) exibem absorbâncias significativamente menores, refletindo o efeito principal dominante e positivo da concentração revelado pela ANOVA.

Além do mais, a influência da temperatura também é perceptível, ou seja, para

uma mesma concentração (e.g., comparar B: pH7, 1.0%, 30°C com D: pH7, 1.0%, 40°C), há uma leve diminuição na absorbância a 40°C, o que é consistente com o coeficiente de interação negativo entre concentração e temperatura no modelo de regressão. Sendo assim, essa interação sugere que temperaturas elevadas podem prejudicar a eficiência da síntese, possivelmente devido à agregação acelerada das nanopartículas formadas ou à desnaturação de biomoléculas no sistema.

A ausência de picos agudos ou deslocamentos de banda pronunciados entre as condições sugere que os parâmetros de síntese (pH, concentração, temperatura) dentro das faixas testadas modulam primariamente a quantidade (rendimento) de CuO-NPs formadas, sem alterar drasticamente o mecanismo fundamental de formação ou o tamanho médio das partículas (que tenderia a deslocar a banda de absorção). Diante da observação, a largura de banda consistente indica uma distribuição de tamanho policristalina, comum em sínteses verdes.

### **5.5. Avaliação do Efeito Alelopático das CuNPs Sintetizadas por Síntese Verde**

A análise estatística inicial confirmou a premissa central deste estudo: a interação entre Tratamento e Espécie para a Porcentagem Final de Germinação (FGP) é altamente significativa ( $F=14,3710$ ;  $p<0,0001$ ). Este resultado robusto, derivado de uma ANOVA de dois fatores, solidifica a conclusão de que o efeito alelopático das nanopartículas de cobre não é universal, mas é profundamente modulado pela identidade fisiológica e evolutiva da espécie receptora. Os efeitos principais para ambos os fatores também foram significativos (Tratamento:  $p<0,0001$ ; Cultura/Espécie:  $p=0,0211$ ), indicando que tanto a concentração do nanomaterial quanto a espécie vegetal são determinantes cruciais no desfecho germinativo. Os dados detalhados, consolidados na Tabela 3, revelam a complexidade das respostas.

Tabela 3: Estatísticas descritivas dos principais parâmetros germinativos de *Ochroma pyramidale* (Pau-Balsa) e *Citrullus lanatus* (Melancia) submetidas a diferentes tratamentos (T01: 25 µg/mL CuNPs; T02: 50 µg/mL CuNPs; T03: 100 µg/mL CuNPs; T04: Controle com água; T05: Controle com extrato puro). Valores representam média  $\pm$  erro padrão (EP). Para FGP, letras minúsculas diferentes na mesma coluna indicam diferença significativa pelo teste de Tukey ( $p<0,05$ ) considerando o modelo de dois fatores. AUC: Área Sob a Curva de Germinação; D50: Dia para 50% da germinação

final; Pmax: Pico máximo de germinação diária.

| Cul.      | Trat. | FGP (%)      |  | MGT<br>(dias)  |  | IVG/GSI<br>(Média ± EP) |  | SYN<br>(Média ± EP) |  | AUC   | D50<br>(dia) | Pmax (%) |
|-----------|-------|--------------|--|----------------|--|-------------------------|--|---------------------|--|-------|--------------|----------|
|           |       | (Média ± EP) |  | (Média ± EP)   |  |                         |  |                     |  |       |              |          |
| Melancia  | T01   | 45,0 ± 11,5  |  | 10,629 ± 0,723 |  | 1,119 ± 0,265           |  | 0,178 ± 0,038       |  | 457,0 | 13,0         | 17       |
|           | T02   | 56,0 ± 14,0  |  | 11,644 ± 0,372 |  | 1,251 ± 0,326           |  | 0,196 ± 0,048       |  | 610,0 | 12,5         | 20       |
|           | T03   | 45,0 ± 16,7  |  | 9,443 ± 1,401  |  | 1,583 ± 0,673           |  | 0,166 ± 0,074       |  | 380,0 | 7,0          | 20       |
|           | T04   | 97,0 ± 1,9 a |  | 8,078 ± 0,699  |  | 3,227 ± 0,213           |  | 0,201 ± 0,063       |  | 857,0 | 8,0          | 33       |
|           | T05   | 97,0 ± 1,9 a |  | 12,671 ± 0,356 |  | 1,933 ± 0,083           |  | 0,360 ± 0,041       |  | 844,0 | 13,2         | 47       |
| Pau-Balsa | T01   | 42,0 ± 4,8   |  | 1,239 ± 0,088  |  | 9,729 ± 1,436           |  | 0,746 ± 0,095       |  | 93,0  | 1,0          | 37       |
|           | T02   | 49,0 ± 3,0   |  | 1,451 ± 0,227  |  | 10,961 ± 0,265          |  | 0,755 ± 0,106       |  | 122,0 | 5,5          | 42       |
|           | T03   | 55,0 ± 3,0   |  | 1,373 ± 0,099  |  | 12,652 ± 0,732          |  | 0,784 ± 0,044       |  | 131,0 | 2,3          | 49       |

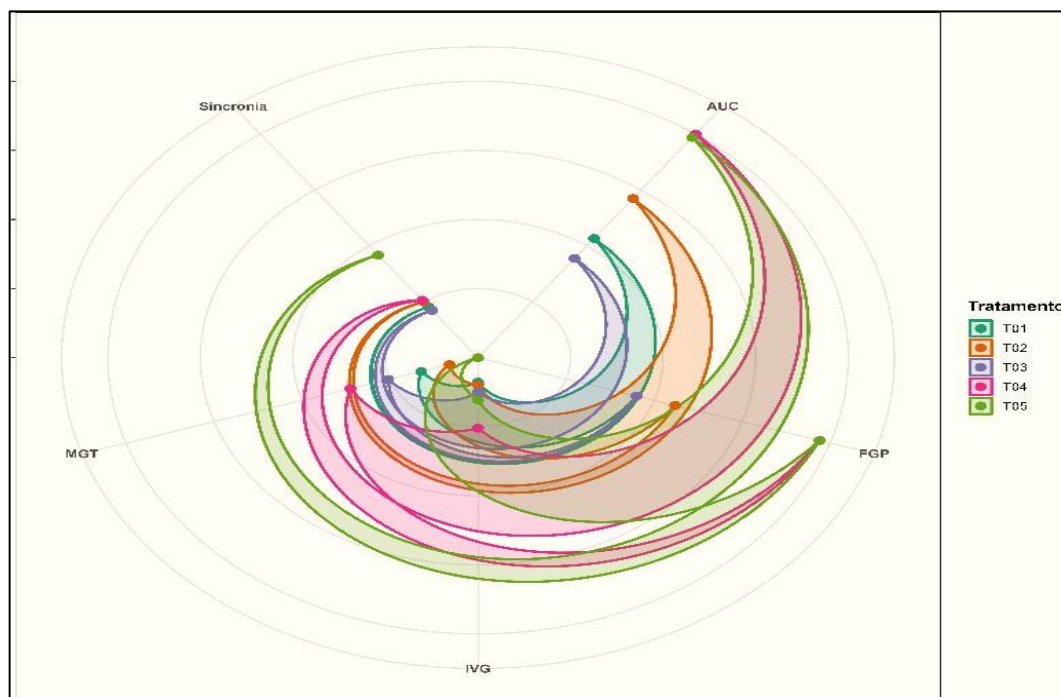
Fonte: Autor, 2025.

Para *Citrullus lanatus* (melancia), a introdução do tratamento T05 (controle com extrato puro, sem CuNPs) acrescenta uma camada crítica de interpretação. Enquanto o controle hidro (T04) manteve uma FGP excepcional de 97% com o maior IVG

(3,227), o T05, embora igualmente alto em FGP (97%), apresentou um MGT significativamente atrasado (12,671 dias) e um IVG reduzido (1,933). Isto sugere que o extrato vegetal utilizado na síntese verde possui, por si só, atividade biológica, provavelmente retardando a germinação sem impedi-la — um efeito alelopático direto do extrato. A resposta às CuNPs, portanto, deve ser interpretada sobre este pano de fundo. Com isso, os tratamentos T01, T02 e T03 (25, 50 e 100 µg/mL de CuNPs, respectivamente) suprimiram drasticamente a FGP (45%, 56%, 45%) e o IVG, com T01 e T02 também alongando o MGT para cerca de 11 dias nos testes.

O perfil de radar multidimensional (Figura 26) ilustra vividamente como T04 forma um polígono amplo (alto desempenho), T05 um polígono deslocado (alta FGP mas baixa velocidade), e T01-T03 polígonos contraídos (desempenho globalmente reduzido), essas observações vão de encontro com as análises relacionada a perfil.

**Figura 26:** Gráfico de radar (diagrama aranha) mostrando o perfil multidimensional dos parâmetros de germinação (AUC, FGP, IVG, MGT, Sincronia) para a melancia (*Citrullus lanatus*) sob os diferentes tratamentos. Cada polígono representa a "assinatura fisiológica" única de um tratamento.

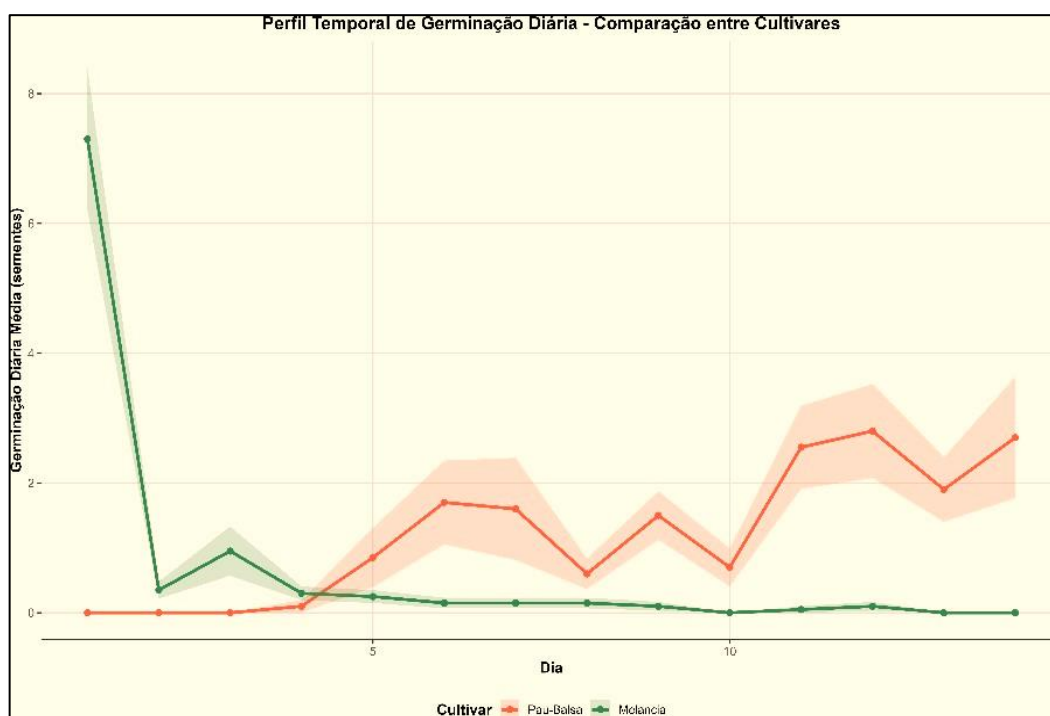


Fonte: Autor, 2025.

Para *Ochroma pyramidale* (pau-balsa), o efeito é diferente e destaca sua tolerância. Os tratamentos com CuNPs (T01-T03) não inibiram a FGP; na verdade, T03 (100 µg/mL) apresentou a maior média (55%). Mais impressionante é o efeito estimulatório sobre a velocidade e o vigor.

T01 e T03 apresentaram MGT ultrarrápidos (~1,3 dias) e IVGs elevadíssimos (>9,7), com T03 alcançando o maior IVG (12,652) e a maior sincronia (SYN=0,784) de todo o experimento. Este padrão de germinação explosiva e sincronizada sob a presença de CuNPs é claramente visível no perfil temporal diário (Figura 22), que mostra picos de germinação agudíssimos nos primeiros dias para essas sementes.

**Figura 27:** Perfil temporal diário de germinação (média de sementes germinadas por dia) para as cultivares de pau-balsa e melancia sob os diferentes tratamentos. Destaca os picos agudos e precoces no pau-balsa tratado com CuNPs versus os perfis baixos, prolongados ou tardios nos outros grupos.

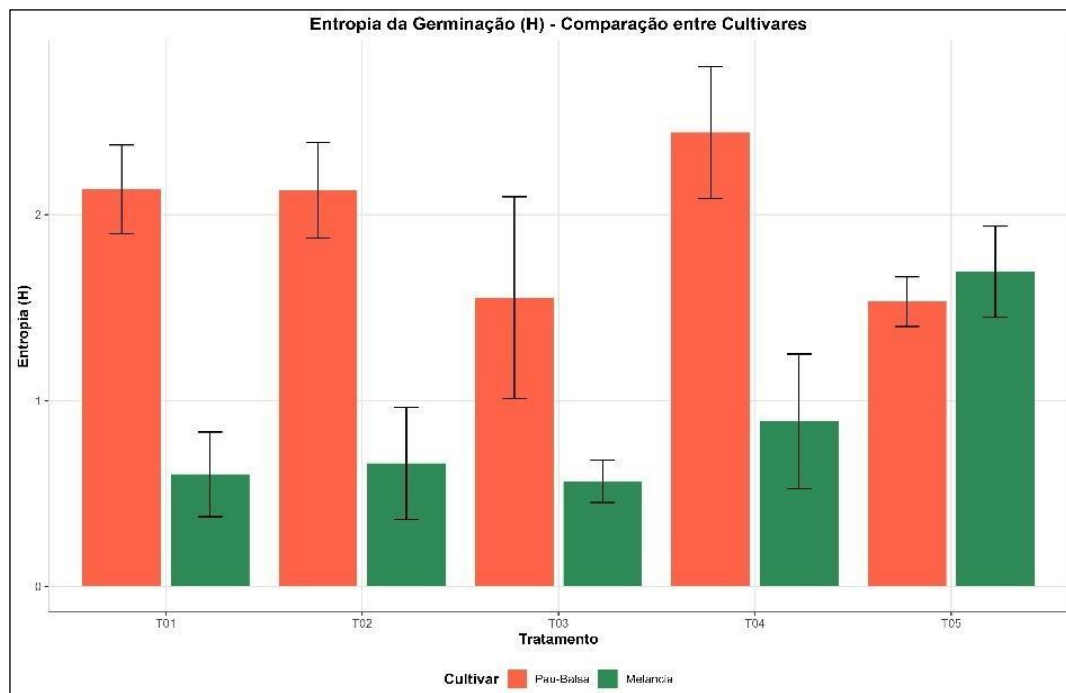


**Fonte:** Autor, 2025.

Em contraste, os controles T04 (água) e especialmente T05 (extrato puro) foram os mais prejudiciais ao pau-balsa, reduzindo a FGP para 24-27%, alongando o MGT (notadamente o T05 para 5,485 dias) e deprimindo o IVG. A análise de entropia (Figura 22) reflete essa organização temporal distinta, com os tratamentos T01-T03

(germinação rápida e sincronizada) exibindo perfis de entropia diferenciados dos controles T04 e T05, onde a germinação foi mais lenta e desordenada.

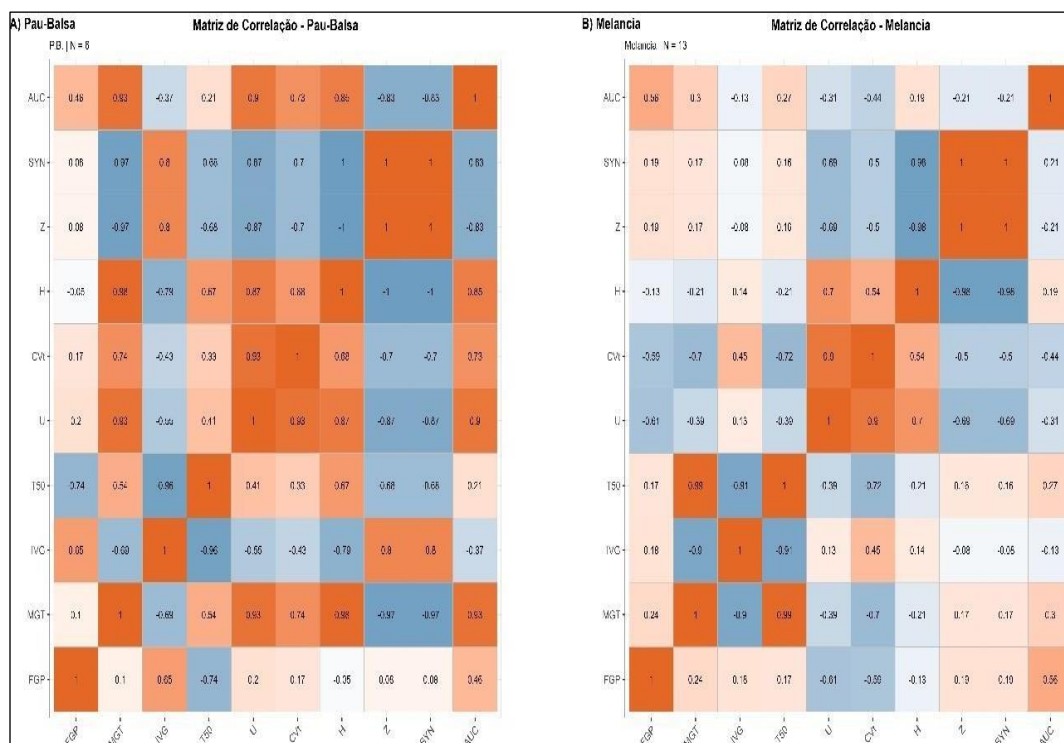
**Figura 28:** Valores de Entropia da germinação para as cultivares de pau-balsa e melancia submetidas aos diferentes tratamentos (T01 a T05). A entropia quantifica a desordem ou imprevisibilidade na distribuição temporal dos eventos de germinação. Barras representam média  $\pm$  erro padrão.



**Fonte:** Autor, 2025.

A análise multivariada e de correlações fornece o arcabouço para entender essas relações. A PCA, com seus componentes explicando a maior parte da variância, validou a separação espécie-específica. A matriz de correlação das matrizes comparativas por espécie (Figura 29) quantificam associações fisiológicas-chave.

**Figura 29:** Matrizes de correlação de Pearson comparativas para (A) Pau-Balsa e (B) Melancia. Os painéis mostram os coeficientes de correlação ( $r$ ) entre todos os pares de variáveis analisadas (FGP, MGT, IVG, T50, U, CVt, H, Z, SYN, AUC). A escala de cores (geralmente de -1 a +1) indica a força e direção das correlações intraespécie.



Fonte: Autor, 2025.

A forte correlação negativa entre MGT e IVG ( $r = -0,933$ ;  $p < 0.0001$ ) reafirma sua natureza complementar. Segundo Paixão *et al.*, (2021) e Coutinho *et al.*, (2023) as correlações significativas como FGP x AUG ( $r = 0,894$ ) e IVG x SYN ( $r = 0,906$ ) demonstram que germinação bem sucedida está não apenas a números finais. Mas a um processo vigoroso e organizado dentro dos processos germinativos.

A correlação negativa entre FGP e SYN ( $r = -0,723$ ), no entanto, mascara tendências opostas por espécie, sendo um artefato da divergência extrema entre os perfis do pau-balsa (alta SYN, FGP variável) e da melancia (baixa SYN nos tratamentos com alta FGP como T04/T05). O heatmap dos parâmetros (Figura 24) sintetiza visualmente esses contrastes, mostrando blocos de cores quentes (valores altos) para os parâmetros de velocidade do pau-balsa (T01-T03) e para a FGP da melancia (T05, T05), contra blocos frios para os demais.

**Figura 30:** Heatmap (mapa de calor) dos parâmetros germinativos normalizados por cultivar e tratamento. As cores representam os valores normalizados (escala: azul/baixo a vermelho/alto), permitindo a visualização integrada e comparativa dos

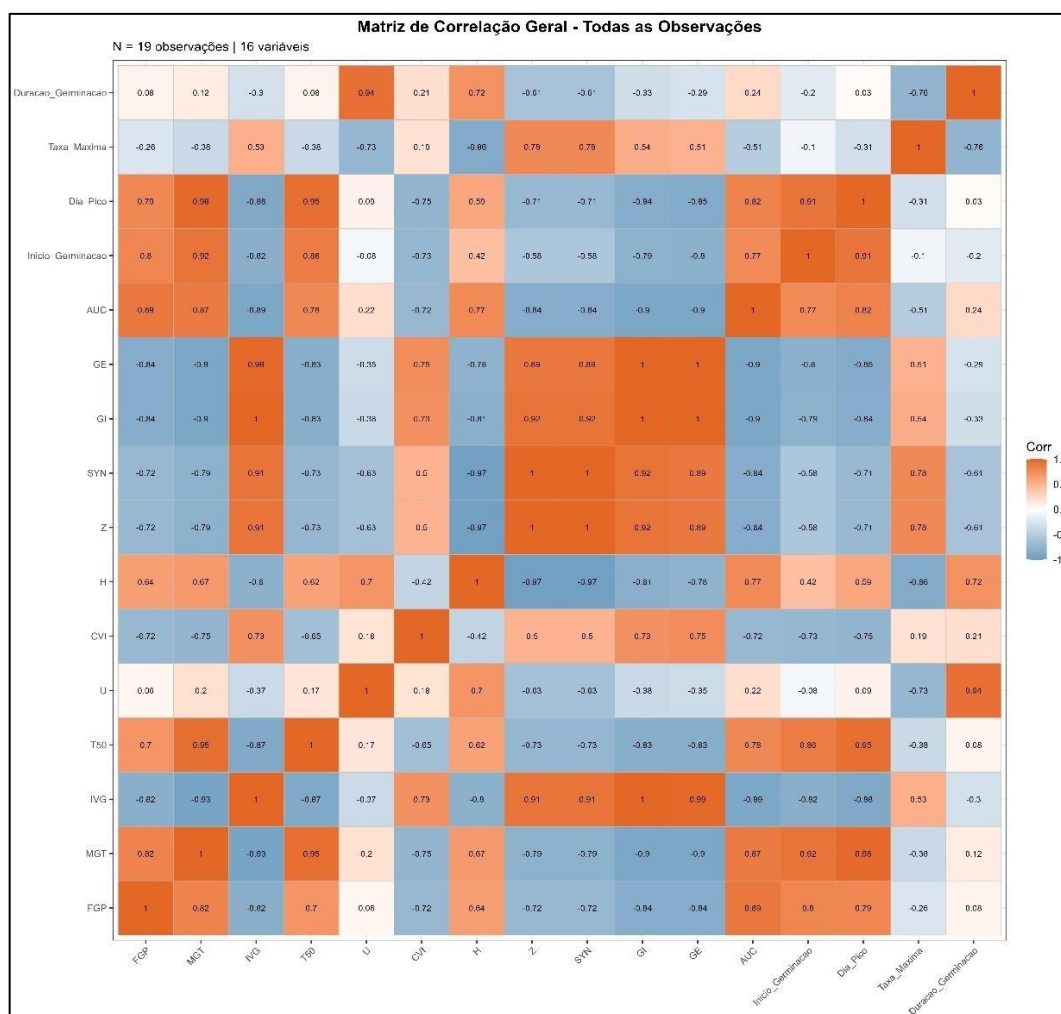
perfis multidimensionais. AUC: Área Sob a Curva; FGP: Porcentagem Final de Germinação; IVG: Índice de Velocidade de Germinação; MGT: Tempo Médio de Germinação.



Fonte: Autor, 2025.

A análise multivariada e de correlações fornece o arcabouço para entender essas relações. A PCA, com seus componentes explicando a maior parte da variância, validou a separação espécie-específica. A matriz de correlação geral (Figura 25) e as matrizes comparativas por espécie (Figura 23) quantificam associações fisiológicas-chave.

**Figura 31:** Matriz de correlação de Pearson geral, incluindo todas as observações (N=19) das 16 variáveis analisadas no estudo. Apresenta uma visão unificada das relações entre parâmetros de germinação, vigor e organização temporal, transcendendo as diferenças por espécie. Células coloridas e valores numéricos indicam o coeficiente de correlação (r) entre cada par de variáveis.



Fonte: Autor, 2025.

Os testes de suposição (normalidade e homogeneidade de variâncias) justificam a escolha de análises robustas. A não-normalidade e a heterogeneidade de variâncias para algumas variáveis (e.g., FGP e MGT) reforçam a complexidade dos dados biológicos e a pertinência de análises complementares não-paramétricas e de inspeção visual através de gráficos de boxplot (Figura 26), que eficazmente mostram a dispersão e medianas, como a extrema variabilidade da FGP no T03 da melancia e a consistência do MGT baixo no pau-balsa tratado.

**Figura 32:** Gráficos de caixa (*boxplot*) comparando a variabilidade de múltiplos parâmetros germinativos (AUC, FGP, IVG, MGT) entre os tratamentos (T01 a T05) e as duas cultivares (Pau-Balsa e Melancia). Os *boxplots* mostram a mediana, quartis, amplitude e possíveis *outliers*.



Fonte: Autor, 2025.

## 6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Este trabalho consolidou uma abordagem de pesquisa integrada que alia os princípios da Química Verde à Nanotecnologia, demonstrando entre outros contextos o potencial do extrato de murici (*Byrsonima crassifolia*) como um campo de pesquisa sustentável para a síntese e aplicação de nanomateriais na agricultura.

Do ponto de vista da síntese, a riqueza fitoquímica do extrato (com flavonoides, taninos e alcaloides) foi fundamental para a redução e estabilização de nanopartículas de cobre (CuNPs). Concomitante a isso, a análise econômica revelou que o processo pode ser otimizado, com o cenário Low\_Cost oferecendo a melhor eficiência em relação a custo-benefício. Além disso, a viabilidade de escala foi confirmada pela redução significativa do custo por litro em volumes maiores, destacando os componentes Extrato e Energia, como também os principais alvos para futuras otimizações para o campo de atuação que abrange estudos de compostos orgânicos.

Por outro lado, na aplicação alelopática, os resultados revelaram uma atividade biológica complexa e espécie-específica. Outrossim, enquanto as CuNPs estimularam a velocidade e sincronia da germinação em *Ochroma pyramidale* (pau-balsa), uma espécie pioneira, demonstraram efeito inibitório significativo em *Citrullus lanatus* (melancia). Neste contexto, é crucial destacar que o extrato veiculador exerceu por si só uma forte atividade biológica, indicando que o efeito final das CuNPs é uma modulação, e não apenas uma ação isolada da alelopatia natural.

Em síntese, esta pesquisa valida uma rota sustentável para a síntese de CuNPs e revela seu potencial como agente modulador seletivo da germinação. Assim, a tolerância observada em espécies pioneiras, em contraste com a sensibilidade de uma cultura agrícola, aponta para uma aplicação promissora no desenvolvimento de bioferramentas para manejo ecológico ou agrícola, onde a seletividade é um atributo desejável. Portanto, estudos futuros devem se concentrar na elucidação dos mecanismos moleculares por trás dessa seletividade e no teste das nanopartículas em condições de campo mais complexas.

## REFERÊNCIAS

AMALIYAH, Suci *et al.* Síntese verde e caracterização de nanopartículas de cobre utilizando extrato de Piper retrofractum Vahl como biorredutor e agente capeador. **Heliyon**, v. 8, 2020. Disponível em: [https://www.cell.com/heliyon/pdf/S2405-8440\(20\)31480-8.pdf](https://www.cell.com/heliyon/pdf/S2405-8440(20)31480-8.pdf). em: 23 ago. 2023.

ASSUMPÇÃO, Thiago Alexandre Alves de. **Desenvolvimento de técnica para nucleação de nanopartículas metálicas em vidros de germanato dopados com íons de túlio para aplicações em dispositivos fotônicos**. 2010. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo.

BACHA, Aziz-Ur-Rahim; NABI, Iqra; ZHANG, Liwu. Mechanisms and the engineering approaches for the degradation of microplastics **Acs Es&T Engineering**, v. 1, n. 11, p. 1481-1501, 2021.

BRANGIONI, Julia; GOMIDES, Lindisley Ferreira; SPÓSITO, Pollyanna Álvaro Ferreira. Relações entre a exposição aos agrotóxicos e o desenvolvimento do câncer: revisão sistemática. **SAÚDE DINÂMICA**, v. 3, n. 3, p. 1-24, 2021.

BAYDA, Samer *et al.* A história da nanociência e da nanotecnologia: das aplicações físico-químicas à nanomedicina. **Molecules**, v. 25, n. 1, p. 112, 2019.

BRAINER, Maria Simone De Castro Pereira; XIMENES, Luciano Feijão. **Produção e mercado do café**. 2021.

BRASIL, Conab. **Conab: safra de grãos record em 2024/25 com destaque para milho e soja, 2025**.

BAZIQUELTO, Vinícius Henrique; DE FÁTIMA GUILHERMINO, Jislaine. Caracterização química de Byrsonima crassifolia (L.) Rich (MALPIGHIACEAE). **Brazilian Journal of Development**, v. 6, n. 10, p. 77323-77329, 2020.

BEDNASKI, Aline A. *et al.* ANALISE FITOQUÍMICA DA CASCA DE Byrsonima crassifolia (L.) HBK. 2019.

BELIK, Walter. A heterogeneidade e suas implicações para as políticas públicas no rural brasileiro. **Revista de Economia e Sociologia Rural**, v. 53, p. 9-30, 2015.

BENELLI, Giovanni. Research in mosquito control: crente challenges for a brighter future. **Parasitology research**, v. 114, n. 8, p. 2801-2805, 2015.

CHAUDHARY, Jyoti *et al.* Synthesis and biological function of Nickel and Copper nanoparticles. **Heliyon**, v. 5, n. 6, 2019.

CARDOSO, Victor Martins *et al.* Perspectivas para as exportações do agronegócio brasileiro em 2024. **Agro Global-Comércio Internacional**, 2024.

CASTANHO, Roberto Barboza; TEIXEIRA, Matheus Eduardo Souza. A evolução da agricultura no mundo: da gênese até os dias atuais. **Brazilian Geographical Journal**:

**geosciences and humanities research médium**, v. 8, n. 1, p. 136-146, 2017.

COUTINHO, Maria Eduarda Dutra *et al.* Giberelina na germinação de sementes de mamão cv. Golden. **Revista Foco**, v. 16, n. 3, p. e1295-e1295, 2023.

DA SILVA, Aurenice Maria Mota *et al.* Incorporação de bagaço de cervejaria em análogos de carne à base de plantas: benefícios para a qualidade física e nutricional. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 59, n. 6, p. 3870-3882, 2024.

DE ARAÚJO, Rychardson Rocha; DOS SANTOS, Emanuelle Dias; DE LEMOS, Eurico Eduardo Pinto. Fenologia do muricizeiro (*Byrsonima verbascifolia* (L.) Rich) em zona de tabuleiro costeiro do nordeste brasileiro. **Revista Ciência Agrícola**, v. 12, n. 1, p. 1-8, 2014.

DE AZEVEDO LOPES, Marcio Caetano *et al.* Entre o “agro pop” e a agricultura familiar: um breve retrato do cenário agroalimentar brasileiro. **Revista Grifos**, v. 33, n. 61, p. 01-26, 2024.

DE SOUSA, Alessandra Carvalho *et al.* **Química Verde para a Sustentabilidade: natureza, objetivos e aplicação prática**. Editora Appris, 2021.

DE REZENDE, Fernanda Mendes *et al.* Vias de síntese de metabólitos secundários em plantas. **Laboratório de Ensino de Botânica**, v. 93, 2020.

ENBAYA, Tarek Elsharef *et al.* Persistência de alguns pesticidas sistêmicos e não sistêmicos na batata após aplicação em campo e durante o processamento de alimentos. **Al-Azhar Journal of Agricultural Research**, v. 49, n. 2, p. 15-22, 2024.

FERREIRA, Alfredo Gui; AQUILA, Maria Estefânia Alaves. Alelopatia: uma área emergente da ecofisiologia. **Revista brasileira de fisiologia vegetal**, v. 12, n. 1, p. 175-204, 2018.

GELLEN, Luís Fernando Albarello; SILVA, Edgard Henrique Costa. Atividade antimicrobiana de extratos de raízes de *Byrsonima crassifolia*. **J. Bioen. Ciência Alimentar**, v. 1, pág. 63-71, 2016.

KOBAYASHI, Y.; ALMEIDA, V.; BANDEIRA, T.; ALCÂNTARA, B.; SILVA, A.; BARBOSA, W. L.; SILVA, P.; MONTEIRO, M.; ALMEIDA, M. Avaliação fitoquímica e potencial cicatrizante do extrato etanólico dos frutos de Murici *Byrsonima crassifolia* em ratos Wistar. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 52, n. 1, p. 34-40, 13 abr. 2015.

JANKOWSKA, Magdalena; TOZOWICKA, Bożena; KACZYŃSKI, Piotr. Comprehensive toxicological study over 160 processing factors of pesticides in selected fruit and vegetables after water, mechanical and thermal processing treatments and their application to human health risk assessment. **Science of the total environment**, v. 652, p. 1156-1167, 2019.

LACERDA, Gabriela Eustáquio *et al.* Compostos fenólicos. **Compostos bioativos vegetais, 1ed. Palmas: EDUFT**, v. 1, p. 66-81, 2024.

LEMOS, Taciany Alves Batista *et al.* A utilização da propriedade verde para obtenção de nanopartículas de prata a partir de extratos de girassol (*helianthus annuus*). **Pesquisa, Sociedade e Desenvolvimento**, v. 10, n. 7, pág. e41810716795-e41810716795, 2021.

MACHADO, Adélio ASC. Dos primeiros aos segundos doze princípios da Química Verde. **Química Nova**, v. 35, p. 1250-1259, 2012.

MATIAS, Tális Pereira *et al.* Os agrotóxicos mais vendidos no Brasil: Implicações em meio ambiente e saúde. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 8, p. e12110817082-e12110817082, 2021.

MARIUTTI, Lilian RB; RODRIGUES, Eliseu; MERCADANTE, Adriana Z. Carotenoides de *Byrsonima crassifolia*: Identificação, quantificação e capacidade de sequestro in vitro contra radicais peroxila. **Journal of food composition and analysis**, v. 31, n. 1, p. 155-160, 2013.

MELO JR, Maurício Alves *et al.* Preparação de nanopartículas de prata e ouro: um método simples para a introdução da nanociência em laboratório de ensino. **Química nova**, v. 35, p. 1872-1878, 2020.

NARDOTTO, Rafael Santos; BERNARDELLI, Marlize Spagolla. A química verde como estratégia de ensino e aprendizagem no brasil/green chemistry as a teaching and learning strategy in brazil. **Revista Dynamis**, v. 25, n. 2, p. 173-186, 2019.

NOGUEIRA, Maria Vanessa Moura. **As dissonâncias da Lei 14.785/2023 com a gestão de agrotóxicos propostas pelo sistema internacional e pela União Europeia**. 2024.

OLIVEIRA, Johnatt Allan Rocha *et al.* Extração enzimática de compostos fenólicos de folhas de murucizeiro (*Byrsonima crassifolia*). **Scientia Plena**, v. 5, 2020.

OGINO, Cristiane Mitie; BACHA, Carlos José Caetano. Usos de agrotóxicos nas agropecuárias do Brasil, Estados Unidos e União Europeia. **Organizações Rurais & Agroindustriais**, v. 23, p. e1687-e1687, 2021.

PAIXÃO, Marcus Vinicius Sandoval *et al.* Ácido Giberélico na germinação de sementes e desenvolvimento inicial de plântulas de mamoeiro. In: **Agrotrópica** v. 33 n. 2 p. 143-148, 2021. 2021.

PRADO, Alexandre G.S. Química verde, os desafios da química do novo milênio. **Química Nova**, v. 26, pág. 738-744, 2003.

PESSOA, Vanira Matos; ALMEIDA, Magda Moura; CARNEIRO, Fernando Ferreira. Como garantir o direito à saúde para as populações do campo, da floresta e das águas no Brasil. **Saúde em Debate**, v. 42, p. 302-314, 2018.

PIGNATI, Wanderlei Antonio *et al.* Distribuição espacial do uso de agrotóxicos no Brasil: uma ferramenta para a Vigilância em Saúde. **Ciência & Saúde Coletiva**, v. 22, p. 3281-3293, 2017.

PORTO, Renato Cesar Tobias *et al.* Nanopartículas de óxido de zinco sintetizadas pelo método poliol: caracterização e avaliação da atividade antibacteriana. **Matéria (Rio de Janeiro)**, v. 22, n. Supl 1, p. e11912, 2019.

RANA, Anu; YADAV, Krishna; JAGADEVAN, Sheeja. Uma revisão abrangente sobre síntese verde de nanopartículas metálicas inspiradas na natureza: Mecanismo, aplicação e toxicidade. **Journal of Cleaner Production**, v. 272, p. 122880, 2020.

REMBISCHEVSKI, Peter; CALDAS, Eloisa Dutra. Agroquímicos para controle de pragas no Brasil: análise crítica do uso do termo agrotóxico como ferramenta de comunicação de risco. **Vigilância Sanitária em Debate: Sociedade, Ciência & Tecnologia**, v. 4, pág. 2-12, 2018.

RODRIGUES, Mayara Adrielly Leal de Oliveira. **Síntese verde de nanopartículas de cobre e suas aplicações: revisão de literatura**. 2022.

ROCHA, Gustavo *et al.* **Quantificação de metabólitos primários, secundários e atividade antioxidante em frutos e folhas de Passiflora tenuifolia Killip e Passiflora setacea DC (Passifloraceae)**. 2022.

SHARMA, Anket *et al.* Uso mundial de pesticidas e seus impactos no ecossistema. **SN Applied Sciences**, v. 1, n. 11, p. 1446, 2019.

SANFELICE, Rafaela C. *et al.* Introdução à nanotecnologia. **São Paulo: Blucher**, 2022.

SANFELICE, Rafaela C. *et al.* Introdução à nanotecnologia. **São Paulo: Blucher**, 2022.v

SERENO, Aiane Benevide *et al.* Perfil mineral, carotenoides e composição da cocona (*Solanum sessiliflorum* Dunal), uma fruta silvestre brasileira. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 72, p. 32-38, 2018.

SILVA, Luciano Paulino *et al.* Nanotecnologia verde para síntese de nanopartículas metálicas. In: **Biotecnologia Aplicada à Agro & Indústria-Vol. 4**. Blucher Open Access, 2017. p. 967-1.012.

SILVA, Flávia Martins da; LACERDA, Paulo Sérgio Berço de; JONES JÚNIOR, Joel. Desenvolvimento sustentável e química verde. **Química nova**, v. 28, pág. 103-110, 2005.

SOBRINHO, Alessandra Carla Guimarães *et al.* Determinação de compostos bioativos e capacidade sequestradora de radicais livres em extratos de folhas de *Byrsonima crassifolia* e *Inga edulis*. **Brazilian Journal of Development**, v. 6, n. 6, p. 34954- 34969, 2020.

SOUZA, Paulo Marcelo de *et al.* Diferenças regionais de tecnologia na agricultura familiar no Brasil. **Revista de Economia e Sociologia Rural**, v. 57, n. 4, p. 594-617, 2019.

SOUSA, AC de; SILVA, C. E.; COSTA, T. T. A abordagem dos princípios da Química Verde e sustentabilidade no livro didático de química do ensino médio. **Revista Electrónica de Enseñanza de las Ciencias**, v. 19, n. 3, p. 593-616, 2020.

VENTAPANE, Ana Lúcia de S.; SANTOS, PML dos. Aplicação de princípios de Química Verde em experimentos didáticos: um reagente de baixo custo e ambientalmente seguro para detecção de íons ferro em água. **Química nova na escola**, v.43, n.2, p.201-20.