



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ – UFC  
FACULDADE DE MEDICINA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOTECNOLOGIA – PPGB**

**CIRO SIQUEIRA FIGUEIRA**

**BIOSSÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DE NANOPARTÍCULAS DE OURO  
PRODUZIDAS COM EXTRATO AQUOSO DE FOLHAS DE *ANACARDIUM  
OCCIDENTALE* L.**

**SOBRAL**

**2018**

CIRO SIQUEIRA FIGUEIRA

BIOSSÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DE NANOPARTÍCULAS DE OURO  
PRODUZIDAS COM EXTRATO AQUOSO DE FOLHAS DE *ANACARDIUM*  
*OCCIDENTALE* L.

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia, da Universidade Federal do Ceará – UFC/*Campus* Sobral, como requisito parcial para obtenção do Título de Mestre em Biotecnologia.

Orientador: Prof. Dr. Ricardo Pires dos Santos.

SOBRAL

2018

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação  
Universidade Federal do Ceará  
Biblioteca Universitária  
Gerada automaticamente pelo módulo Catalog, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

---

F485b Figueira, Ciro Siqueira.  
BIOSSÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DE NANOPARTÍCULAS DE OURO PRODUZIDAS COM  
EXTRATO AQUOSO DE FOLHAS DE ANACARDIUM OCCIDENTALE L. / Ciro Siqueira Figueira. –  
2018.  
90 f. : il. color.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Ceará, Campus de Sobral, Programa de Pós-Graduação  
em Biotecnologia, Sobral, 2018.  
Orientação: Prof. Dr. Ricardo Pires dos Santos.

1. Nanopartículas de ouro. 2. Anacardium occidentale. 3. síntese verde. 4. extrato aquoso. I. Título.  
CDD 660.6

---

CIRO SIQUEIRA FIGUEIRA

BIOSSÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DE NANOPARTÍCULAS DE OURO  
PRODUZIDAS COM EXTRATO AQUOSO DE FOLHAS DE *ANACARDIUM*  
*OCCIDENTALE* L.

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia, da Universidade Federal do Ceará – UFC/*Campus* Sobral, como requisito parcial para obtenção do Título de Mestre em Biotecnologia.

Aprovada em \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_

BANCA EXAMINADORA

---

Prof. Dr. Ricardo Pires dos Santos (Orientador)  
Universidade Federal do Ceará – UFC

---

Prof. Dr. José Roberto Viana Silva (Examinador)  
Universidade Federal do Ceará – UFC

---

Prof. Dr. João Batista Cajazeiras (Examinador)  
Centro Universitário INTA (UNINTA)

Aos meus pais, Luiz e Socorro.

À minha amada esposa, Érica.

Aos meus amados filhos, Luiz Neto e Elvira,  
dedico.

## AGRADECIMENTOS

Ao Grande Arquiteto do Universo, fonte de tudo que há. ∴

À CAPES, pelo apoio financeiro com a manutenção da bolsa de auxílio.

Ao meu orientador, Professor Dr. Ricardo Pires dos Santos, pelo empenho e dedicação nos momentos de aprendizagem e partilha.

Aos professores do Programa de Biotecnologia da Universidade Federal do Ceará, pelos ensinamentos e dedicação.

Aos colegas da turma de mestrado, pelos bons momentos que passamos juntos.

Ao Prof. Dr. Luiz Fernando Gorup que, mesmo sem conhecê-lo pessoalmente, não hesitou em me auxiliar dando dicas e sugestões para o progresso do trabalho.

Ao Núcleo Bioprospecção e Experimentação Molecular (NUBEM), na pessoa do colega Mateus Gomes.

À Secretaria de Educação Básica do Estado do Ceará – SEDUC pelo incentivo.

Especialmente à minha amada Família, pela compreensão, pelo apoio, pelo incentivo, pela parceria. Meus pais, Luiz e Socorro pelos momentos de presença e segurança em que pude contar na minha ausência. Minha esposa, Érica, que soube administrar com paciência e determinação os tempos decorrentes da distância. Aos meus filhos pela ingênua compreensão, que mesmo sem saber da importância desse momento, apoiavam-me quando me viam ao retorno do lar com um largo e sincero sorriso. Amo todos vocês e serei eternamente grato.

“Eu sou um universo de átomos, e ainda assim,  
um átomo no universo. ”

Richard P. Feynman

## RESUMO

Uma das áreas da ciência que ganhou destaque e desenvolvimento nas últimas décadas foi a Nanotecnologia, que consiste na produção e manipulação de materiais em escala nanométrica. Um material é considerado nanoparticulado se estiver na faixa compreendida entre 0,1 a 100 nanômetros ( $1\text{nm} = 10^{-9}\text{m}$ ). Em particular, as nanopartículas de ouro tornaram-se uma forte candidata para uso em larga escala na biomedicina, devido a possibilidade de imobilização de moléculas biologicamente ativas (processo conhecido como funcionalização) com uso terapêutico em sua superfície. Biossíntese é o processo que utiliza organismos ou partes deles, em substituição dos reagentes químicos, sendo uma alternativa de baixo custo, segura ao ser humano e sustentável, já que minimiza os riscos de prejuízo ao meio ambiente na fabricação de biomateriais. O presente trabalho teve como objetivo a produção (biossíntese) e funcionalização de nanopartículas de ouro, a partir do ácido tetracloreáurico, com biomoléculas ativas presentes no extrato aquoso de folhas sadias, da espécie *Anacardium occidentale* L. Para a preparação do extrato, 10g de folhas recém coletadas (fragmentadas em pequenos pedaços) foram colocadas para infusão em 100mL de água ultrapura e mantidas sob agitação por 5 minutos a temperatura ambiente. Posteriormente a infusão foi filtrada para obtenção de um extrato aquoso. Uma alíquota 10 mL do extrato foi adicionada a 30 mL de uma solução de  $\text{HAuCl}_4$  ( $2,5 \times 10^{-4}\text{M}$ ) sob agitação. A formação das nanopartículas de ouro ocorreu em menos de 1 minuto, constatada pela mudança de coloração da solução (de dourada para avermelhada). A solução foi centrifugada várias vezes para a extração das nanopartículas de ouro. A caracterização físico-química das nanopartículas deu-se por métodos de caracterização espectrométricos na região ultravioleta-visível (onde a solução apresentou um pico de absorção de 531nm, indicando a formação de nanopartículas de Au) e na região do infravermelho (que indicou a imobilização de biomoléculas do extrato nas nanopartículas). Os resultados de espectroscopia por infravermelho sugerem que substâncias presentes no extrato atuaram como agentes redutor (proteínas) e estabilizante (ácido gálico e as amins alifáticas). Análises topográficas por microscopia de força atômica (AFM) mostraram que as nanopartículas apresentaram um formato triangular, com tamanho médio de 85nm. A síntese de nanopartículas de ouro mediada por extrato vegetal pode substituir alguns métodos físico-químicos usados atualmente para a produção de nanopartículas. Em conclusão, o *A. occidentale* é uma excelente alternativa para a síntese de nanopartículas de ouro ambientalmente aceitável e bom candidato a várias aplicações biomédicas.

**Palavras-chave:** Nanopartículas de ouro, *Anacardium occidentale*, biossíntese, extrato aquoso.



## ABSTRACT

One of the areas of science that has gained prominence and development in the last decades was Nanotechnology, which consists of the production and manipulation of nanometer-scale materials. A material is considered nanoparticulate if it is in the range of 0.1 to 100 nanometers ( $1\text{nm} = 10^{-9}\text{m}$ ). In particular, gold nanoparticles have become a strong candidate for large-scale use in biomedicine due to the possibility of immobilization of biologically active molecules (process known as functionalization) with therapeutic use on their surface. Biosynthesis is the process that uses organisms or parts of them, replacing the chemical reagents, being a low cost alternative, safe to the human being and sustainable, since it minimizes the risks of damage to the environment in the manufacture of biomaterials. The present work had the objective of producing (biosynthesis) and functionalization of gold nanoparticles from tetrachlorouric acid with active biomolecules present in the aqueous extract of healthy leaves of the species *Anacardium occidentale* L. For the preparation of the extract, 10 g of leaves freshly collected (fragmented into small pieces) were infused into 100 ml of ultrapure water and kept under stirring for 5 minutes at room temperature. Subsequently the infusion was filtered to obtain an aqueous extract. A 10 mL aliquot of the extract was added to 30 mL of a solution of  $\text{HAuCl}_4$  ( $2.5 \times 10^{-4}$  M) under stirring. The formation of the gold nanoparticles occurred in less than 1 minute, verified by the change in coloration of the solution (from golden to reddish). The solution was centrifuged several times for the extraction of gold nanoparticles. The physico-chemical characterization of the nanoparticles was done by spectrometric characterization methods in the ultraviolet-visible region (where the solution showed an absorption peak of 531 nm, indicating the formation of Au nanoparticles) and in the infrared region (which indicated the immobilization of nanoparticle extract biomolecules). The results of infrared spectroscopy suggest that substances present in the extract acted as reducing agents (proteins) and stabilizing agents (gallic acid and aliphatic amines). Topographic analyzes by atomic force microscopy (AFM) showed that the nanoparticles had a triangular shape, with an average size of 85nm. The synthesis of gold nanoparticles mediated by plant extract may replace some physicochemical methods currently used for the production of nanoparticles. In conclusion, *A. occidentale* is an excellent alternative for the synthesis of environmentally acceptable gold nanoparticles and a good candidate for several biomedical applications.

**Key words:** Gold nanoparticles, *Anacardium occidentale*, biosynthesis, aqueous extract.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1	– Tipos de Nanopartículas.....	21
Figura 2	– Esquema ilustrativo das vias <i>Top down</i> e <i>Botton up</i> na obtenção de nanopartículas.....	23
Figura 3	– Mecanismo de amadurecimento de Ostwald .....	23
Figura 4	– Desenho esquemático dos tipos de estabilização de NP's.....	24
Figura 5	– Cálice de Licurgo: a esquerda, coloração esverdeada devido a reflexão da luz e, à direita, coloração avermelhada pela transmissão da luz .....	25
Figura 6	– Espalhamento do feixe de laser através do efeito Tyndall, evidencia a presença de partículas em suspensão.....	26
Figura 7	– Escala de cores das nanopartículas em função do tamanho e do plasmon de superfície .....	27
Figura 8	– Imagens TEM representativas de nanoestruturas de ouro: esferas (A); cubos (B); estrelas (C), <i>rods</i> (D) e triângulos (E) .....	27
Figura 9	– Reação de redução do $\text{HAuCl}_4$ por citrato.....	28
Figura 10	– Ilustração gráfica onde se observa as etapas do processo de formação das nanopartículas .....	29
Figura 11	– Estabilização eletrostática da AuNP por Citrato.....	30
Figura 12	– Ilustração mostrando diferentes fontes biológicas que variam de biomoléculas, drogas, plantas e microrganismos que são utilizados na biossíntese de nanopartículas.....	31
Figura 13	– Esquema de crescimento de nanopartículas a partir de certas partes vegetais...	33
Figura 14	– <i>A. occidentale</i> . Detalhe das folhas com início da formação da inflorescência..	35
Figura 15	– Esquema ilustrado do espectro eletromagnético: comprimentos de ondas pequenos (maior frequência) a grandes comprimentos de ondas (menor frequência) .....	40
Figura 16	– Possíveis transições moleculares em uma molécula.....	40
Figura 17	– Espectro UV-Vis típico de solução de AuNPs e sua dependência da RPS em função do tamanho de NP esféricas.....	41
Figura 18	– Tipos de movimentação molecular provocadas por IR (os sinais + e – são movimentos para cima e para baixo do plano) .....	43
Figura 19	– Exemplos de formações características de algumas dessas vibrações no espectro de IR.....	44
Figura 20	– Representação do mecanismo de funcionamento do AFM.....	45

Figura 21 – Esquema das forças de interação entre a ponta e a amostra.....	46
Figura 22 – Solução concentrada de H <sub>2</sub> AuCl <sub>4</sub> (0,1M) .....	50
Figura 23 – Esquema do processo de purificação empregado neste trabalho.....	52
Figura 24 – Imagens da mica isolante usada em componentes eletrônicos.....	53
Figura 25 – Mudança na coloração da solução de ouro, indicando a formação das AuNPs.	55
Figura 26 – Espectros UV-Vis do extrato aquoso das folhas do cajueiro e da solução de H <sub>2</sub> AuCl <sub>4</sub> . Em (A) solução de ouro (2,5x10 <sup>-4</sup> M) extrato das folhas e em (B) extrato das folhas.....	56
Figura 27 – Espectro de absorção UV-Vis das AuNPs recém-sintetizadas com $\lambda_{\text{máx}}$ de 532nm e AuNPs centrifugadas com pico de 531 nm.....	57
Figura 28 – Esquema representativo do cálculo de FWHM da amostra de AuNP centrifugada.....	59
Figura 29 – Folhas coletadas do <i>A. occidentale</i> em processo de secagem para análise em FTIR.....	60
Figura 30 – Resultado do processo de centrifugação para obtenção do <i>pellet</i> para análise FTIR.....	60
Figura 31 – Espectro obtido por espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier das folhas de <i>A. occidentale</i> .....	61
Figura 32 – Espectro obtido por espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier das AuNPs.....	62
Figura 33 – Sobreposição dos espectros FTIR da folha do cajueiro e das AuNPs.....	63
Figura 34 – Detalhe da região do espectro FTIR correspondente a assinatura molecular, das bandas correspondentes.....	64
Figura 35 – Captura de tela no momento em que o equipamento fazia a varredura na superfície de mica recém clivada e preparada conforme a descrição feita na metodologia (5x5 $\mu$ m) .....	65
Figura 36 – Detalhe da escala de variação da altura da sonda em contato com a superfície. ....	65
Figura 37 – Micrografia das AuNPs depositadas em superfície de mica. Varredura 5x5 $\mu$ m.....	66
Figura 38 – Micrografia das AuNPs depositadas em superfície de mica. Varredura 2,5x2,5 $\mu$ m.....	67
Figura 39 – Detalhe de uma única AuNP. Varredura feita 200 x 200 nm.....	69
Figura 40 – Imagem 3D da AuNP, os pontos “P” e “Q” mostram a superfície da NP. Em (A), mostra as dimensões de sua largura e em (B) as dimensões de seu comprimento.....	70

Figura 41 – Detalhe da fixação do pellet das AuNPs que foram centrifugadas e utilizadas na obtenção das imagens do filme de NP.....	71
Figura 42 – Imagem das AuNPs do filme de NP. Varredura feita em 2,5 x 2,5 $\mu\text{m}$ .....	71
Figura 43 – Imagem das AuNPs do filme de NP. Varredura feita em 1,0 x 1,0 $\mu\text{m}$ .....	72
Figura 44 – Imagem das AuNPs do filme de NP. Varredura feita em 500 x 500 nm .....	73

## LISTA DE GRÁFICOS

- Gráfico 1 – Histograma com distribuição normal da largura das NPs (linha vertical) ..... 68
- Gráfico 2 – Histograma com distribuição normal do diâmetro das NPs (linha horizontal) 69

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Biossíntese de nanopartículas a partir de extrato de folhas vegetais.....	34
Tabela 2 – Prospecção química de <i>Anacardium occidentale</i> L.....	37
Tabela 3 – Principais atividades biológicas do <i>A. occidentale</i> .....	37
Tabela 4 – Principais técnicas utilizadas na caracterização de NPs .....	38

## LISTA DE ABREVIATURA E SIGLAS

Abs	Absorbância
AFM	Microscópio de Força Atômica
AuNPs	Nanopartículas de ouro
DLS	Espalhamento de luz dinâmico
DRX	Difração por raio-x
EDX	Espectroscopia por Energia Dispersiva de raios X
FTIR	Espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier
HAuCl <sub>4</sub>	Ácido tetracloroáurico
HNO <sub>3</sub>	Ácido nítrico
HCl	Ácido clorídrico
Si <sub>3</sub> N <sub>4</sub>	Nitreto de silício
IR	Infravermelho (do inglês <i>Infrared</i> )
LEMSS	Laboratório de Engenharia de Materiais e Simulação de Sobral
MET	Microscopia eletrônica de transmissão
MEV	Microscopia eletrônica de varredura
NP	Nanopartícula
pH	Potencial hidrogeniônico
RPS	Ressonância Plasmônica de Superfície
T	Transmitância
UFC	Universidade Federal do Ceará
UV-Vis	Espectrofotometria na região do ultravioleta-visível

## LISTA DE SÍMBOLOS

Å	Angstrom ( $10^{-10}$ )
nm	Nanômetro ( $10^{-9}$ )
g	Força g (aceleração da gravidade)
rpm	Rotações por minuto
µm	Micrômetro
λ	Comprimento de onda
cm <sup>-1</sup>	Centímetro recíproco (número de onda)
%	Porcentagem
Hz	Hertz
N/m	Newton por metro
Au <sup>+3</sup>	Átomo de ouro oxidado
Au <sup>0</sup>	Átomo de ouro reduzido
mL	Mililitros
µL	Microlitros
mg	Miligramas
°C	Graus Celsius
M	Molar
2D	Duas dimensões
3D	Três dimensões



## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO</b> .....	<b>19</b>
<b>2. REFERENCIAL TEÓRICO</b> .....	<b>21</b>
<b>2.1 Nanopartículas</b> .....	<b>21</b>
<b>2.2 Nanopartículas de ouro (AuNPs)</b> .....	<b>25</b>
<b>2.3 Síntese de AuNPs</b> .....	<b>28</b>
2.3.1 Síntese química via citrato.....	28
2.3.2. Síntese verde.....	31
2.3.3 Extratos vegetais.....	32
<b>2.4 Planta de interesse: Anacardium occidentale L.</b> .....	<b>35</b>
<b>2.5 Caracterização das AuNPs</b> .....	<b>38</b>
2.5.1 Espectroscopia UV-Vis .....	39
2.5.2 Espectroscopia no infravermelho (IR).....	42
2.5.3 Microscopia de Força Atômica.....	44
2.5.3.1 Superfície de visualização .....	47
<b>3. OBJETIVOS</b> .....	<b>48</b>
<b>3.1 Objetivo Geral</b> .....	<b>48</b>
<b>3.2. Objetivos Específicos</b> .....	<b>48</b>
<b>4. MATERIAIS E MÉTODOS</b> .....	<b>49</b>
<b>4.1 Reagentes</b> .....	<b>49</b>
<b>4.2 Métodos</b> .....	<b>49</b>
4.2.1 Coleta das folhas.....	49
4.2.2 Obtenção do extrato vegetal aquoso.....	49
4.2.3 Procedimento experimental .....	50
4.2.3.1 Solução concentrada de H <sub>2</sub> AuCl <sub>4</sub> .....	50
4.2.3.2. Solução de experimentação. ....	51
4.2.3.3 Síntese verde de nanopartículas de ouro (AuNP's).....	51
4.2.3.4 Purificação da solução coloidal de AuNPs.....	51
4.2.3.5 Preparo da superfície de mica.....	52
<b>4.3 Caracterização</b> .....	<b>53</b>
4.3.1 Microscopia de Força Atômica (AFM) .....	53
4.3.2 Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier .....	54
4.3.3 Espectroscopia de UV-Vis .....	54
<b>5. RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	<b>55</b>
<b>5.1 Síntese verde de nanopartículas de ouro (AuNPs)</b> .....	<b>55</b>
<b>5.2 Espectroscopia de absorção no UV-Visível</b> .....	<b>56</b>

<b>5.3 Espectroscopia de infravermelho por transformada de Fourier (FTIR) .....</b>	<b>59</b>
<b>5.4 Microscopia por força atômica (AFM).....</b>	<b>64</b>
5.4.1 Superfície da mica isolante.....	65
5.4.2 Imagens obtidas por AFM .....	66
<b>6. CONCLUSÃO.....</b>	<b>74</b>
<b>7. PERSPECTIVAS.....</b>	<b>75</b>
<b>REFERÊNCIAS .....</b>	<b>76</b>

## 1. INTRODUÇÃO

Uma área da ciência que ganhou muito destaque e desenvolvimento nas últimas décadas foi a dos materiais nanométricos (SANCHEZ et al., 2005). A produção e manipulação de materiais em escala nanométrica é conhecida como Nanotecnologia (SAHOO et al., 2007). A bilionésima ( $1 \times 10^{-9}$ ) parte do metro corresponde ao nanômetro (nm). Um material é considerado nanoparticulado se estiver na faixa compreendida entre 0,1 a 100 nanômetros. O uso do termo *Nanopartícula* (NP), literalmente falando, compreende uma partícula que, não importando sua constituição, forma, tipos de interações e aplicações, exibe um tamanho nanométrico. Entretanto, não existe uma regra consensual entre os cientistas para tal definição.

Nesta escala, os objetos apresentam propriedades físico-químicas bastante diferentes, em oposição aos seus constituintes quando estão em tamanhos maiores (CHAU et al., 2007). O motivo para tal comportamento é a grande relação entre a superfície/volume, proporcionando uma alta reatividade desses compostos.

A nanotecnologia é uma ciência interdisciplinar, envolvendo múltiplas áreas do conhecimento, promovendo novas oportunidades para aplicação de soluções de problemas cotidianos; desde as tecnologias da informação ao campo das ciências médicas (HARRISON, 2007). As nanopartículas (NP) exercem uma forte influência, especialmente na farmacologia. Um campo bastante promissor é a manipulação de fármacos nanoestruturados para criação de sistemas conhecidos como *drug delivery* (BARRATT, 2000). Conhecer e entender os mecanismos físico-químicos das nanopartículas e como elas podem interagir com os sistemas vivos, pode auxiliar no enfrentamento de problemas de saúde, especialmente os causados por microrganismos.

Particularmente, as nanopartículas de ouro (AuNPs) tornaram-se uma forte “candidata” para uso em larga escala na biomedicina, pois possuem várias possibilidades de aplicações biológicas, como testes de diagnóstico, ablação térmica, carreadoras de fármacos para o local de ação e radioterapia (HAMOUDEH, et al., 2008). A utilização das AuNPs como veículo para a entrega de drogas dentro das células é uma das mais bem conhecidas e exploradas aplicações (SPERLING et al., 2008). Tal mecanismo utiliza biomoléculas adsorvidas na superfície das AuNPs, processo conhecido como funcionalização. O mecanismo de fabricação de nanopartículas, depende de vários fatores, especialmente para o fim de aplicação e o tipo de nanopartícula específica. Em sentido amplo, existe duas abordagens: *top-down* e *bottom-up*. A primeira se utiliza de métodos físicos, como a nanolitografia, para construir as nanopartículas

a partir do material *bulk* para estágios de escalas menores. Já a segunda abordagem emprega reações químicas para criar o nanomaterial átomo a átomo (GORUP, 2010). Ambos processos possuem a desvantagem de utilizarem solventes tóxicos, gerando resíduos com riscos para a saúde humana e para o ambiente, além de serem metodologias caras (CAUERHFF e CASTRO, 2013). Em face de tais argumentos, emerge a necessidade de buscar abordagens alternativas que sejam viáveis, do ponto de vista econômico, seguras para o ser humano e com baixo ou nenhum risco de prejuízo para o meio ambiente, e a síntese verde, ou biossíntese, é uma alternativa interessante.

Segundo Iravani (2011), a síntese verde, ou biorredução, de NPs é um processo que utiliza organismos, ou partes deles (como, biomoléculas, células, tecidos ou órgãos), em substituição dos reagentes químicos, nos processos de síntese de nanocompostos, apresentando-se como uma alternativa econômica e sustentável. Extrato de plantas como rota para síntese verde é o método mais fácil de sintetizar nanopartículas (RAI, 2013). A redução de um íon metálico a partir de extratos vegetais já era conhecida desde o início do século XX, apesar do processo ainda não ser totalmente elucidado (MITTAL et al., 2013). Sabe-se que a biossíntese por plantas, também chamada de fitossíntese, ocorre por uma combinação de biomoléculas como aminoácidos, proteínas, polissacarídeos, flavonoides, ácido tânico e terpenoides (AKHTAR et al., 2013).

A cultura do caju é uma das atividades agrícolas mais importantes do nordeste brasileiro, importante objeto de exportação, gerando renda para a população rural. O cajueiro pertence à família *Anacardiaceae*, gênero *Anacardium*. É uma planta tipicamente tropical, perene, crescimento contínuo, alcançando até 20 m de altura (SANTOS, 2007). Há relatos sobre suas propriedades antimicrobianas (SILVA, 2007), anti-inflamatória (DAVIS et al., 2007; VANDERLINDE et al., 2009) e antioxidante (BROINIZI, 2007, 2008).

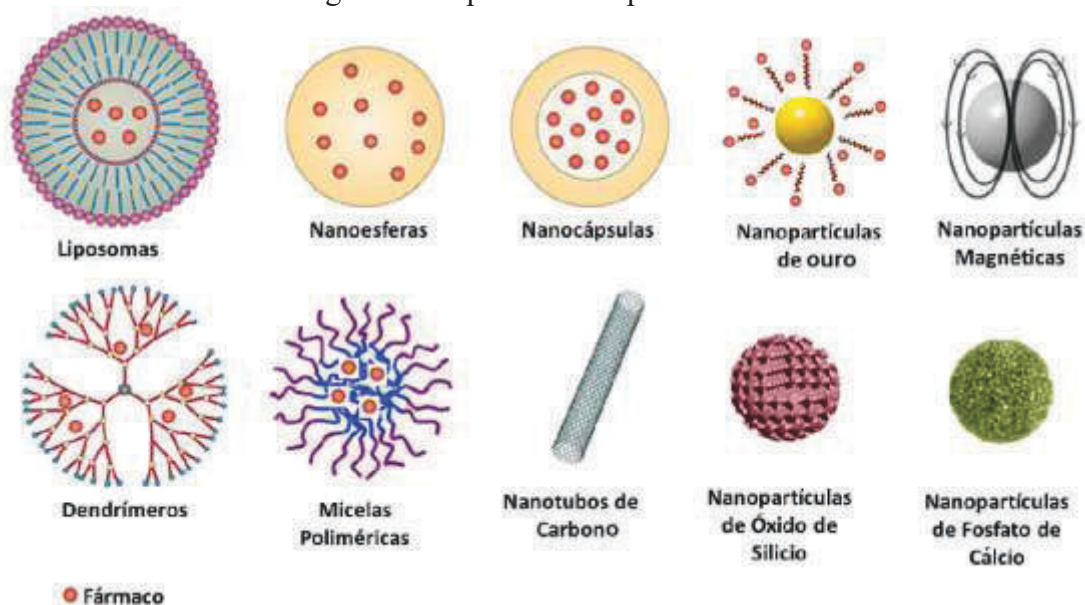
Após a síntese, as NPs são caracterizadas por técnicas de Espectroscopia na região do ultravioleta e visível para sua identificação, espectroscopia na região do infravermelho para possível identificação de compostos orgânicos e visualização da sua morfologia por microscopia de força atômica. Todos equipamentos estão disponíveis no Laboratório de Engenharia de Materiais e Simulação de Sobral (LEMSS) da Universidade Federal do Ceará, Campus Mucambinho, Sobral - CE.

## 2. REFERENCIAL TEÓRICO

### 2.1 Nanopartículas

Não existe uma normatização internacional para definir o conceito de nanopartícula. O uso consensual de que qualquer material que esteja na faixa de compreendida entre 0,1 a 100nm é considerado uma nanopartícula (EUSTIS e EL-SAYED, 2006). Existe uma variedade de tipos de nanopartículas, oferecendo uma gama de possibilidade de compreensão dos fenômenos físico-químicos que são completamente diferentes devido à grande relação superfície/volume (THURMAN, 2007). A alta reatividade dos materiais em escala atômica favorece uma nova dimensão das aplicações de tais materiais, no campo da biomedicina, engenharia de materiais, microeletrônica etc. Os tipos de NPs podem ser melhor compreendidas conforme a ilustração abaixo:

Figura 1 – Tipos de Nanopartículas.



Fonte: Adaptado de ALCALÁ-ALCALÁ e QUINTANAR-GUERRERO (2014).

As nanopartículas podem ser classificadas em inorgânicas e orgânicas (HORN e RIEGER, 2001). Nanopartículas inorgânicas, como ouro e magnetita, tem sido descrita na utilização no diagnóstico e na terapia contra certos tipos de cânceres (GANTA, 2008). As nanopartículas metálicas de ouro, objeto de investigação do presente trabalho, serão detalhadas na próxima seção. Abaixo segue uma breve nota explicativa sobre cada tipo de NPs descritas na Figura 1.

As nanopartículas poliméricas exibem um potencial para atuar como agentes carreadores de fármacos, devido sua superfície ser facilmente modificada por meios químicos, possibilitando a incorporação de drogas, de compostos de imageamento para ressonância magnética, anticorpos para reconhecimento de forma específica de células cancerosas, (FRÉCHET, 2011).

As nanopartículas lipídicas sólidas (NLS), também conhecidas como nanoesferas lipídicas sólidas, são encontradas em um intervalo de 50 a 1000 nm. Estas são produzidas utilizando vários tipos de lipídios ácidos saturados, com misturas de glicerídeos e/ou ceras, que são passivadas por surfactantes compatíveis aniônicos ou catiônicos (WONG, 2011).

Os lipossomas são pequenas bolsas formadas por duas camadas de membranas fosfolipídicas na porção externa. Sua natureza anfipática, fácil funcionalização, e biocompatibilidade viabiliza a utilização dessas nanopartículas como carregadores de fármacos em terapias químicas (CHAN, 2009).

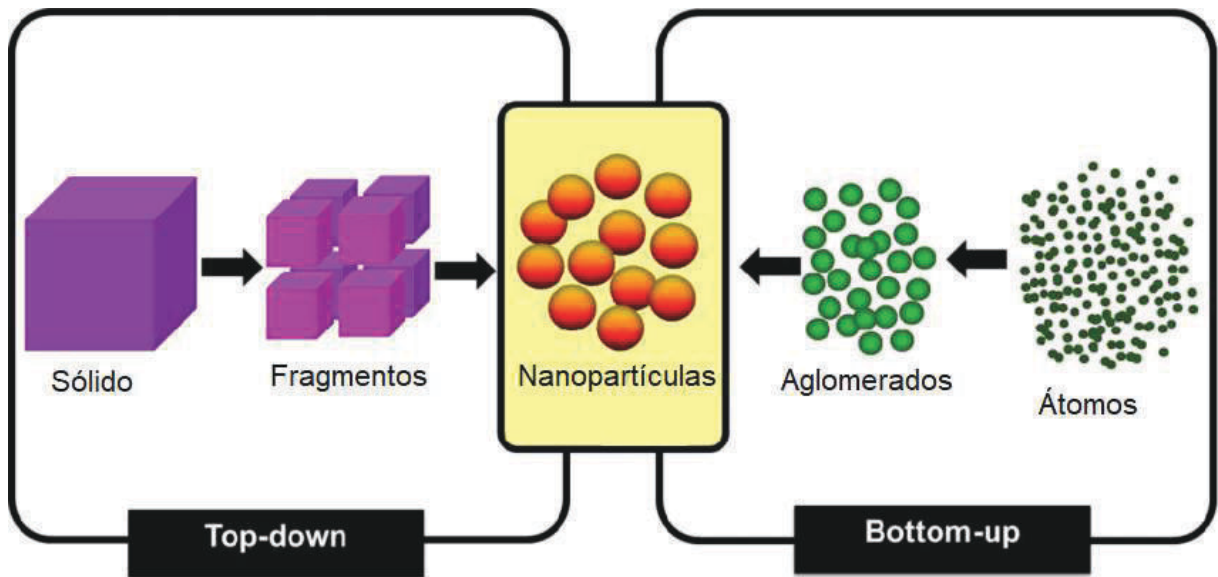
Os pontos quânticos (PQs) são nanocristais de materiais semicondutores que emitem fótons quando excitados por uma fonte de luz como um laser (AZZAZY, 2006). Os *quantum dots*, como também são conhecidos, possuem um espectro de excitação, que vai do ultravioleta ao vermelho, com boa estabilidade (YEH, 2005). Os PQ's podem ser utilizados como marcadores de vírus e células cancerosas, com certas modificações na superfície, para diminuir sua hidrofobicidade (GUO, 2005).

Nanotubos de carbono (NC) são configurações hexagonais de carbono que formam pequenos cilindros. Eles possuem um diâmetro de poucos angstroms ( $10^{-10}$ m) a 100nm e podem ter vários centímetros de comprimento (DAI, 2001). A variedade de aplicações, dos NC, altera de acordo com o propósito, assim, a necessidade de controlar as morfologias apropriadas para sua utilização, que vai desde a eletrônica a biológica (HERBST et al., 2004).

Já os dendrímeros são macromoléculas estruturais poliméricas, agrupadas em um núcleo com ramificações. Podem ser utilizados como sensores eletrônicos até utilizados como veículos de fármacos. Outra característica destas moléculas ramificadas é sua capacidade de armazenar cargas, podendo se configurar como baterias moleculares, (RONCONI, 2008).

A síntese de NP varia de acordo com propósito. As duas metodologias empregadas na produção das nanopartículas são: *top-down* e *bottom-up*. O primeiro consiste, na construção de estruturas *nano*, a partir de um material de tamanho elevado, por meio de processos físicos (moagem por exemplo). Já o segundo tipo, o material é “montado” átomo a átomo, molécula por molécula (LOOS, 2014), exemplificado na Figura 2.

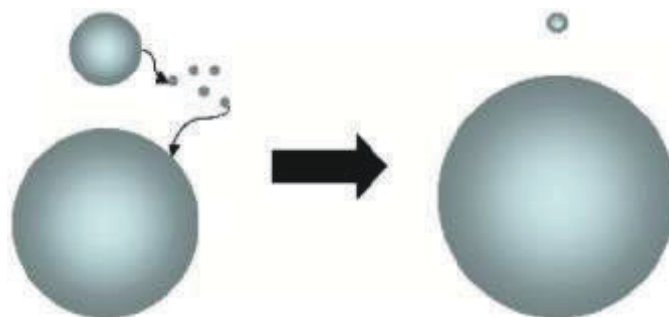
Figura – 2: Esquema ilustrativo das vias *Top down* e *Bottom up* na obtenção de nanopartículas.



Fonte: Adaptado de RAWAT (2015).

As NPs, após serem produzidas, necessitam de uma proteção para que elas não se agreguem, evitando a formação de estruturas aglomeradas, aumentando o tamanho e formando precipitados tendo uma pequena vida útil (GARCIA, 2011). A alta reatividade das NPs, leva a necessidade de estabilização das partículas. Quando não estabilizadas, elas geralmente passam por um procedimento conhecido como amadurecimento de Ostwald (*Ostwald ripening*), indo para um estado energeticamente mais favorável, formando grandes blocos (LAMER e DINEGAR, 1950), demonstrado na Figura 3.

Figura – 3: Mecanismo de amadurecimento de Ostwald.



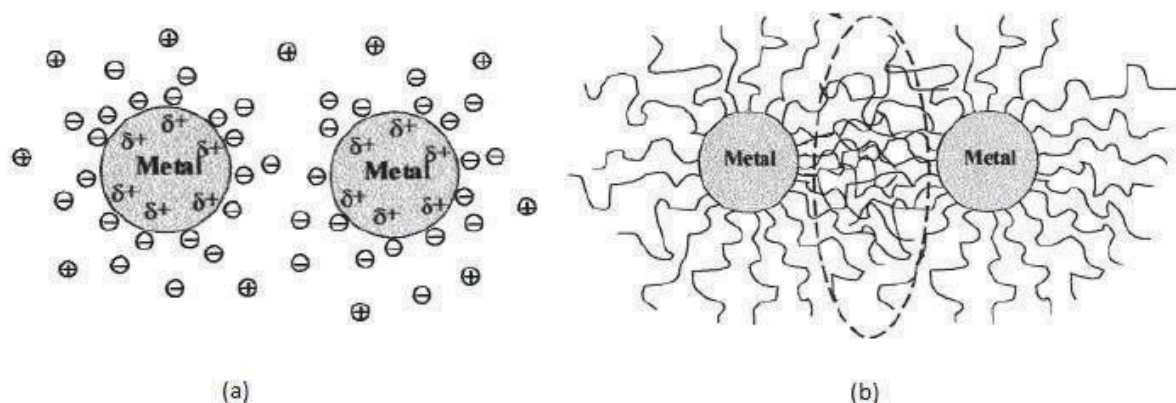
Fonte: Adaptado de FRANZOL (2015).

Na ausência de um mecanismo estabilizante, pode ocorrer a aglomeração de pequenas partículas precipitadas de uma solução, pois o crescimento tende a diminuição na energia total

do sistema. Para que ocorra a estabilização das NP é necessário fazer alterações eletrostáticas e/ou estéricas que impeçam a formação do *bulk* (CESARANO, 1988).

A criação de revestimentos superficiais nas estruturas impossibilita fisicamente a agregação, é conhecida como estabilização estérica. Já o revestimento com cargas elétricas que se repelem, é a estabilização eletrostática (HANG, 2009), como mostra a ilustração abaixo da Figura 4.

Figura – 4: Desenho esquemático dos tipos de estabilização de NPs.



Estratégias de estabilização de nanopartículas: (a) estabilização eletrostática e (b) estabilização estérica. Fonte: Adaptado de ROUCOUX et al., (2002).

O conhecimento de substâncias que ajudam na estabilização das NP é tão importante quanto o domínio das técnicas de criação das mesmas. Atualmente, muitos compostos químicos são utilizados na fabricação das NPs, atuando tanto como agentes redutores como estabilizadores, criando um problema ambiental, gerando resíduos, muitas vezes, tóxicos (GORUP, 2010). Contudo, a expansão do conhecimento em nanociência e nanotecnologias é importante para o desenvolvimento de uma sociedade científica mais próxima do cotidiano da população em geral, promovendo uma melhora na qualidade de vida. Para isso, espera-se que a produção de conhecimento seja aplicada a resoluções de problemas de saúde, por exemplo, não criando mais problemas. Neste cenário, surge grande necessidade de buscar rotas alternativas de fabricação mais eficazes, seguras e com baixo impacto ao meio ambiente, e a síntese verde é uma abordagem promissora.



## 2.2 Nanopartículas de ouro (AuNPs)

O ouro é um material símbolo de riqueza e poder que atrai a atenção do homem desde a idade antiga por sua beleza e brilho; além de seu peculiar comportamento químico como material inerte, ou seja, não reage facilmente com outras substâncias. Suas propriedades medicinais já eram conhecidas pelos chineses desde de 2.500 a.C. Já foi descrito que o ouro era utilizado no tratamento de doenças como sífilis e epilepsia. Ouro coloidal é utilizado até hoje na Índia como uma substância rejuvenescedora e revigorante (BHATTACHARYA e MUKHERJEE, 2008). Soluções coloidais de ouro são sistemas interessantes, devido à facilidade no modo de preparação e modificações químicas. Na idade média o ouro coloidal também era consumido, de forma empírica, no tratamento de diversas doenças, como problemas cardíacos, diarreia e epilepsia (LEHN, 1988). Os relatos iniciais que versam sobre tal sistema, datam de épocas do Império Romano, onde nanoparticulados metálicos eram utilizados para produzir efeitos de cores em vidros e cerâmicas, como, aqueles gerados pela combinação de nanopartículas de ouro e prata que conferem o efeito luminoso do famoso Cálice de Licurgo (Figura 5), fabricado na Roma antiga, datado do século IV a.C., a cor verde quando visualizado por reflexão e vermelha quando observado por transmissão da luz (MELO JR, 2012).

Figura – 5: Cálice de Licurgo: a esquerda, coloração esverdeada devido a reflexão da luz e, à direita, coloração avermelhada pela transmissão da luz

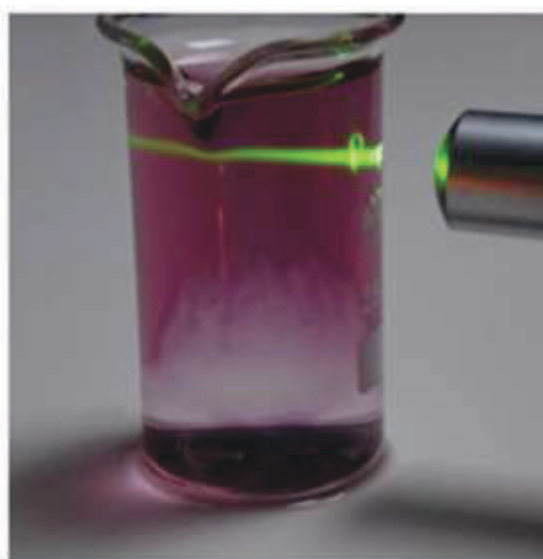


Fonte: FREESTONE (2007).

Esse efeito de cores é resultado direto da interação da luz com as partículas em escala nanométrica. Um modo simples de se caracterizar uma solução coloidal verdadeira é justamente o modo como ela interage com a luz. As soluções comuns mostram um

comportamento transparente em contraste com as soluções coloidais que possuem partículas nanométricas do seu tamanho que interagem fortemente com a luz, gerando um efeito conhecido como Tyndall (*Tyndall effect*) (GENTRY, 1997). Se passarmos um feixe de luz através da suspensão coloidal, a luz se dispersará pelas partículas, fazendo com que o caminho do feixe fique visível. A Figura 6 mostra a interação da luz com a solução coloidal. Nas soluções coloidais a relação área/volume é elevada fazendo com que as propriedades de superfície sejam determinantes no comportamento destes sistemas.

Figura – 6: Espalhamento do feixe de laser através do efeito Tyndall, evidencia a presença de partículas em suspensão.



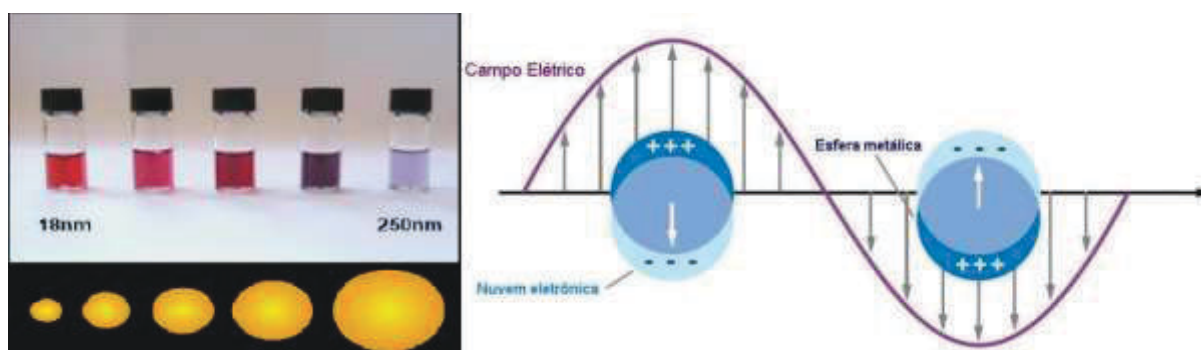
Fonte: HEINZERLING e OETKEN (2018)

Pode se dizer que a nanociência teve início com os trabalhos do cientista inglês Michael Faraday (MOGERMAN, 1974), quando em 1857, trabalhando com ouro coloidal, desenvolveu uma técnica que sintetizava nanopartículas baseado na redução de íons dos sais de tetracloroauto (III) em solução básica, que posteriormente a técnica fora melhorada e aprimorada por outros cientistas, como Turkevich (TURKEVICH et al., 1951) e Brust (BRUST et al., 1994).

As nanopartículas de ouro exibem uma coloração avermelhada, em contraste com o ouro metálico em estado macrométrico que exibe a coloração dourada. Isso é devido a redução do tamanho da partícula e o aumento da área superficial que cria um fenômeno conhecido como ressonância plasmônica de superfície (RPS), que é basicamente uma oscilação coletiva de elétrons das nanopartículas metálicas (HICKS et al., 2002). Quando ocorre a formação do plasmon, há separação das cargas elétricas na nanopartícula, justamente por conta da oscilação

(PEREIRA, 2009). A Figura 7 demonstra o que a oscilação coletiva dos elétrons promove o comportamento do plasmon de superfície.

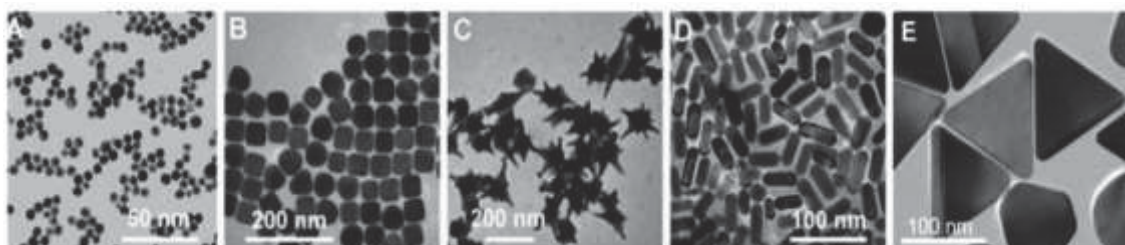
Figura – 7: Escala de cores das nanopartículas em função do tamanho e do plasmon de superfície. À esquerda, soluções de ouro contendo nanopartículas com *range* de 18 a 250nm e à direita, a oscilação dos elétrons na superfície das NP.



Fonte: Adaptado pelo autor de: DI GIUSEPPE (2013) e LIZ-MARZÁN (2004).

Quando o feixe de luz incide sobre a solução na mesma frequência dos plasmon de superfície, ocorre a produção de grandes oscilações eletrônicas na partícula, responsáveis pelo espalhamento ou absorção do feixe de luz irradiado (HICKS et al., 2002). A coloração das AuNPs, como mostrada à esquerda, da Figura 7, é devido a banda de absorção na faixa de ~500 a 560nm. A intensidade da coloração varia de acordo com o tamanho das AuNPs (BASTÚS, 2011). Apesar da forma esférica seja a mais termodinamicamente estável, existem outros tipos de coloides de ouro que não exibem a forma esférica. Estas são conhecidas como partículas anisotrópicas. Algumas nanoestruturas anisotrópicas já são bem relatadas na literatura, destacando-se os nanocubos, forma de estrela, *nanorods* e os nanotriângulos.

Figura – 8: Imagens MET representativas de nanoestruturas de ouro: esferas (A); cubos (B); estrelas (C), *rods* (D) e triângulos (E).



Fonte: Adaptado de SOARES (2016)

Devido às suas peculiares propriedades físico-químicas, as AuNPs vêm ganhando cada vez mais espaço no meio das pesquisas acadêmicas, envolvendo múltiplas áreas do

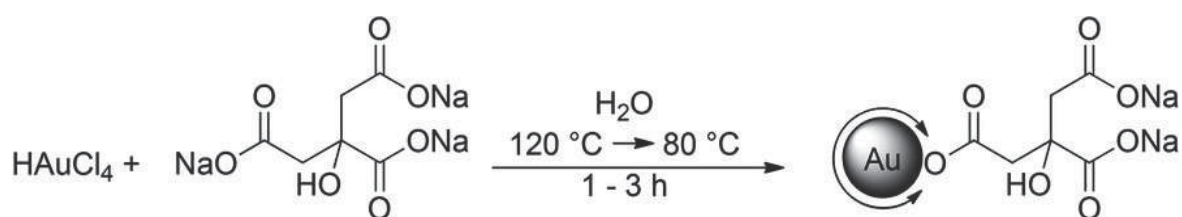
conhecimento, na exploração das características óptico-eletrônicas e magnéticas, promovendo as mais diversas possibilidades de aplicação, como desenvolvimento de biossensores e carreadores de fármacos (PAGE, 2004). Em 2004, Wang e colaboradores criaram um método de imobilização de biomateriais em AuNPs de 15 nm. No caso específico deste estudo, nanopartículas de ouro foram sintetizadas e conjugadas com biomoléculas ativas do extrato aquoso das folhas do cajueiro, criando um nanocompósito, que dentro das melhores perspectivas e pesquisas posteriores, poderia ser um agente terapêutico contra o *T. cruzi*.

## 2.3 Síntese de AuNPs

### 2.3.1 Síntese química via citrato

A abordagem utilizada na síntese química de AuNPs é conhecida como *bottom-up*, na qual um sal metálico pretendido ( $\text{HAuCl}_4$  – ácido tetracloroáurico, por exemplo), é reduzido na presença de agente redutor forte, para gerar átomos de ouro, que são a base de construção da partícula. A síntese de AuNPs foi inicialmente sistematizada pelo método da redução por citrato, descrito por Turkevich et al. em 1951 (Figura 9), onde uma solução do sal ácido tetracloroáurico (III) em solução aquosa e de citrato de sódio (agente redutor e estabilizante) é levada à fervura, sob agitação, onde o sal de ouro ( $\text{Au}^{+3}$ ) é reduzido a ouro metálico ( $\text{Au}^0$ ). Ressaltando que a reação depende de fatores como concentração, pH e temperatura.

Figura – 9: Reação de redução do  $\text{HAuCl}_4$  por citrato.

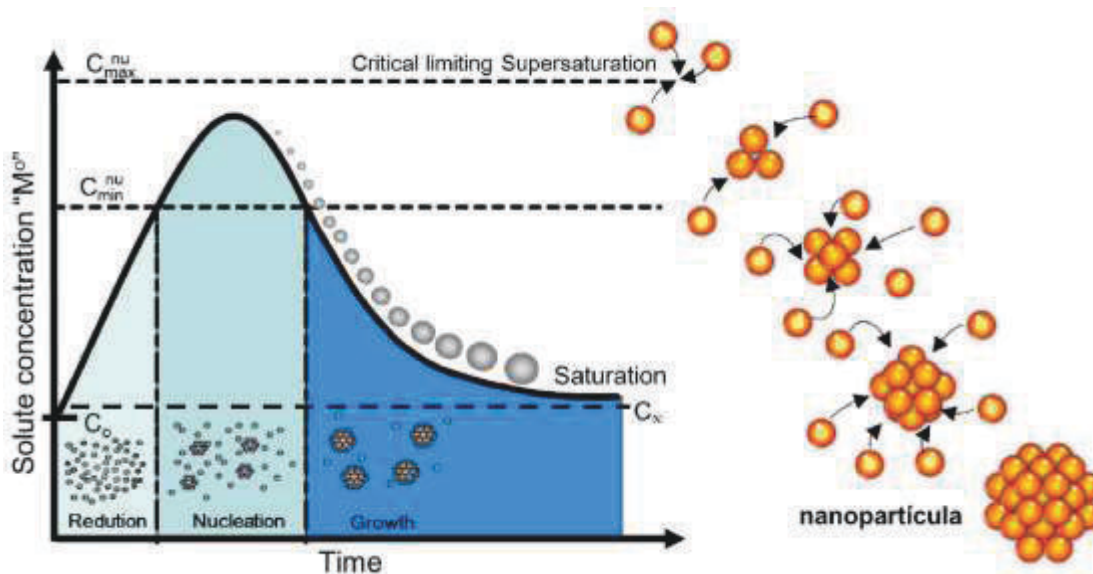


Fonte: Adaptado de GASIOREK et al. (2015)

Segundo o modelo de LaMer e Dinegar proposto na década de 1950, ocorrem três etapas durante a formação das nanopartículas: uma pré-nucleação, a nucleação e o crescimento. O processo de nucleação ainda não é muito bem esclarecido, mas é o modelo mais aceito. Ele sugere que a concentração de átomos para a nucleação aumenta conforme o sal metálico é reduzido, por conseguinte, a nucleação mínima dos átomos é alcançada levando a agregação de pequenos núcleos, aglomerados, que crescem de forma rápida (XIA et al., 2009). A Figura 10 demonstra com mais clareza os termos citados anteriormente. As propriedades das

nanopartículas estão relacionadas com as etapas de nucleação e crescimento. O equilíbrio termodinâmico é obtido pela união dos átomos reduzidos presentes no meio reacional, formando os *clusters*. O soluto migra para a superfície do *cluster*, dando início a etapa de crescimento (EASTOE; HOLLAMBY; HUDSON, 2006).

Figura – 10: Ilustração gráfica onde se observa as etapas do processo de formação das nanopartículas.



Fonte: Adaptado de GORUP (2014)

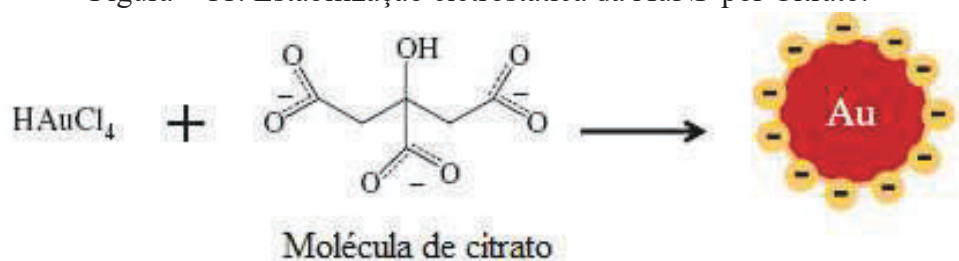
Partindo-se de uma solução insaturada em elementos precursores do sal metálico, a concentração do soluto é menor que a concentração de supersaturação crítica, onde não ocorre a formação de precipitado. Aplicando-se uma ativação de agentes precipitantes, como por exemplo, hidrólise ou oxidação-redução, aumenta a concentração das espécies precursoras que supera os valores da solubilidade de equilíbrio. Ao atingir a concentração de saturação mínima ( $C_{min}$  – Figura 8), tem-se o início da nucleação. As nanopartículas são obtidas pela agregação de partículas menores sem que ocorra o crescimento por difusão (GORUP, 2014).

As diversas interações entre a fase dispersa (partículas) e a dispersante (solvente) é importante para estabilidade do coloide. No caso específico das AuNPs, a interação entre as fases é indireta. Adiciona-se substâncias, estabilizantes, que evitem essa interação direta. As principais interações de superfície são as forças de van der Waals, a repulsão eletrostática e repulsão estérica.

A fabricação química de AuNPs pelo método do Citrato, é a técnica mais viável, do ponto de vista econômico, versátil, reprodutível e que pode ser adaptado para produção em larga escala (ZANCHET, 2000). Este procedimento, cria nanopartículas com tamanho de

aproximadamente 20 nm com certa homogeneidade. Pode-se controlar o crescimento das AuNPs, regulando a temperatura, tempo, concentração do agente redutor, pH, criando NPs de 20 a 100nm de diâmetro. As nanopartículas de ouro produzidas por esta via, são as mais estudadas, que são amplamente utilizadas nas mais diversas áreas do conhecimento (AHMAD et al., 2013; PAL et al., 2013; PRADO et al., 2014). Outra vantagem nesta técnica é que o agente redutor, a molécula de Citrato, além de ser atóxica, ela ainda atua como agente estabilizante das NPs, criando AuNPs estáveis. O citrato aderido à superfície da partícula forma uma camada elétrica, mostrado na Figura 11, que interage com o dispersante e impede a agregação das partículas e sua precipitação (GORUP, 2014).

Figura – 11: Estabilização eletrostática da AuNP por Citrato.



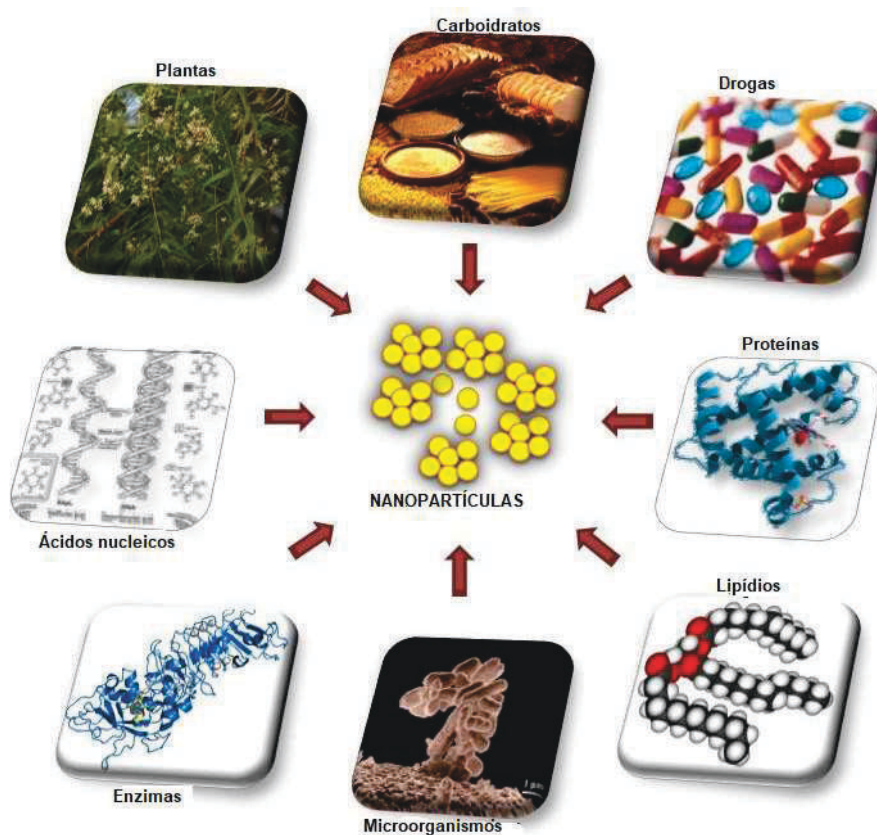
Fonte: Adaptado de BAHADUR et al. (2014).

As nanopartículas podem ser produzidas utilizando vários métodos, tais como químicos, eletroquímicos, fotoquímicos, radiação gama, ablação a laser, redução química, redução em foto micelas reversas dentre outros. Porém, essas técnicas são caras, utilizam substâncias tóxicas, muitas vezes não compensando executar tais processos (CAUERHFF e CASTRO, 2013). No presente século, é interessante e inteligente produzir nanomateriais sem agredir o ambiente. Dubey e colaboradores (2009) destacam que no mesmo ritmo em que se desenvolve novos compostos e novos métodos físicos, a preocupação com o ambiente também aumenta, pois, a nanotecnologia, com a síntese de nanopartículas, produz-se grande quantidade de subprodutos que podem ser prejudiciais ao ambiente. Por estes e outros motivos, pesquisas na área de biossíntese de nanomateriais, é a preocupação e o foco desse trabalho, em desenvolver uma nova rota tecnológica de síntese de AuNPs sem afetar o ambiente, utilizando recursos naturais próprios da região.

### 2.3.2. Síntese verde

A síntese verde é um processo de produção de bionanomateriais, onde se utiliza organismos, ou partes deles (como, biomoléculas, células, tecidos ou órgãos), como substituintes de reagentes físico-químicos, apresentando-se como uma opção economicamente viável e ambientalmente sustentável (IRAVANI, 2011), exemplificado na Figura 12.

Figura – 12: Ilustração mostrando diferentes fontes biológicas que variam de biomoléculas, drogas, plantas e microrganismos que são utilizados na biossíntese de nanopartículas.



Fonte: Adaptado de SHAH et al., (2014).

Preocupações com a natureza, assim como o desenvolvimento sustentável e os impactos ambientais causados pela exploração e produção de tecnologias essenciais para a sociedade, têm estimulado um crescente número de pesquisas objetivando o aperfeiçoamento de técnicas de produção menos danosas ao ambiente. Harmonizar os princípios da síntese verde, em conjunto com a nanotecnologia, garante a redução dos possíveis danos que tais sistemas possam causar à saúde humana e ao ambiente. Essa via de síntese utiliza solventes de baixa toxicidade ou nula. Além disso, as NPs produzidas por essas rotas, exibem uma boa biocompatibilidade.

Nesse processo, proteínas e outras biomoléculas, atuam na redução e *capping*, promovendo a estabilidade das nanopartículas produzidas. Entretanto, questões importantes precisam ser investigadas, como quais proteínas atuam na formação e estabilização e como ocorre de fato o mecanismo de formação das nanopartículas (RAI, 2013). A biossíntese a partir de extrato vegetais é uma das abordagens mais simples de produzir nanopartículas. A literatura relata exemplos de síntese de nanopartículas a partir de extratos de folhas, como *Pelargonium graveolen* (SHANKAR, et al., 2003), *Aloe vera* (ANJUM et al., 2016), *Cinnamomum camphora* (HUANG et al., 2007), *Opuntia ficus* (GADE et al., 2010), *Camellia sinensis* (LOO, et al., 2012), *Hibiscus rosa sinensis* (PHILIP, 2010), *Allium cepa* (SAXENA, et al., 2010) etc. Uma das principais vantagens desta metodologia em relação a abordagem química é que, como já citado, os vegetais sintetizam metabólitos que reduzem os íons metálicos e aderem à superfície das NPs, conferindo-lhes propriedades distintas como boa estabilidade, grande rendimento e baixo custo (MITTAL et al., 2013). Segundo Rai (2013) a síntese de nanopartículas utilizando plantas é um tema para uma ampla verificação.

### 2.3.3 Extratos vegetais

A utilização de extrato de plantas como rota para síntese verde é o método mais fácil para sintetizar nanopartículas. A fitossíntese, biossíntese por plantas, acontece por uma ação conjunta de biomoléculas como aminoácidos, proteínas, polissacarídeos, flavonoides, ácido tânico e terpenoides (AKHTAR et al., 2013). Os extratos vegetais, segundo Murthy e colegas (2002), exibem desvantagens, como a instabilidade e também, quando estão em solução, oxidam, perdendo átomos de hidrogênio. Fatores como pH e concentração de oxigênio, interferem na estabilidade dos extratos vegetais. Um ponto importante de se observar, no que se refere à síntese verde, utilizando extratos de plantas, é que, estruturas diferentes da planta, (caule, folhas, raízes, frutos etc.) apresentam concentrações de compostos fitoquímicos diferentes, variando de acordo com fatores ambientais (como umidade, temperatura, tipo de solo, luminosidade, CO<sub>2</sub>, O<sub>2</sub> etc.) e com o estresse ao qual a planta possa estar submetida. Nesse sentido, Kumar e Yadav (2009), sugere uma combinação dos compostos químicos e as partes da planta selecionada, podem interferir na eficiência do extrato na síntese das nanopartículas.

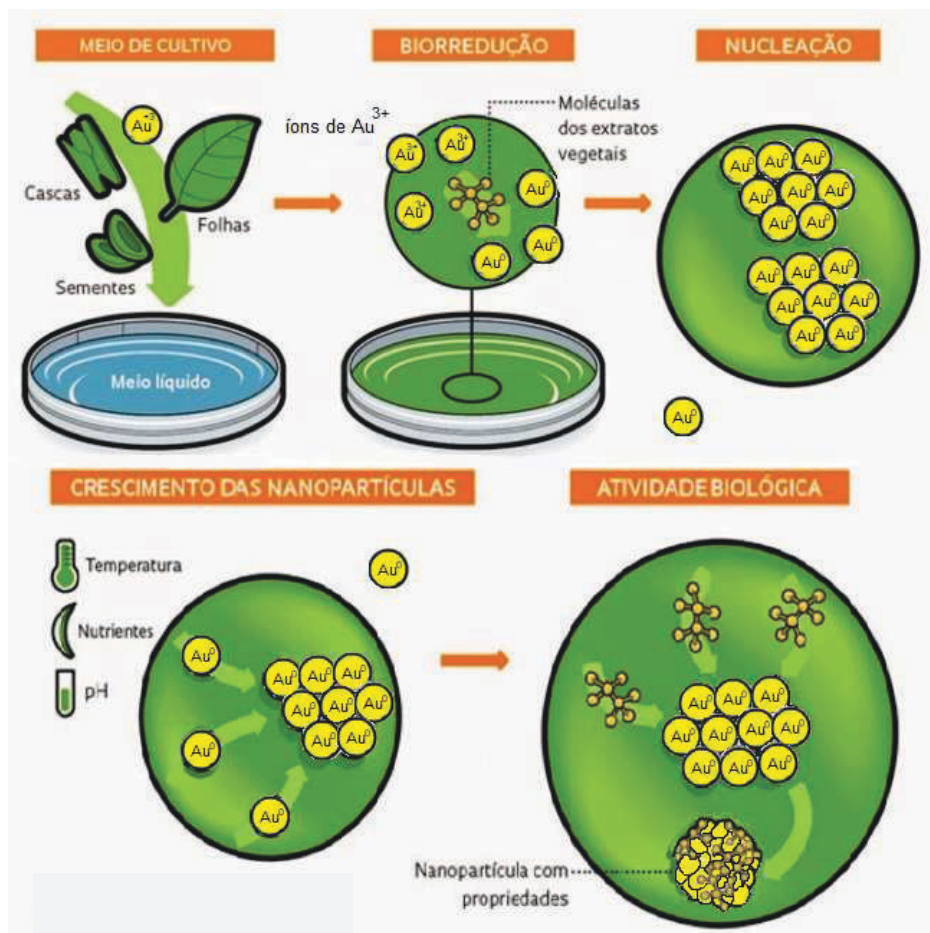
A escolha de extratos provenientes das folhas, pelo fato de ser a via mais comum e uma das mais relatadas na literatura para a síntese de nanopartículas, foi a rota que mais se adequava as condições de realização do trabalho em nosso laboratório. Existem outros trabalhos relatando



o uso de cascas (SATHISHKUMAR et al., 2009), sementes (VIJAYARAGHAVAN et al., 2012), flores (NETHRADEVI et al., 2012) e frutos (QUELEMES et al., 2013).

Dependendo da parte da planta utilizada para fazer o extrato, pode-se alterar algumas características da reação em si e das nanopartículas formadas. A comparação da composição de extratos de folhas e de sementes de jamelão (*Syzygium cumini*) na produção de nanopartículas de prata, teve como resultado nanopartículas esféricas com diâmetros diferentes, fato atribuído a quantidade de polifenóis dos extratos, sugerindo que diferenças nas propriedades das nanopartículas, dependem da parte da planta utilizada (KUMAR et al., 2010). A Figura 13 exemplifica o modelo de uso de partes das plantas na obtenção de nanopartículas.

Figura – 13: Esquema de crescimento de nanopartículas a partir de certas partes vegetais.



Fonte: Adaptado de SILVA (2014).

Outros fatores são importantes destacar pois alteram o processo da reação química, como tipo de solvente utilizado (KUMAR et al., 2010), estágio de desenvolvimento da planta (NABIKHAN et al., 2010), condições ambientais da planta, tipo de extrato utilizado (seco ou

fresco) (FAROOQUI, 2010), concentração dos reagentes, pH, temperatura (AKHTAR et al., 2013). O grau de desenvolvimento do vegetal também pode influenciar o perfil das biomoléculas. Com a planta *Sesuvium portulacastrum* L., a utilização do extrato de folhas do broto foi mais eficiente na síntese de NPs quando comparada com folha adulta (NABIKHAN et al., 2010).

O ouro é o metal de escolha para a síntese verde de nanopartículas no presente trabalho a partir de extratos de vegetais utilizando folhas de *Anacardium occidentale* L. Porém, outros metais são utilizados na fabricação de nanopartículas, como prata, platina e paládio. A Tabela 1 expõe o assunto já explorado por outros autores, sobre a síntese de nanopartículas, utilizando extratos feitos a partir de folhas de plantas. Alguns autores mencionados tiveram os seus resultados analisados e os seus resultados utilizados ao longo da pesquisa.

Tabela – 1: Biossíntese de nanopartículas a partir de extrato de folhas vegetais.

PLANTA	TAMANHO DAS NPs (nm)	FORMA	AGENTES REDUTORES	REREFERÊNCIA
<i>Anacardium occidentale</i>	3 a 15	esférica	poliálcoois	(SHENY et al., 2011)
<i>Azadirachta Indica</i>	5 a 35	esférica	açúcares e terpenoides	(SHANKAR et al., 2004)
<i>Aloe vera</i>	19 a 40	esférica	---	(CHANDRAN et al., 2006)
<i>Chenopodium Album</i>	12	esférica	ácido oxálico	(DWIVEDI e GOPAL, 2011)
<i>Eucalyptus Hybrida</i>	5 a 150	cúbica	flavonoides e terpenoides	(DUBEY et al., 2009)
<i>Prosopis Juliflora</i>	35 a 60	triangular, pentagonal e hexagonal	flavonoides e terpenoides	(RAJA et al., 2012)
<i>Solanum Torvum</i>	14	esférica	carboxilatos	(GOVINDARAJU et al., 2010)
<i>Ocimum canum</i>	95	elíptico e esférico	polifenóis	(JAYASEELAN e RAHUMAN, 2012)
<i>Syzygium Cumini</i>	29	esférico	polifenóis	(KUMAR, et al., 2010)
<i>Sesuvium portulacastrum</i>	5 a 20	esférico	proteínas e terpenoides	(NABIKHAN et al., 2010)

Fonte: Adaptado de Albernaz (2014).

## 2.4 Planta de interesse: *Anacardium occidentale* L.

A escolha do *Anacardium occidentale* L. como vegetal para a síntese verde de nanopartículas não foi aleatória. A literatura relata suas atividades antimicrobianas (SILVA, 2007; LIMA et al., 2000; SOUZA et al., 2006 e TRABULSI FILHO, 2013), anti-inflamatória (DAVIS et al., 2007; VANDERLINDE et al., 2009; RUNNIE et al, 2004) e antioxidante (BROINIZI, 2007, 2008; NOVOA, 2007; CHAVES, 2010). Levou-se em conta a disponibilidade estudos já relatados sobre a aplicabilidade de insumos de partes do cajueiro, utilizados na síntese de NPs (SHENY et al., 2011, 2012 e 2013). Principalmente, a escolha do cajueiro como objeto de estudo, é devido a sua ampla disponibilidade geográfica no Nordeste e, especialmente, sua importância social e econômica para o Estado do Ceará.

A cajucultura é uma das principais atividades agrícolas do nordeste brasileiro, onde os estados do Ceará, Piauí e Rio Grande do Norte, lideram a produção de castanha, importante objeto de exportação, gerando renda para a população rural. O cajueiro (Figura 14) pertence à família *Anacardiaceae*, gênero *Anacardium*. É uma planta tipicamente tropical, perene, crescimento contínuo, alcançando até 20 m de altura (SANTOS, 2007).

Figura – 14: *A. occidentale*. Detalhe das folhas com início da formação da inflorescência.



Fonte: próprio autor (2018).

O *A. occidentale* L. é encontrado em vários outros países, como Índia, Brasil, Moçambique e Tanzânia (PERTINARI e TARSITANO, 2002). O caju (pedúnculo floral) é a parte mais atraente da árvore, de aparência exótica, com graduações de cores que vão do

vermelho ao amarelo, apresenta elevado teor de vitamina C e grande valor nutricional. Contudo, ainda é insignificante o aproveitamento da matéria-prima potencialmente disponível (AGOSTINI-COSTA et al., 2004). A amêndoa da castanha do caju (ACC), a verdadeira fruta do cajueiro, é utilizada pelos consumidores em sua alimentação, juntamente com o líquido da casca da castanha (LCC), constitui o principal produto de exportação, que serve como matéria prima para produção de compostos fenólicos, utilizado na indústria automotiva, além de possuir atividades medicinais, como antissépticas, vesicantes e vermífugas (SANTOS, 2007). Em sua composição, o caju exibe uma importante fonte de nutrientes, ele possui carboidratos, taninos, sais minerais, vitaminas e ácidos orgânicos. Segundo Fujita (2008), no fruto (castanha), a casca possui ácido anacárdico, cardol, anacardol, taninos, flavonoides, ácido gálico, ácido siríngico, galocatequina. Na película que envolve a amêndoa possui epicatequina, beta-sitosterol. A semente (amêndoa) exibe proteínas, minerais, esteroides, triterpenóides, tocoferóis. Já o pseudofruto exibe certas concentrações de taninos, água, açúcares, proteínas, vitamina C, ácidos orgânicos, carotenoides e fibras. Já as cascas e folhas apresentam fenóis, flavonoides, esteroides, saponinas, gomas, catequinas, taninos, resinas e corantes. De acordo com Melo (2002) *A. occidentale* L. possui onze classes distintas de metabólitos secundários onde, majoritariamente, os principais responsáveis pelas ações farmacológicas são os taninos. Sabe-se que o cajueiro é usado por populares como anti-inflamatório e contra disenteria (MORTON, 1987). Kozubek e colaboradores (2001) relata propriedade antifúngicas, antibacterianas e antitumorais.

Alguns fatores como solo, safra, maturação e condições climáticas, podem afetar a composição química e a qualidade nutricional do cajueiro (PINHEIRO, 2008). Melo e colaboradores (2001) concordam que alterações bioquímicas dos frutos são alteradas durante a colheita.

Deve-se considerar certos fatores para a preferência da planta como possível candidata à biossíntese. A família *Anacardiaceae*, destaca-se pela quantidade de pesquisas relativas à composição química de suas espécies, atividades biológicas de seus extratos e metabólitos e pela presença dos compostos fenólicos e catecólicos, ou à mistura destas substâncias, denominados lipídios fenólicos, especialmente o gênero *Anacardium* (PORTO et al., 2008).

Foram identificadas nas folhas de *A. occidentale* L. a presença de taninos hidrolisáveis, fenóis, flavonas, flavonóis, xantonas, chalconas, auronas, flavononóis, catequinas e alcaloides, utilizando extrato etanólico, sumarizado na Tabela 2, onde o sinal de (+) indica a presença dos compostos e o sinal (-) indica sua ausência. Resultados semelhantes aos encontrados por

Bouzada e colaboradores (2009) confirmando a presença de alcaloides, triterpenos, taninos, flavanoides e antraquinonas, nas folhas do cajueiro.

Tabela – 2: Prospecção química de *Anacardium occidentale* L

<b>PROSPECÇÃO QUÍMICA</b>	<b>FOLHA</b>
Teste para taninos e fenóis	++
Teste para antocianinas, antocianidinas e flavonoides.	--+
Teste para leucoantocianidinas, catequinas e flavonas	-++
Teste para flavonóis, flavanonas, flavanonóis e xantonas	+--+
Teste para alcalóides.	+

Fonte: Adaptado de SANTOS (2011).

Uma possibilidade interessante é observar a eficácia do mecanismo de síntese e a potencialidade do extrato agir como biorredutor do sal metálico e atuar no recobrimento da partícula. Adicionalmente, o valor medicinal agregado, e uma ampla distribuição geográfica também tornam o seu uso mais atrativo (ALBERNAZ, 2014). Foram realizados estudos quanto às propriedades biológicas de *A. occidentale* com extratos obtidos com o fruto (KUBO et al., 2003; KANNAN et al., 2009), pseudofruto (MUROI; KUBO, 1993), folhas (DAHAKKE et al., 2009), casca (ARAÚJO et al., 2009) e com a goma (TORQUATO et al., 2004). Ainda não se tem relatos de atividades com as flores do cajueiro. Várias propriedades medicinais já foram relatadas com extratos e compostos isolados das partes aéreas do cajueiro. Outras atividades biológicas do cajueiro e as respectivas referências estão listadas na Tabela 3.

Tabela – 3: Principais atividades biológicas do *A. occidentale*.

<b>ATIVIDADE</b>	<b>REFERÊNCIAS</b>
Antiacne	(KUBO et al., 1994)
Antidiabética	(SILVA; GUERRA, 2009)
Antigenotóxica	(BARCELOS et al., 2007)
Anti-helmíntica	(AISWARYA et al., 2011)
Anti-inflamatória	(VANDERLINDE et al., 2009)
Antileishmania	(BRAGA et al., 2007)
Antimicrobiana	(DAHAKKE et al., 2009)

Tabela – 3 (Continuação): Principais atividades biológicas do *A. occidentale*.

<b>ATIVIDADE</b>	<b>REFERÊNCIAS</b>
Antimutagênica	(MELO-CAVALCANTE et al., 2008).
Antiofídica	(USHANANDINI et al., 2009)
Antioxidante	(OLIVEIRA et al., 2011; SANTOS, 2011)
Antitumoral	(FLORÊNCIO et al., 2007)
Antiulcerogênica	(KONAN; BACCHI, 2007)
Antiviral	(GONÇALVES et al., 2005)
Gastroprotetora	(MORAIS et al., 2010)
Inseticida	(OLIVEIRA et al., 2011)
Moluscicida	(LAURENS et al., 1987; SOUZA et al., 1992)

Adaptado de SILVA (2012).

A utilização da espécie vegetal citada acima, frente aos relatos da sua importância para a região e do potencial biotecnológico dos metabólitos presentes no cajueiro, que possam ser conjugados com nanopartículas de ouro para futuras aplicações biomédicas. Sua distribuição geográfica e facilidade de acesso, além de ser uma planta típica do Nordeste brasileiro, justifica a exploração científica e racional dessa matéria prima regional.

## 2.5 Caracterização das AuNPs

Após a síntese, as NPs precisam ser caracterizadas. A caracterização é uma importante etapa do trabalho para perceber e controlar a síntese e a aplicação. As principais técnicas utilizadas na caracterização das NPs estão sumarizadas na Tabela 4. As propriedades óticas de uma NP metálica dependem sobretudo da ressonância da superfície plasmônica.

Tabela – 4: Principais técnicas utilizadas na caracterização de NPs.

<b>TÉCNICA</b>	<b>APLICAÇÃO</b>	<b>Referência</b>
<b>Curvas de magnetização</b>	Estudo das propriedades magnéticas	FIGUEROLA et al., 2010.
<b>DLS</b>	Diâmetro hidrodinâmico	MAHL et al., 2011.
<b>EDX</b>	Composição química	KUMAR e SINGHAL, 2009.
<b>FTIR</b>	Identificação de grupos funcionais	RAVEENDRAN et al., 2006.

Tabela – 4 (Continuação): Principais técnicas utilizadas na caracterização de NPs

<b>TÉCNICA</b>	<b>APLICAÇÃO</b>	<b>Referência</b>
<b>MEV</b>	Análise morfológica (forma e tamanho)	MAHL et al., 2011.
<b>MET</b>	Análise morfológica (forma e tamanho)	MAHL et al., 2011
<b>AFM</b>	Análise morfológica (forma e tamanho)	SANTOS, 2007
<b>UV-Vis</b>	Identificação da amostra	KUMAR e SINGHAL, 2009
<b>DRX</b>	Identificação da estrutura através dos padrões de difração.	RAVEENDRAN et al., 2006

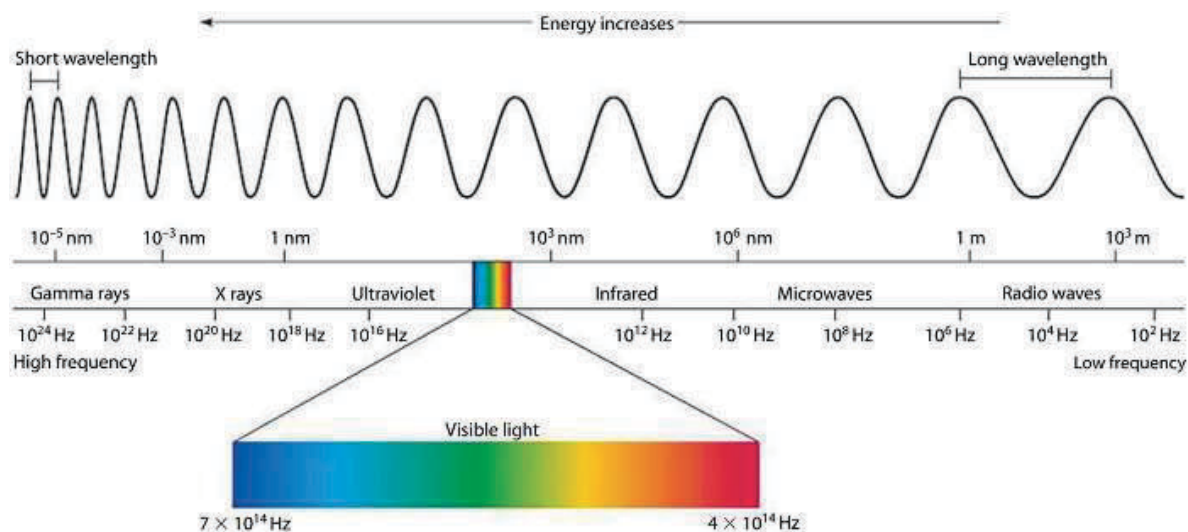
Fonte: Adaptado de MIGUEL (2013).

Para este estudo, foram utilizados como abordagem de caracterização a técnica de UV-Vis (Espectrofotômetro JASCO V-630), Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier (Bruker Alpha) e Microscopia de Força Atômica (Shimadzu SPM-9700). Todos equipamentos estão disponíveis no Laboratório de Engenharia de Materiais e Simulação de Sobral (LEMSS) da Universidade Federal do Ceará, *Campus* Mucambinho, Sobral - CE. A seguir, uma revisão bibliográfica do mecanismo de funcionamento das técnicas utilizadas na pesquisa.

### **2.5.1 Espectroscopia UV-Vis**

A radiação ultravioleta e a luz visível, são ondas eletromagnéticas que possuem o comprimento de onda ( $\lambda$ ) de ~180 a ~780nm. A espectrofotometria UV/vis é uma técnica que permite investigar as propriedades eletrônicas das nanopartículas. É amplamente utilizada para caracterização de nanopartículas (SADEGHI et al., 2015). Consiste em um método simples e utilizado na determinação da formação de AuNPs em uma dispersão, graças ao fenômeno da ressonância plasmônica de superfície (CHAUDHURI e PARIA, 2012). A absorção dependente do diâmetro médio das NPs, possuindo intensidade maior quando as NPs possuem o raio em torno de 20 nm (GEORGIEV et al., 2013). O espectro eletromagnético compreende uma faixa ampla de comprimentos de onda ( $\lambda$ ) que vai desde os raios- $\gamma$  (comprimento de ondas pequenos) às ondas de rádio (comprimentos de ondas grandes), conforme detalhado na Figura 15.

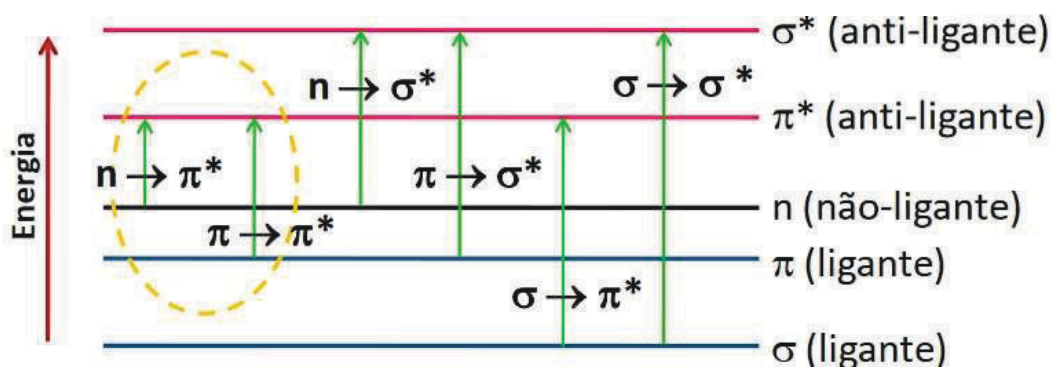
Figura – 15: Esquema ilustrado do espectro eletromagnético: comprimentos de ondas pequenos (maior frequência) a grandes comprimentos de ondas (menor frequência).



Fonte: LINDON et al., (2016).

A radiação usada, com energia na faixa entre 36 e 72 kcal/mol (visível) e 143 kcal/mol (ultravioleta-próximo), é capaz de energizar elétrons moleculares de uma orbital molecular ocupada de maior energia (HOMO) para um orbital molecular desocupado de menor energia (LUMO), transições  $n \rightarrow \pi^*$  e  $\pi \rightarrow \pi^*$ , como demonstrado na Figura 16.

Figura – 16: Possíveis transições moleculares em uma molécula.



Fonte: Adaptado de FERREIRA (2011).

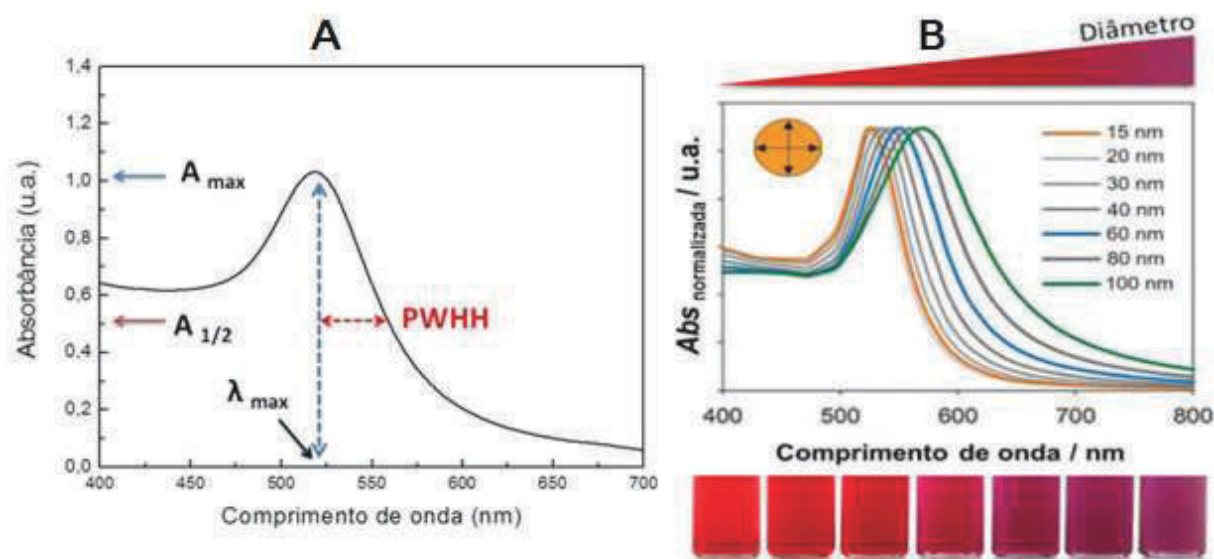
Quando soluções são expostas à radiação nessa faixa de frequência, um espectro é obtido com valores de comprimento de onda, onde a intensidade de radiação (transmitida ou absorvida) é registrada. Os resultados são apresentados na forma de absorvância ( $A = \log I_0/I$ , onde  $I_0$ =luz incidente e  $I$ =luz transmitida) ou transmitância ( $T = I/I_0$ ) e o comprimento de onda ( $\lambda$ ) onde a absorção é máxima ( $\lambda_{\max}$ ) corresponde ao valor característico da amostra. A lei de Lambert-Beer ( $A = \epsilon l c$ ) afirma que a absorção ( $A$ ) é diretamente proporcional à concentração da amostra



(c), e a distância percorrida ( $l$ ); e o coeficiente de extinção molar ( $\epsilon$ ), de uma substância permitindo comparar diferentes compostos. Os solventes utilizados não devem absorver luz para não interferir nos resultados (FERREIRA, 2011).

A absorção do feixe eletromagnético (por exemplo 50 nm para o Au) gera um campo elétrico que induz um dipolo elétrico na AuNP criando um plasmon de superfície (PITARKE et al., 2005) como já descrito anteriormente e ilustrado na Figura 4. Para partículas esféricas de pequenas dimensões, a interação (intensidade e largura da banda) é descrita pela teoria de Mie (JAIN et al., 2007). O resultado do espectro pode ser afetado por vários fatores, como o a forma e o tamanho das partículas, características do solvente e pelos tipos de estabilizantes (MYROSHNYCHENKO et al., 2008). Através dos espectros (Figura 17) obtém-se parâmetros importantes como a largura do pico a meia altura (FWHM, *full width at half max* ou PWHM, *peak width at half max*), o valor da absorbância máxima ( $A_{max}$ ) e o comprimento de onda no máximo de absorção ( $\lambda_{max}$ ). Com estes dados, pode-se obter informações das soluções coloidais em questão, como tamanho, e formato das AuNPs, dispersão e estado de agregação das NPs (BROWN; NATAN, 1998).

Figura – 17: Espectro UV-Vis típico de solução de AuNPs e sua dependência da RPS em função do tamanho de NP esféricas. **A**: Destaque para  $\lambda_{max}$ ,  $A_{max}$  e o FWHM; **B**: Aumento do diâmetro nas NP o pico se desloca para a direita.



Fonte: Adaptado de FONTES (2012) e SOARES (2016).

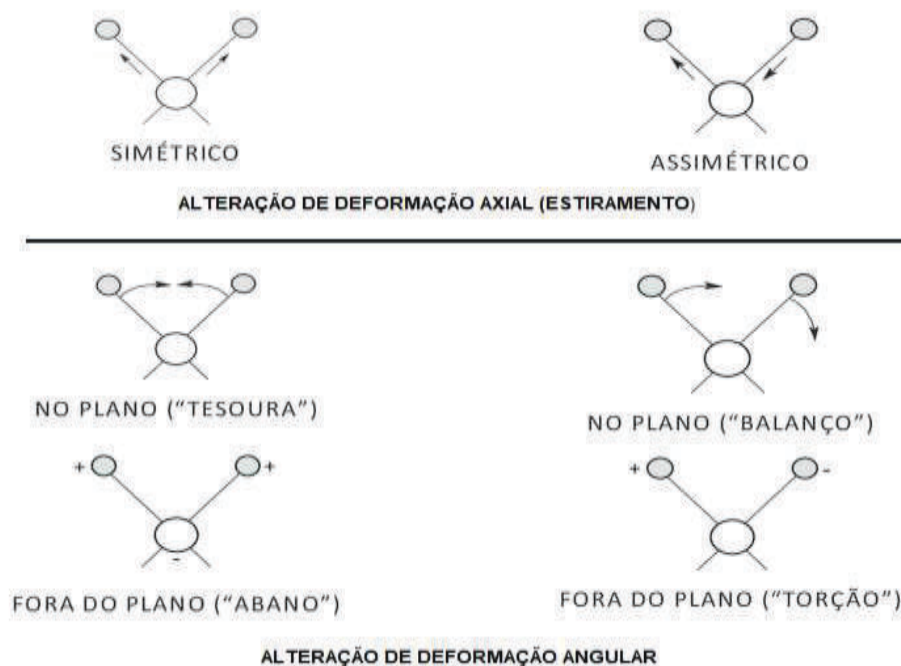
### 2.5.2 Espectroscopia no infravermelho (IR)

A radiação infravermelha compreende à parte do espectro eletromagnético localizada entre a região do visível e a das micro-ondas. As vibrações moleculares, denominadas espectros, são medidas por instrumentos conhecidos como espectrofotômetro de infravermelho. Atualmente, os equipamentos baseiam-se na interferometria, conhecida de espectrometria de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR), para produzir os espectros. A espectroscopia FTIR é um método para se obter espectros gráficos de absorção, emissão, fotocondutividade ou de difração de Raman de infravermelhos de um sólido, líquido ou gás. Uma análise por FTIR apresenta vantagens em relação as demais técnicas, pois recolhe dados de um amplo espectro medindo a intensidade num intervalo bastante curto de comprimentos de onda em cada medição. O termo transformado de Fourier é pelo fato de recorrer-se às transformadas de Fourier (um processo matemático) para converter os dados recolhidos no espectro de radiação. A região do IR é uma faixa no espectro eletromagnético que vai logo após o visível,  $7,8 \times 10^{-7}$  m, até aproximadamente  $10^{-4}$  m, entretanto, a porção mediana ( $2,5 \times 10^{-6}$  m a  $2,5 \times 10^{-5}$  m) é a mais amplamente utilizada em análises químicas (SANTOS, 2007).

O número de onda é correspondente ao inverso do comprimento de onda em centímetros e, sua unidade é dada em  $\text{cm}^{-1}$ . A região utilizável do infravermelho é a partir de 4000 até 400  $\text{cm}^{-1}$ . As moléculas exibem uma certa quantidade de energia em sua estrutura. Quando se irradia IR, provoca o estiramento e contrações de suas ligações, ou ocorre uma movimentação dos átomos para trás e para frente, entre outras vibrações moleculares, como detalhado na Figura 16. As vibrações moleculares são classificadas em deformações axiais ou estiramentos e deformações angulares. Nos estiramentos ocorre alteração na distância entre os núcleos dos átomos, isto é, a distância é maior ou menor alternadamente. Nas deformações angulares ocorre uma alteração no ângulo da ligação com o grupo de átomos (MARIN, 2013).

Uma molécula que possua  $n$  átomos apresenta um total de  $3n$  graus de liberdade. Para moléculas não lineares, 3 destes graus de liberdade são rotacionais, 3 translacionais e os demais correspondem a vibrações fundamentais, o que significa em  $3n-6$  modos vibracionais. Em uma molécula linear, 2 graus são rotacionais e 3 são translacionais tendo  $3n-5$  modos vibração (KELLNER et al., 2004).

Figura – 18: Tipos de movimentação molecular provocadas por IR (os sinais + e – são movimentos para cima e para baixo do plano).

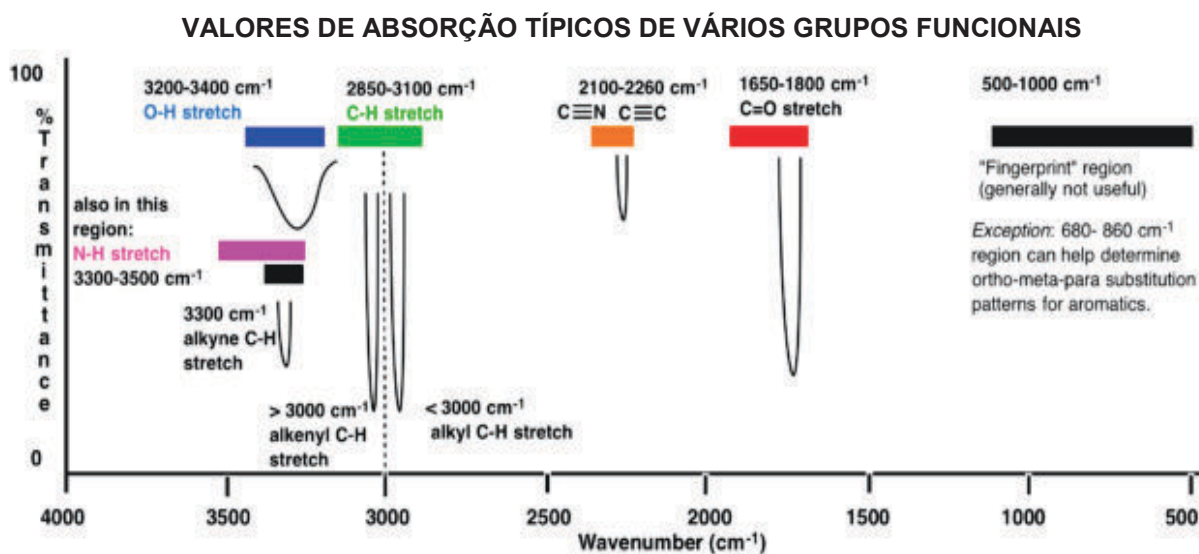


Fonte: Adaptado de SKOOG et al. (2000).

A quantidade de energia de uma molécula pode ser quantificada, ou seja, a molécula pode se esticar ou se deformar apenas numa dada frequência específica, em um nível de energia específico. A frequência da vibração corresponde a energia absorvida da radiação eletromagnética, resultando em um aumento da amplitude da vibração. Cada tipo de movimento molecular específico se relaciona com a frequência de energia absorvida, pode-se determinar um perfil para molécula, medindo seu espectro na região do infravermelho. Analisando o padrão de movimento pode-se saber quais são os grupos químicos funcionais de cada molécula (SANTOS, 2007).

Os grupos funcionais possuem bandas de absorção bem características no infravermelho, formando uma assinatura molecular de vibração que não mudam de um composto para outro, como se exemplifica na Figura 19. Conhecendo as absorções dos grupos funcionais característicos é possível determinar a estrutura e composição das moléculas, a partir do espectro no infravermelho, que será utilizado na determinação da formação e detecção de alterações na superfície nas AuNPs com possíveis mudanças na ligação com biomoléculas presentes no extrato aquoso das folhas do cajueiro.

Figura – 19: Exemplos de formações características de algumas dessas vibrações no espectro de IR.

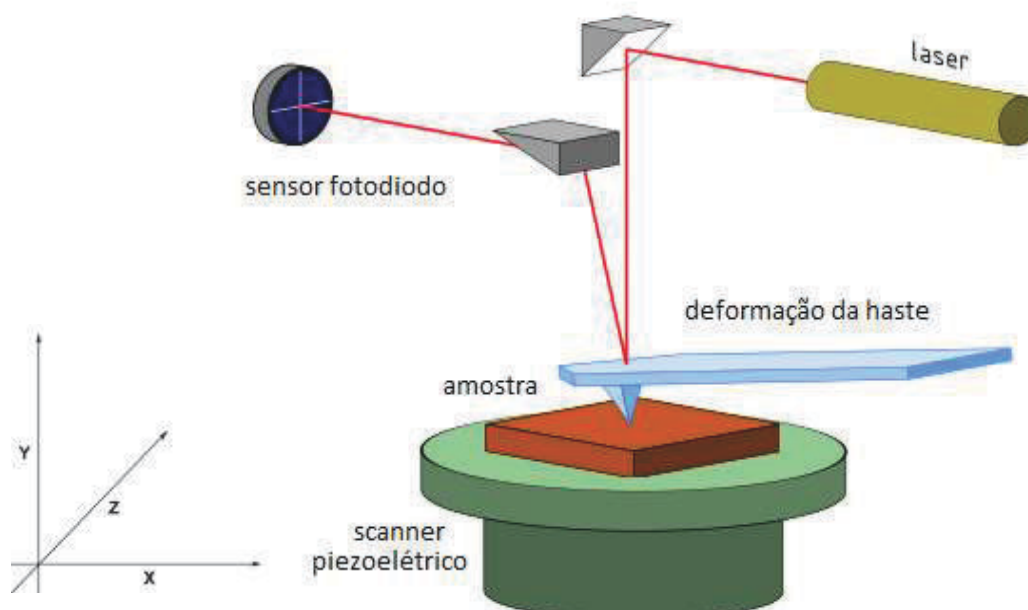


Fonte: Adaptado de ASHENHURST (2016).

### 2.5.3 Microscopia de Força Atômica

Com o Microscópio de Força Atômica (*Atomic Force Microscope* - AFM), inventado em 1986 por Binnig e colaboradores, é possível obter imagens de átomos individuais seja em superfícies condutoras ou em meio isolante. O AFM é utilizado na análise da superfície de particulados sólidos, com dimensões nanométricas. O mecanismo de funcionamento consiste em uma haste flexível (*cantilever*) e sensível à pequenas forças, com uma ponta (sonda) muito fina que se desloca de forma padronizada de rastreamento sobre a superfície da amostra. A força que age entre a alavanca e a superfície da amostra causa pequenas deflexões da haste, que são detectadas por um feixe de laser. (SANTOS, 2007). Ao passar a ponta (*tip*) por diferentes regiões da amostra, é revelada algumas características como forma, relevo, rigidez, rugosidade da superfície, como ilustra a Figura 20.

Figura – 20: Representação do mecanismo de funcionamento do AFM.



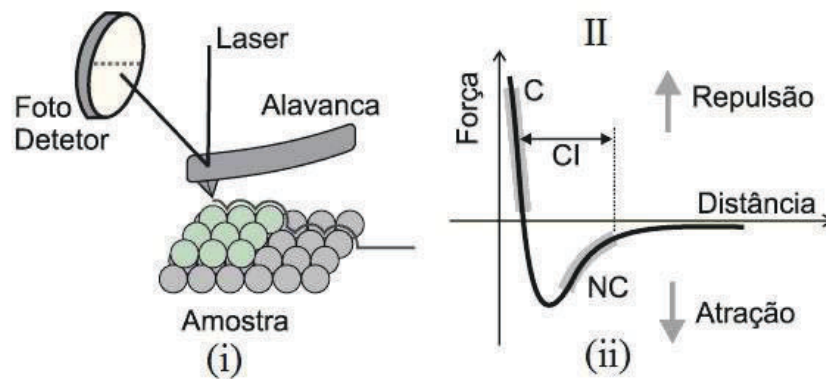
Fonte: Adaptado de BAZAN et al., (2012).

Neste trabalho, a técnica de AFM foi utilizada na análise da morfologia e rugosidade das nanopartículas de ouro dopadas com compostos fitoquímicos. A técnica consiste em varrer a superfície da amostra com uma ponta de prova, registrando as forças de atração e repulsão sofrida por esta, devido o *contato* com a superfície. A movimentação da ponta, ou da amostra, dependendo do modelo, é feita por um tubo piezelétrico. O laser é refletido do *cantilever* para um sensor, dividido em quadrantes, que detecta o movimento da sonda. A força constante aplicada à ponta é controlada pelo mecanismo de saída do fotodiodo (sensor). O controle dos movimentos é feito por um cristal piezelétrico tubular que guia a amostra nas direções x, y e z. O sinal do fotodiodo é realimentado ao transdutor piezelétrico da amostra, fazendo a amostra se movimentar para cima e para baixo, mantendo uma força constante entre a ponta e a amostra (BASELT et al., 1993).

As imagens obtidas são geradas basicamente a partir de dois modos de operação, que estão intimamente relacionadas com a distância entre a amostra e a sonda, durante a varredura: modo contato e não-contato. A sonda, ao se aproximar da superfície da amostra, surgem forças de interação sonda - amostra fazendo a haste defletir. Conforme a sonda vai se aproximando da superfície, forças atrativas atuam entre a sonda e amostra, especialmente as forças de Van der Waals. Quando a distância chega a um intervalo inter-atômico ( $d \approx 0,5 \text{ nm}$ ) grandes forças eletrostáticas repulsivas passam a atuar entre os elétrons das camadas de valência da amostra e

da sonda, tendo como resultado forças repulsivas. Neste ponto, pode-se afirmar que a sonda está em contato com a amostra (NEVES, 1998). Podemos observar com mais clareza as afirmações acima a partir da Figura 21.

Figura – 21: Esquema das forças de interação entre a ponta e a amostra.



(i) O fotodetetor capta a deflexão da alavanca durante a varredura através da mudança na reflexão do laser incidente; (ii) gráfico representativo mostrando a dependência da força de interação sonda-amostra em função da separação entre elas.

Fonte: Adaptado de NEVES (1998).

No modo de operação não-contato tem-se a garantia de não causar danos a amostra, pois não há contato físico, contudo perde-se resolução das imagens. E a principal desvantagem do modo de varredura por contato é que a força aplicada pela ponta à superfície, pode causar danos a amostra e, as imagens geradas são distorcidas e sem muita qualidade; entretanto, dependendo do tipo de amostra, pode-se obter imagens de melhor qualidade. É um problema importante para amostras biológicas, como células e/ou biomoléculas. Para reverter tal situação, faz-se com que a ponta entre em contato com a amostra em um curto intervalo de tempo, regularmente. Com esta técnica, conhecida como contato intermitente (*tapping mode*), a alavanca vibra em uma determinada frequência sob força constante e amplitude constantemente monitorada (SANTOS, 2007). O *tapping mode* possui vantagens dos dois modos citados: contato físico entre a sonda e a amostra e imagens de altas resoluções. É prudente lembrar que as forças presentes no método AFM, independem se a amostra é condutora ou não, conseqüentemente, pode-se trabalhar com amostras condutoras ou isolantes.

### 2.5.3.1 Superfície de visualização

Tão importante quanto o cuidado com as amostras, é a escolha do tipo de superfície que será depositada o material a ser observado. A utilização de substratos extremamente planos evita o aumento da rugosidade obtida por contaminação da superfície de apoio da amostra como defeitos de polimento, por exemplo (JANDT, 1998). Os substratos mais empregados nos estudos com AFM são vidro, mica e superfícies à base de silício. A mica é um mineral silicato  $[(KAl_2(OH)_2AlSi_3O_{10})]$  (MORRIS; KIRBY; GUNNING, 2011) facilmente de ser clivada, resultando em uma superfície plana, lisa, limpa e hidrofílica ao nível atômico com rugosidade da ordem de  $2\text{Å}$  (MÜLLER ; AMREIN ; ENGEL , 1997) e é comumente utilizada para obtenção de imagens topográficas de biomoléculas por AFM pelo fato de ser atômica plana e não requerer modificação química de sua superfície para investigação das amostras. O emprego da superfície de mica não significa redução de custos e tempo na preparação das amostras para análise por AFM. Lâminas de mica utilizadas em microscopia apresentam um elevado valor agregado, encarecendo sua utilização nas pesquisas. Uma alternativa foi utilizar a mica isolante, vendida no comércio local, empregada em componentes eletrônicos com um excelente custo benefício.

Em síntese, para a caracterização de nanopartículas de ouro, dopadas ou não com biomoléculas do extrato, a técnica pode fornecer a topografia, morfologia e o diâmetro médio das AuNPs depositadas sobre a superfície de mica recém clivada.

### 3. OBJETIVOS

#### 3.1 Objetivo Geral

Preparar soluções de nanopartículas de ouro utilizando fundamentos de química verde, empregando extratos vegetais de folhas de *Anacardium occidentale* L.

#### 3.2. Objetivos Específicos

- Aperfeiçoar metodologias para síntese de nanopartículas em meio aquoso usando extrato aquoso de folhas de *A. occidentale* L.;
- Determinar a estabilidade das soluções coloidais das nanopartículas obtidas, usando espectroscopia de UV-Visível, FTIR e Microscopia de Força Atômica (AFM);
- Caracterizar as nanopartículas formadas quanto ao tamanho, forma, disponibilidade de grupamentos químicos;
- Purificar as Nanopartículas pelo método da centrifugação;
- Obter imagens por AFM utilizando uma superfície de mica isolante como alternativa viável e econômica.



## 4. MATERIAIS E MÉTODOS

O trabalho foi realizado no Laboratório de Engenharia de Materiais e Simulação de Sobral – LEMSS, *Campus* Mucambinho, UFC. Os equipamentos, materiais e reagentes utilizados durante a execução desse projeto encontram-se listados a seguir. A maneira pela qual foram preparadas as soluções será descrito posteriormente.

### 4.1 Reagentes

Ácido tetracloroáurico ( $\text{HAuCl}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$  - Sigma Aldrich), Água ultrapura (MilliPore), Água destilada, água régia ( $\text{HNO}_3 + 3\text{HCl}$ ), álcool etílico (99,9%) e álcool etílico (70%).

### 4.2 Métodos

#### 4.2.1 Coleta das folhas

As partes aéreas (folhas adultas e saudáveis) de *Anacardium occidentale* L. foram coletadas no estado do Ceará, município de Sobral, zona urbana, coordenadas 3°41'28"S, 40°21'35"W, no período de verão/chuvas, no mês de maio do ano 2018.

O horário das coletas foram entre 08h:00min e 09h:00min. As amostras de coletas foram devidamente identificadas com a colaboração do botânico Prof. Dr. Hermesson Cassiano de Oliveira da Universidade Estadual do Piauí - UESPI. Os preparos das amostras foram realizados imediatamente após a colheita, isto é, a lavagem e estocagem para preparo da solução.

#### 4.2.2 Obtenção do extrato vegetal aquoso

O extrato aquoso das folhas do cajueiro foi obtido pela metodologia apresentada por Shen y colaboradores (2011). As folhas foram lavadas com água de torneira e secas com auxílio de papel toalha para remoção de poeira. Em seguida foram lavadas com água destilada em abundância por três ciclos de lavagem. Após escorrerem a temperatura ambiente, as folhas foram fragmentadas (aproximadamente 3 x 3mm) com auxílio de uma tesoura limpa com álcool 70%. Inicialmente pesou-se em balança analítica (Bell Engineering, Itália) 10 g de das folhas picotadas que adicionadas a 100 mL de água ultrapura e mantidos por agitação (modelo

Q221MAG, Quimis, Brasil) durante 05 minutos em temperatura ambiente, então realizada filtração simples em papel filtro com auxílio de um funil de vidro preso no suporte universal. O volume do filtrado (aproximadamente 90mL) foi considerado 100%. O filtrado foi usado como agente redutor e estabilizador. O extrato resultante consistiu em um líquido semitransparente claro, utilizado na rota de síntese verde de nanopartículas de ouro. Para cada experimento, preparou-se um novo extrato imediatamente antes do uso.

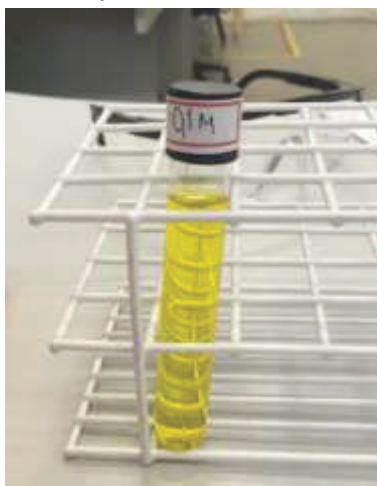
#### ***4.2.3 Procedimento experimental***

Os protocolos de pesagem de reagentes foram realizados em ambiente climatizado, tarando-se a balança antes de cada medição e utilizando luvas e espátulas. As soluções aquosas foram preparadas utilizando água ultrapura. Para evitar possíveis efeitos relacionados ao armazenamento, as soluções foram preparadas nas datas de uso nos respectivos experimentos. Todas as vidrarias, assim como as barras magnéticas, foram devidamente limpas com água régia ( $\text{HNO}_3+3\text{HCl}$ ) e enxaguadas com água destilada para remoção de qualquer resíduo orgânico.

##### ***4.2.3.1 Solução concentrada de $\text{HAuCl}_4$***

Inicialmente 0,39383g de  $\text{HAuCl}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$  foi dissolvido em 10mL de solução com  $\text{H}_2\text{O}$  ultrapura em um Erlenmeyer de 50mL, sob agitação em um agitador magnético a temperatura ambiente. Como resultado, obteve-se uma solução amarelada concentrada de  $\text{HAuCl}_4$  (0,1M). Essa solução foi utilizada para preparar as demais soluções, ajustando a concentração. Como o  $\text{HAuCl}_4$  é corrosivo, uma espátula de vidro foi usada para evitar o contato com o metal.

Figura - 22: Solução concentrada de  $\text{HAuCl}_4$  (0,1M).



Fonte: próprio autor (2018).

#### 4.2.3.2. Solução de experimentação.

Com uma micropipeta automática (LabMate) retirou-se 250  $\mu\text{L}$  da solução concentrada de  $\text{HAuCl}_4$  e foi diluída em 100 mL de água ultrapura resultando na solução de trabalho de  $\text{HAuCl}_4$  ( $2,5 \times 10^{-4}$  M) para pequenos volumes. Essa concentração foi escolhida por limitar a quantidade de precursores atômicos disponíveis no meio reacional, para se obter um processo de nucleação mais homogêneo possível.

#### 4.2.3.3 Síntese verde de nanopartículas de ouro (AuNP's)

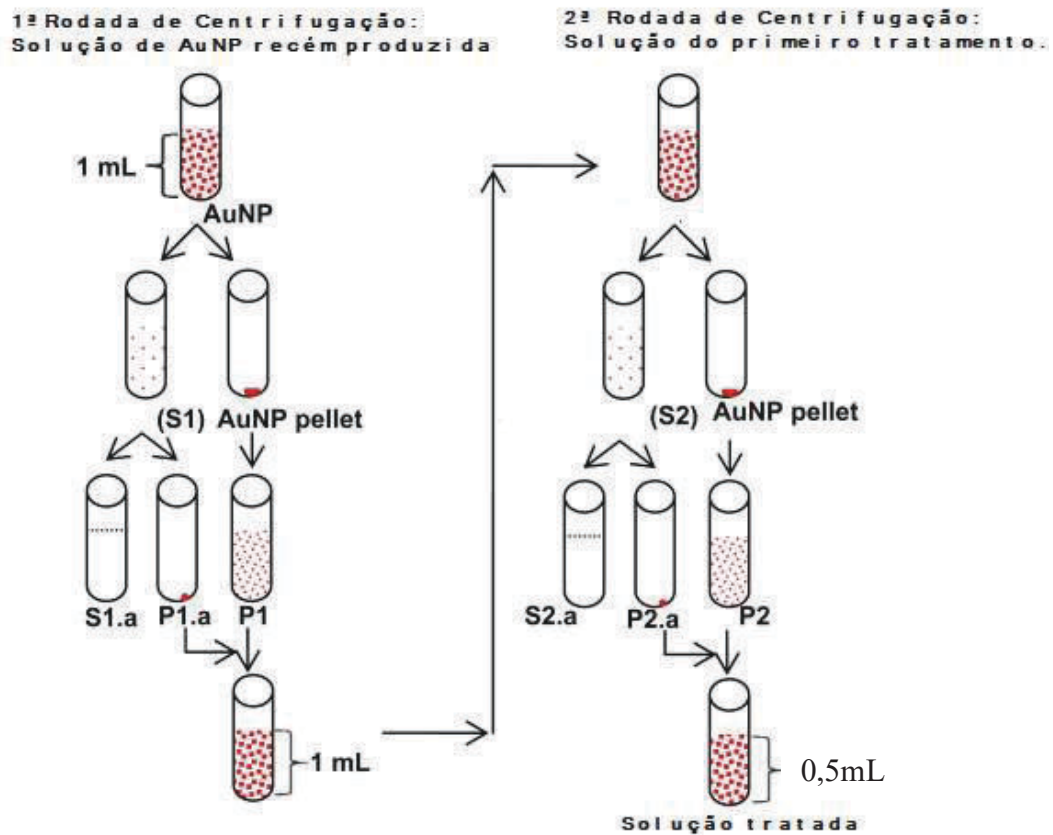
A metodologia empregada segue o protocolo descrito por Shen e colaboradores (2011) com adaptações. Inicialmente, 30 mL de  $\text{HAuCl}_4$  ( $2,5 \times 10^{-4}$  M) foram colocadas em um Erlenmeyer de 50 mL em um agitador magnético. Em seguida foi adicionada 10 mL do extrato aquoso das folhas e mantidas sob agitação constante por 5 minutos. As soluções coloidais foram filtradas com auxílio de filtros de seringas (0.22  $\mu\text{m}$  Kasvi, Alemanha) para remover substâncias em excesso na solução com tamanhos superiores a 220 nm.

#### 4.2.3.4 Purificação da solução coloidal de AuNPs

A solução coloidal resultante foi centrifugada seguindo a metodologia empregada por Balasubramanian (2010) com modificações. 1 mL da solução de AuNP foi centrifugada (modelo 5810R, Eppendorf, Alemanha) a 7000g ( $\sim 8840$  rpm) por 20 min a 4°C. Retirou-se o sobrenadante (S1) que foi novamente centrifugado na mesma programação inicial. O *pellet* foi ressuspenso (P1) em 1 mL de água ultrapura e misturado com o *pellet* resultante (P1.a) da segunda centrifugação do sobrenadante. A solução obtida passou por uma nova rodada de centrifugação obedecendo os mesmos passos da primeira etapa. A Figura 23 ilustra esta etapa. O resultado é uma solução de coloração mais clara que a inicial.

A obtenção do *pellet* para caracterização dos grupos funcionais presentes nas AuNPs por FTIR e visualização das nanopartículas por microscopia, uma nova rodada de centrifugação foi realizada, onde a última ressusensão dessa metodologia foi feita com 0,5 mL de água ultrapura para se obter uma maior concentração de NPs por volume. A quantidade de biomoléculas advindas do extrato, presentes na solução que foram retiradas da superfície das nanopartículas não foi determinada por nenhuma técnica.

Figura - 23: Esquema do processo de purificação empregado neste trabalho.

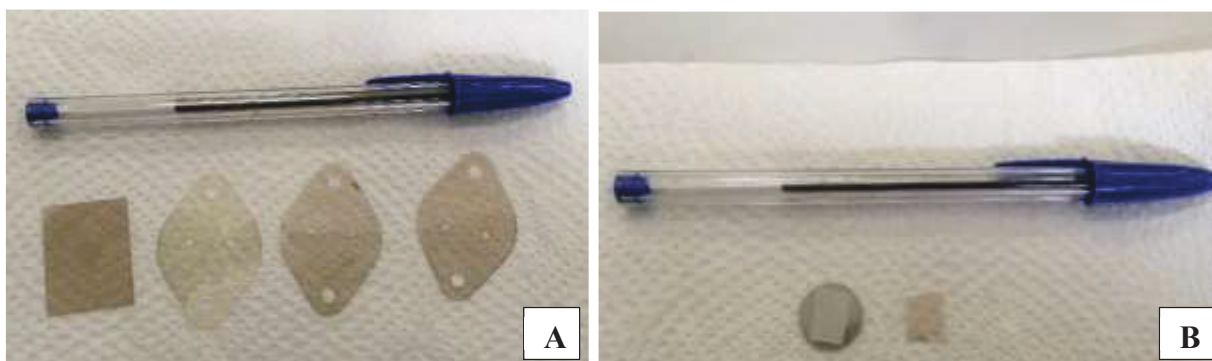


Fonte: Adaptado de Balasubramanian (2010).

#### 4.2.3.5 Preparo da superfície de mica

Mica isolante para eletrônicos foi adquirida no comércio local (Figura 24). Estudos de imagiologia por AFM requer uma superfície extremamente lisa. O material mais indicado é a mica, um mineral de silicato, com clivagem basal quase perfeita. Assim, a mica recém clivada é atômica e plana, permitindo a observação das diferenças topográficas, mesmo na escala nanométrica. Cortes de aproximadamente 1x1cm foram feitos com uma tesoura e pregadas na superfície do suporte metálico do AFM com auxílio de fita dupla face. Cuidadosamente as lâminas foram clivadas utilizando uma lâmina de estilete e exposta a face interna que foi gentilmente removida com ajuda de uma pinça. As lamínulas recém fracionadas foram coladas no suporte metálico com auxílio da fita adesiva dupla face e levemente pressionadas com uma lâmina de vidro limpa com álcool absoluto.

Figura – 24: Imagens da mica isolante usada em componentes eletrônicos.



**A:** Tipos de mica isolante que foram adquiridas no comércio local; **B:** Detalhe do corte (~1x1cm) e do suporte metálico com a fita dupla face para prender a lâmina de mica para ser clivada.  
Fonte: próprio autor (2018).

### 4.3 Caracterização

Alíquotas das soluções coloidais de AuNPs foram retiradas e analisadas por Espectroscopia UV-Vis para confirmação da formação das nanopartículas. Em seguida, foram analisadas por Espectroscopia no infravermelho, para se obter o perfil molecular dos possíveis compostos que atuaram como bio-redutores e estabilizadores do íon metálico e identificação do(s) composto(s) majoritário do extrato. Obteve-se imagens das nanopartículas por microscopia de força atômica e realizado estudos quanto a morfologia das AuNPs, tamanho, histograma, rugosidade, com os recursos tecnológicos disponíveis do AFM.

#### 4.3.1 Microscopia de Força Atômica (AFM)

O equipamento utilizado foi o modelo SPM-9700 (Shimadzu, Japão), principal recurso utilizado na técnica de microscopia para caracterização das AuNPs. Para cada medida, utilizou-se ~1 µL da suspensão, colocada na superfície interna de mica isolante recém clivada e deixadas secar por 30min. Outra etapa de varredura para obtenção das imagens das nanopartículas foi realizada diretamente sobre o *pellet* de AuNPs resultante da centrifugação após secagem, preso em uma superfície de lamínula de vidro fixada com fita dupla face. As medidas topográficas foram realizadas no modo de operação dinâmico para minimizar possíveis interações laterais entre as partículas e a ponteira. O cantilever utilizado apresentava hastes de constante elástica média igual a 0.15 N/m, com sondas de Si<sub>3</sub>N<sub>4</sub> de raio médio de curvatura inferior a 10 nm e as

varreduras feitas com 0,700Hz de frequência. Foram realizadas varreduras de 5x5, 2,5x2,5, 1x1  $\mu\text{m}$ , 500x500 e 200x200 nm, em regiões centrais das amostras. O processamento das imagens foi realizado no próprio *software* do equipamento (SPM Manager 3.0, Shimadzu) e as distribuições do diâmetro (altura) foram determinadas por meio da especificação da altura média, dado representativo para nanopartículas esféricas.

#### ***4.3.2 Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier***

As análises de Espectroscopia de Infravermelho (FTIR) foram realizadas em amostras das folhas secas do *A. occidentale* e das AuNPs (*pellet seco*) sintetizadas e purificadas com o objetivo de determinar os grupamentos químicos e identificar os possíveis metabólitos envolvidos na biorredução dos íons  $\text{Au}^+$  e pelo *capping* das AuNPs. As amostras foram colocadas diretamente no equipamento Bruker FT-IR Alpha para as análises. Os gráficos foram plotados utilizando o programa Origin8Pro<sup>®</sup>.

#### ***4.3.3 Espectroscopia de UV-Vis***

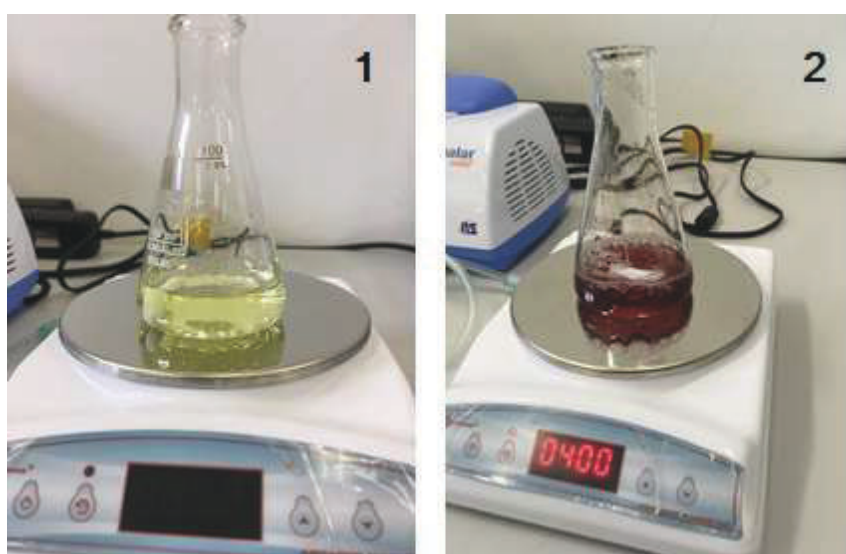
Os espectros das soluções de AuNPs (purificadas e não purificadas) foram obtidos utilizando cubetas de quartzo de caminho ótico de 1cm em um intervalo de comprimento de onda de 400 a 800nm, operado com 1nm de resolução e água ultrapura como branco. Também foram realizados espectros da solução de  $\text{HAuCl}_4$  e do extrato aquoso das folhas do cajueiro apenas para efeitos comparativos. O equipamento utilizado foi um espectrofotômetro JASCO V-630 equipado com lâmpadas do tipo tungstênio-halogênio e deutério. Os gráficos foram plotados utilizando o programa Origin8Pro<sup>®</sup>.

## 5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1 Síntese verde de nanopartículas de ouro (AuNPs)

A formação de AuNPs por síntese verde utilizando o extrato aquoso das folhas de *A. occidentale* L. foi realizada em apenas uma etapa a partir da mistura da solução de ouro ( $2,5 \times 10^{-4}$  M) com o extrato na concentração de 25% (v/v), a 25°C. Após a síntese, uma análise de pH foi realizada e teve como resultado o valor de 7,13. Esses parâmetros não foram avaliados, pois já é muito bem esclarecido que a mudança do pH do meio reacional interfere na concentração e tamanho das nanopartículas (ARMENDARIZ et al., 2004; HUANG et al., 2007; GHODAKE et al., 2010; SINGH e SRIVASTAVA, 2015), assim como a concentração do extrato (DWIVEDI; GOPAL, 2010; ELAVAZHAGAN; ARUNACHALAM, 2011; BORUAH et al., 2012). Portanto, não foram realizados testes variando a temperatura, pH, concentração do extrato, diferentes métodos de extração e a concentração do sal metálico. Depois de adicionado o extrato na solução que continha os íons de  $\text{Au}^{+3}$ , os átomos de ouro reduzidos iniciaram o processo de aglomeração e formação das primeiras nanopartículas. A solução adquiriu uma tonalidade translúcida, passando para azul claro, azul escuro, e posteriormente, tornou-se azul/avermelhada com tonalidades para vinho, sem presença de precipitados, como pode ser verificado na Figura 25, tudo isso em menos de 1 minuto, sob agitação.

Figura – 25: Mudança na coloração da solução de ouro, indicando a formação das AuNPs.



1. Solução de ouro ( $2,5 \times 10^{-4}$  M) antes da redução; 2. Solução coloidal de AuNPs.

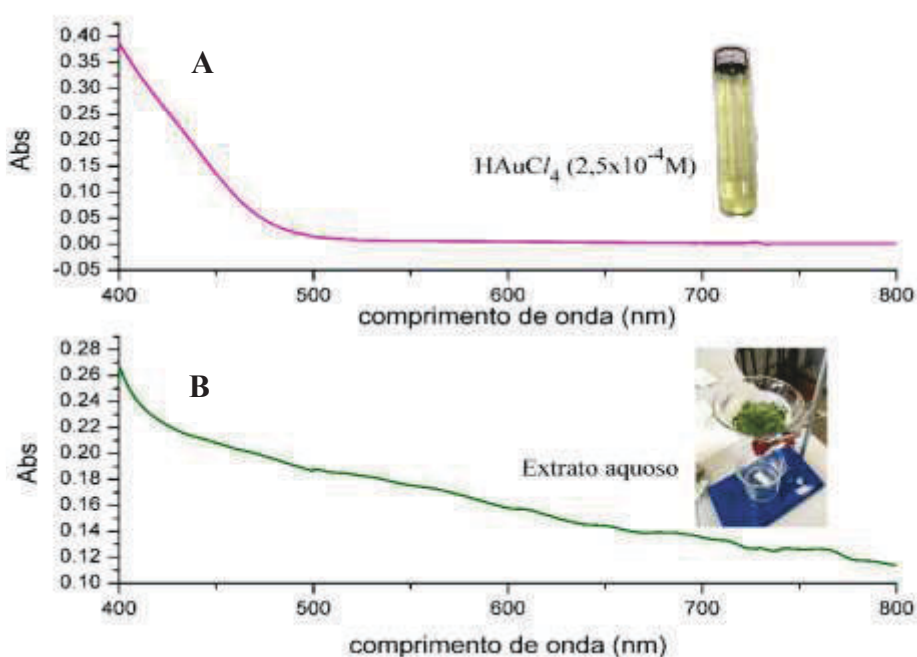
Fonte: próprio autor (2018).

A coloração de algumas alíquotas foi pouco alterada depois de sete dias de armazenamento em tubos de ensaios com rosca, envoltas em papel alumínio em temperatura ambiente. Todas as amostras apresentaram uma coloração avermelhada. Resultados semelhantes foram relatados na síntese de AuNPs usando os extratos de cogumelo (PHILIP, 2009), folhas de coentro (NARAYANAN e SAKTHIVEL, 2008) e folhas de hibisco (PHILIP, 2010).

## 5.2 Espectroscopia de absorção no UV-Visível

A formação das AuNPs pode ser evidenciada apenas na mudança da coloração, já que a solução resultante apresentou uma coloração avermelhada, que corresponde à banda plasmônica de nanopartículas na faixa de 510-540 nm. Segundo Mody et al. (2010), absorções entre 500-550 nm são características de AuNPs. No entanto, a confirmação da presença das AuNPs requer uma caracterização mais precisa e foi realizada com espectroscopia de absorção UV-vis. Os resultados apresentados na Figura 26, correspondem aos espectros do extrato aquoso das folhas de *A. occidentale* e da solução de ouro antes da redução. O extrato aquoso das folhas foi utilizado como fonte de biomoléculas redutoras e estabilizantes para a síntese de AuNPs. Já é bem relatado que a variação de parâmetros físico-químicos durante a síntese das NPs influencia a eficiência da síntese e as características das partículas (ALBERNAZ, 2014).

Figura – 26: Espectros UV-Vis do extrato aquoso das folhas do cajueiro e da solução de  $\text{HAuCl}_4$ . Em (A) solução de ouro ( $2,5 \times 10^{-4} \text{M}$ ) extrato das folhas e em (B) extrato das folhas.

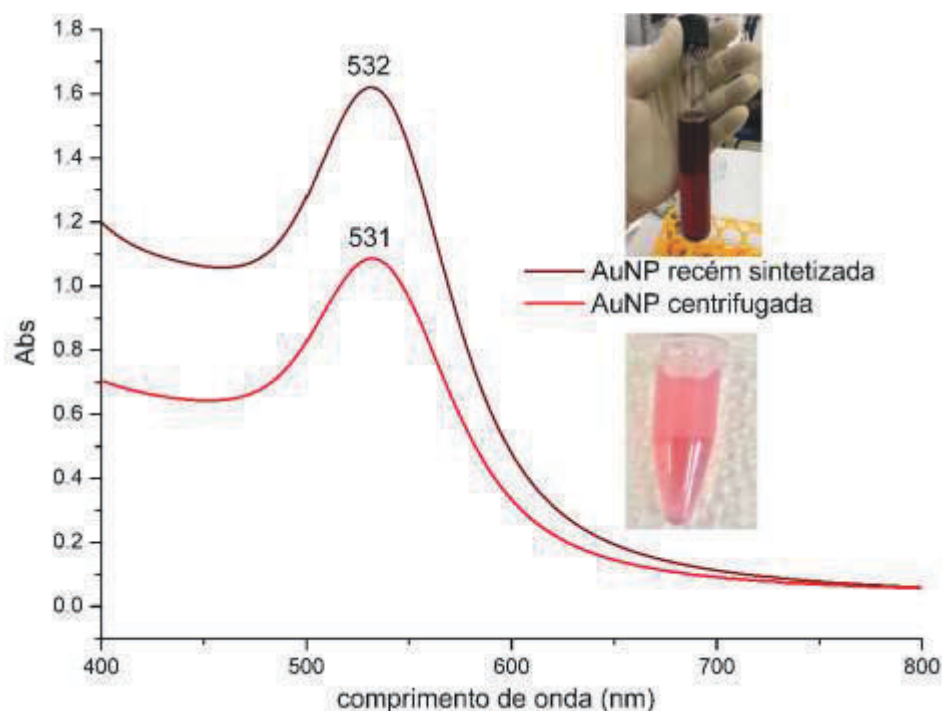


Fonte: próprio autor (2018).



A análise das soluções foi realizada na faixa de comprimentos de onda de 400 a 800 nm por espectrofotometria de luz visível e o resultado da síntese de AuNPs é apresentado na Figura 27. Os resultados obtidos apresentaram picos de absorbância inferiores a 550nm, caracterizando a formação de AuNPs. Foram obtidos os espectros de absorção relativos à solução de AuNPs recém-sintetizada e da solução de AuNPs purificadas pelo processo de centrifugação. Verifica-se a formação de banda plasmônica característica em ambas as soluções. O espectro de UV-vis para a solução de AuNPs recém-sintetizadas mostrou uma banda de absorção em 532 nm, em comparação com o espectro de AuNPs centrifugadas, que apresentou uma banda em 531 nm. Estes resultados demonstram que o processo de purificação não afeta o comportamento eletrônico nem altera configurações das mesmas. Após o processo de lavagem (centrifugação) das AuNPs recém-formadas, conforme a metodologia proposta, demonstra um aspecto importante, pois remove compostos fitoquímicos presentes na solução coloidal que não são de interesse do presente trabalho.

Figura – 27: Espectro de absorção UV-Vis das AuNPs recém-sintetizadas com  $\lambda_{\text{máx}}$  de 532nm e AuNPs centrifugadas com pico de 531 nm.



Fonte: próprio autor (2018).

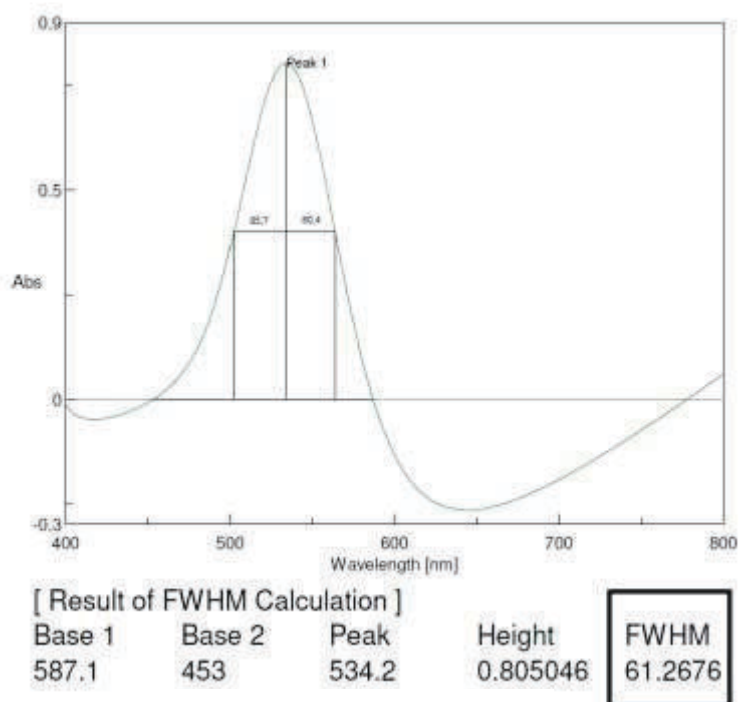
O espectro de absorção mostrou que as nanopartículas de ouro sintetizadas com extrato aquoso das folhas de *A. occidentale* L. tiveram pico de absorção característico da ressonância plasmônica de superfície (RPS), específico das AuNPs (AHMED et al., 2014). O tamanho e

forma das nanopartículas estão relacionadas com suas propriedades óticas e eletrônicas, o que determina a posição do pico de ressonância (BINDHU et al., 2014). O valor da máxima absorvância no espectro UV-vis de soluções coloidais relaciona-se com o tamanho médio das NPs e a largura da banda de com a dispersão das partículas.

Ji e colaboradores (2007) observaram um discreto deslocamento do  $\lambda_{max}$  para valores maiores, no aumento do tamanho das AuNPs com alterações na concentração do agente redutor durante a síntese. Para NPs anisotrópicas, as cores da solução podem variar pois o comportamento da banda plasmônica se altera. Por exemplo, para nanobastões (*nanorods*) de ouro existem dois modos de oscilação da banda plasmônica (transversal e longitudinal que se acopla com o campo elétrico da radiação incidente) gerando dois picos de absorção (LINK; EL-SAYED, 1999). O valor do comprimento de onda ( $\lambda_{max}$ ) depende do tamanho médio das NPs da solução coloidal. As NPs com tamanhos entre 10-30nm tendem a absorver em  $\lambda_{max}$  deslocados para a região do verde (~520nm) do espectro eletromagnético e a cor observada é vermelha. As nanopartículas com tamanhos entre 30-90nm passam a exibir cores cujos comprimentos de onda estão deslocados para a região do amarelo (~580nm), pelo aumento da densidade dos estados eletrônicos e diminuição de energia de transição entre as bandas, e a cor observada é violeta (TOMA; DA SBONIFACIO; ANAISSI, 2005). Quanto maior for o diâmetro, mais luz a NP dispersa, conseqüentemente a frequência de ressonância plasmônica é mais baixa. O alargamento do pico RPS, pode estar relacionado com polidispersão de tamanhos, por se tratar de uma solução coloidal.

Como a ação do extrato das folhas como agente redutor é extremamente rápida, o início da mudança de coloração ocorreu em menos de 10 segundos, a cinética de crescimento das AuNPs não pode ser monitorada por espectroscopia UV-visível. Shen e colaboradores (2011) utilizaram o extrato aquoso da folha do *A. occidentale* para síntese de nanopartículas de ouro e prata. A SPR para AuNPs foram 529nm e 526nm. Comparando com esses resultados, podemos observar que os estudos resultaram em valores da banda plasmônica de superfície, próximo as nanopartículas sintetizadas com a folha do cajueiro. A partir dos espectros obtidos, foi realizado o cálculo da largura a meia altura (FWHM) utilizando o *software* Spectra Analysis (Spectra Manager JASCO V-630), e o resultado podem ser observados na representação abaixo, com a devida correção da linha de base.

Figura – 28: Esquema representativo do cálculo de FWHM da amostra de AuNP centrifugada.



Fonte: próprio autor (2018).

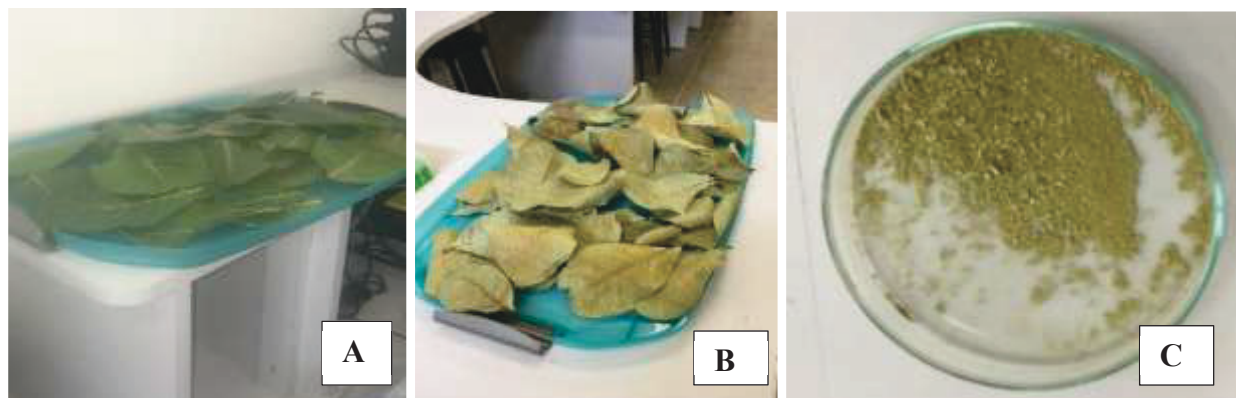
Na figura acima se observa o cálculo da largura a meia altura (FWHM -*Full width at half maximum*) de 61,2 nm quase simétrico caracterizado pelos valores de 85,7 e 60,4 nm das AuNPs, com superfícies quase regulares e distribuição de tamanho de partículas dentro de uma faixa ampla de valores como pode ser comprovado no histograma de tamanho de partículas do Gráfico 2 obtido por AFM. Esse valor de 61,2 nm é um cálculo que não se aproxima da realidade. Ele fornece dados próximos aos outros que podem ser verificados por técnicas de imagiologia. Podemos observar a morfologia e o tamanho das AuNPs sugeridas pela Espectroscopia de UV-Vis através das imagens de Microscopia de Força Atômica na seção mais adiante.

### 5.3 Espectroscopia de infravermelho por transformada de Fourier (FTIR)

Com o objetivo de identificar as possíveis moléculas presentes na folha de caju que são responsáveis pela redução de  $Au^{3+}$  e sua estabilização, foram realizadas medições de FTIR das folhas secas (Figura 29) e do *pellet* de AuNPs (Figura 30) resultante da centrifugação, para investigar os possíveis compostos envolvidos na redução dos átomos de  $Au^{+3}$ .

As folhas secas e as amostras das AuNPs obtidas após o processo de secagem, foram submetidas à análise de FTIR-ATR, num espectrofotômetro BRUKER, modelo FT-IR Alpha, na faixa de  $400 - 4000 \text{ cm}^{-1}$  e resolução  $0,8 \text{ cm}^{-1}$ , sendo o total de *scans* igual a 40. Não houve qualquer tratamento adicional nas amostras. Os resultados espectroscópicos são apresentados na Figura 31 e 32, respectivamente da folha e das AuNPs.

Figura – 29: Folhas coletadas do *A. occidentale* em processo de secagem para análise em FTIR.



**A:** Folhas lavadas e colocadas para secar; **B:** folhas secas e **C:** pó das folhas secas.

Fonte: próprio autor (2018).

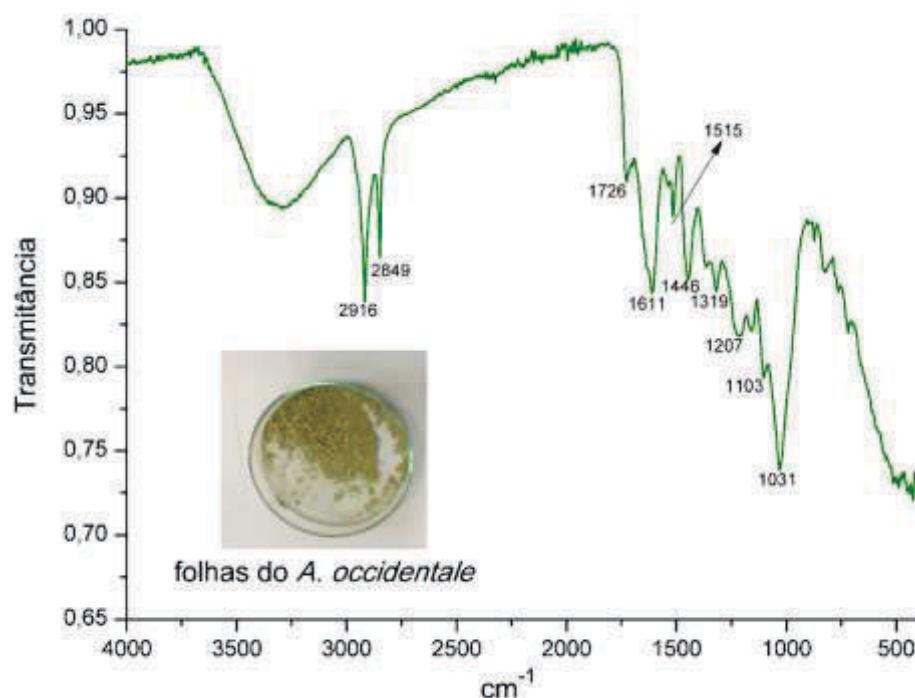
Figura – 30: Resultado do processo de centrifugação para obtenção do *pellet* para análise FTIR.



**A:** precipitado resultante após vários ciclos de centrifugação; **B:** *pellet* removido do tubo e posto em placa de petri e **C:** detalhe das AuNPs resultantes da secagem.

Fonte: próprio autor (2018).

Figura – 31: Espectro obtido por espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier das folhas de *A. occidentale*.

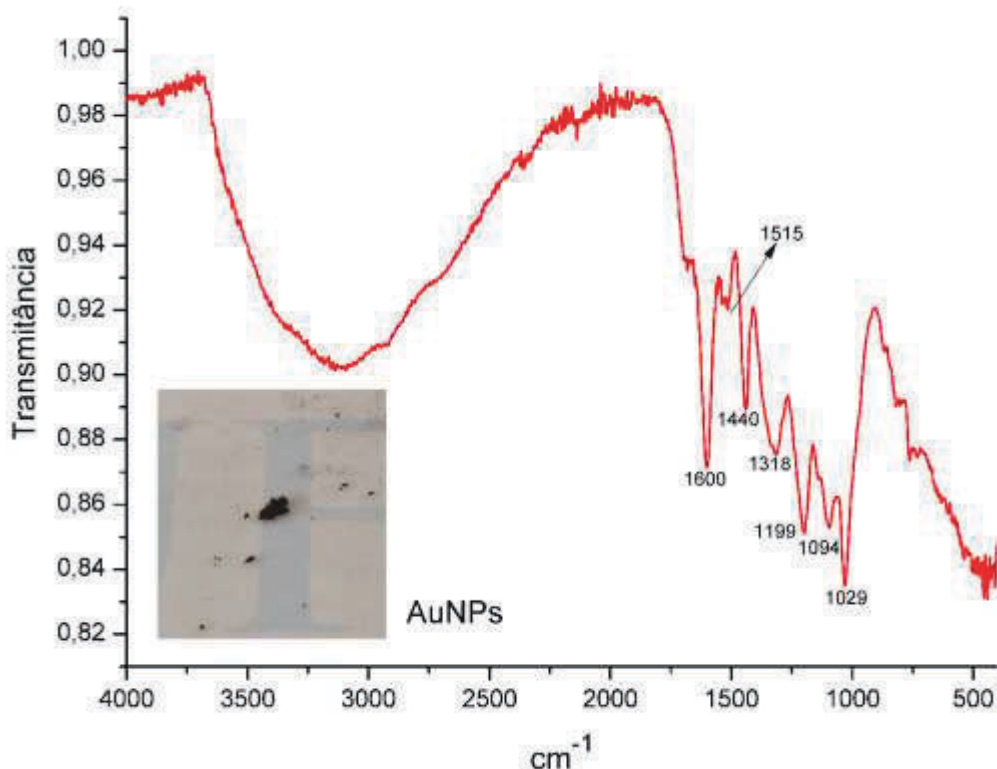


Fonte: próprio autor (2018).

A imagem acima representa o espectro de FTIR do pó de folhas secas. O pico mais intenso ocorreu em  $1031\text{ cm}^{-1}$  (banda amida primária). A banda a  $1611\text{ cm}^{-1}$  devido à banda amida primária mostrou uma mudança para  $1600\text{ cm}^{-1}$  no espectro IR de AuNPs (Figura 30) sugerindo proteínas como molécula de ligação (AHMAD et al., 2011 e PHILIP et al., 2011).

Vibração de alongamento antissimétrico em cadeias de hidrocarbonetos C–H a  $2916\text{ cm}^{-1}$  e simétrico das mesmas cadeias a  $2849\text{ cm}^{-1}$ . Uma variedade de metabólitos secundários, como taninos, terpenoides, alcaloides, flavonóis, fenóis, glicosídeos, estão presentes na folha de caju (RIBEIRO, 2016). Há relatos que o caju possui ácido gálico, ácido anacárdico, anacardol, ácido hidroxilbenzóico, ácido caprílico, ácido gadoleico, ácido láurico, leucina, leucocianetos, ocimeno, limoneno, cariofileno e alfa-cadineno (SATHISHKUMAR, 2009 e OFUSORI et al., 2008). As bandas de  $1726\text{ cm}^{-1}$  (estiramento C=O de ácido carboxílico),  $1611\text{ cm}^{-1}$  (amida primária) e  $1515\text{ cm}^{-1}$  (amida secundária), tornaram-se, comparativamente, mais fracas no espectro das AuNPs, sugerindo proteínas como agentes redutores de ouro.

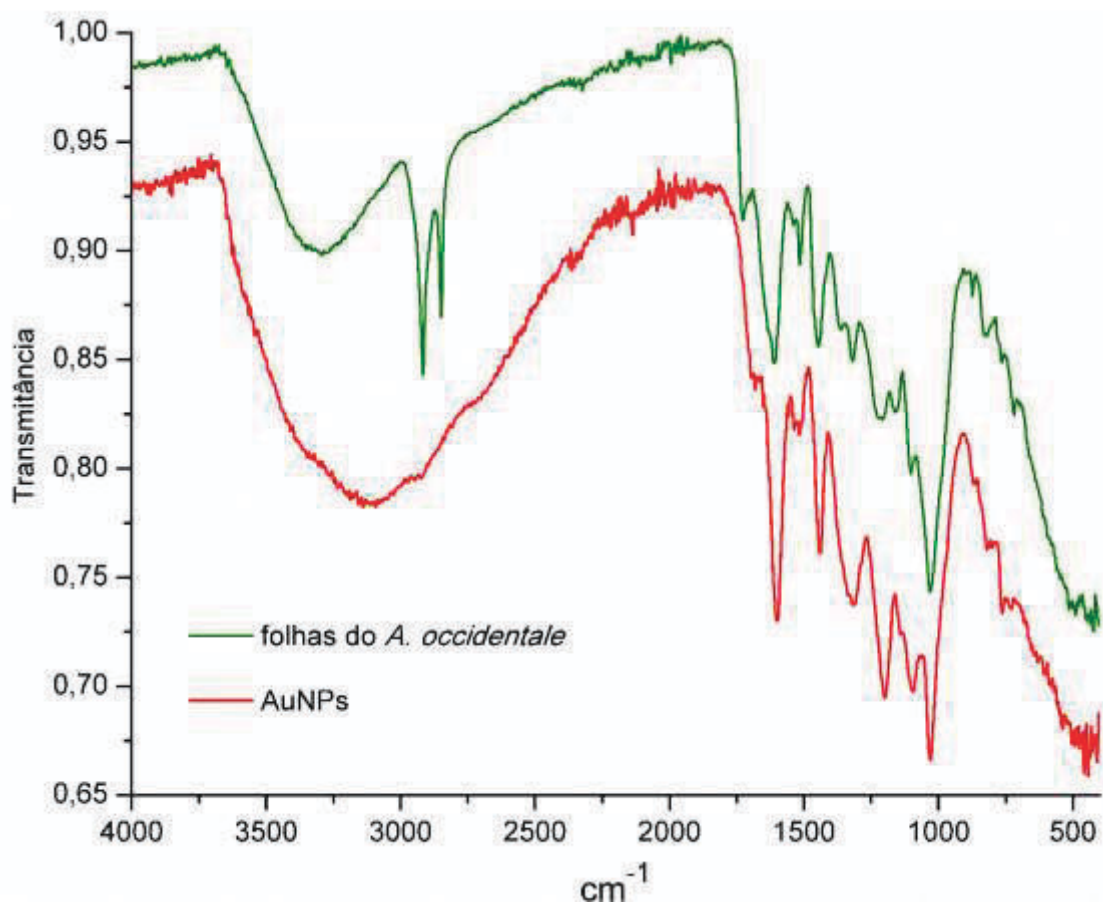
Figura – 32: Espectro obtido por espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier das AuNPs.



Fonte: próprio autor (2018).

O espectro de FTIR de AuNPs mostra bandas devido às vibrações de C–O–C e C–OH a  $1029 \text{ cm}^{-1}$ , vibrações C–OH de dobramento a  $1440 \text{ cm}^{-1}$ , deformação antissimétrica de amida primária de proteínas a  $1600 \text{ cm}^{-1}$ . Adicionalmente, picos foram observados a  $1515 \text{ cm}^{-1}$  devido a vibrações de estiramento de –C–C– em anéis aromáticos e  $3100 \text{ cm}^{-1}$  devido às vibrações de alongamento –OH (SINGH e SRIVASTAVA, 2010). Estes dados sugerem a presença de proteínas, aminas aromáticas e polifenóis, juntamente com os AuNPs (SHENY et al., 2012). A banda  $1031 \text{ cm}^{-1}$  no espectro da folha, devido à vibração de estiramento C–N de aminas alifáticas foi deslocada para  $1029 \text{ cm}^{-1}$  e a banda a  $1319 \text{ cm}^{-1}$  devido a vibrações de estiramento C–N de aminas aromáticas deslocadas para  $1318 \text{ cm}^{-1}$  para nanopartículas de ouro. A Figura 33 detalha uma sobreposição dos dois espectros obtidos. Nota-se uma grande similaridade entre os dois gráficos, especialmente na região de  $1890$  a  $820 \text{ cm}^{-1}$ .

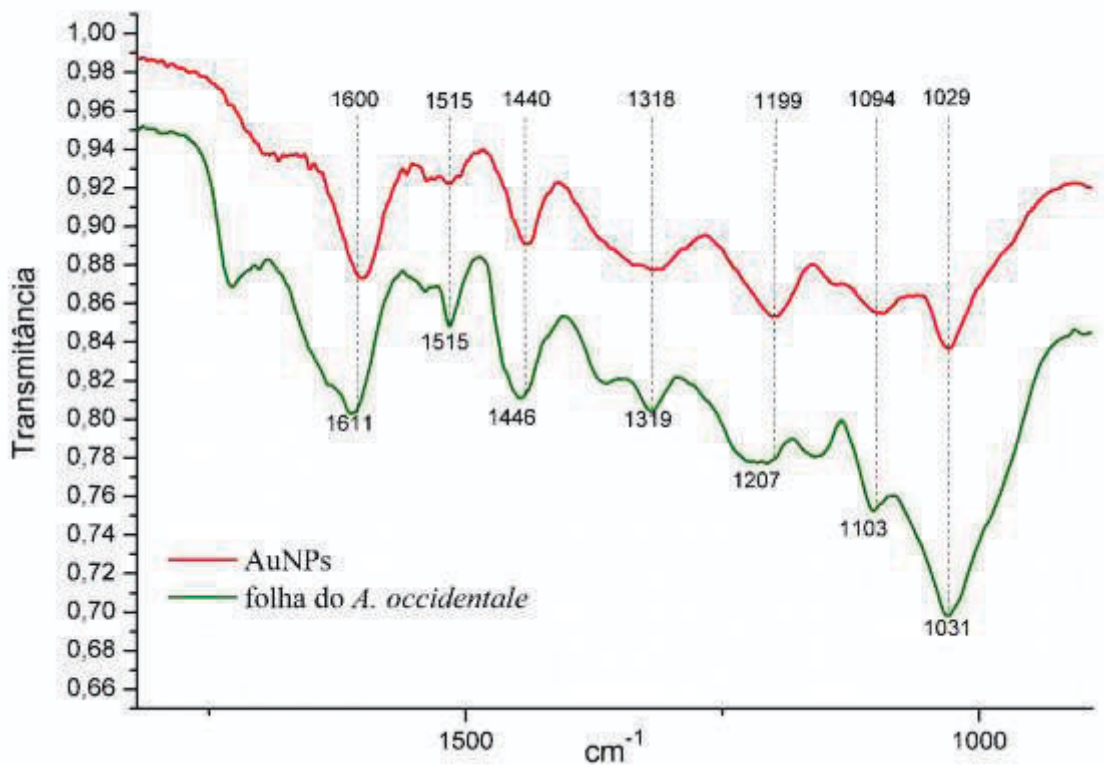
Figura – 33: Sobreposição dos espectros FTIR da folha do cajueiro e das AuNPs.



Fonte: próprio autor (2018).

Os espectros de FTIR das AuNPs e da folha do *A. occidentale* estão mostrados na Figura 33. Nota-se que a banda larga a 3600 a 3750 $\text{cm}^{-1}$  é característica do grupo funcional hidróxi, presente em água, álcoois e compostos fenólicos. Pode-se observar a grande semelhança entre as duas amostras com algumas exceções. Ambas apresentaram bandas principais de intensidade similar que variaram de 1611–1600, 1515, 1446–1440, 1319–1318, 1207–1199, 1103–1094 e 103–1029  $\text{cm}^{-1}$ , melhor ilustrado na Figura 29. Os dois espectros são muito parecidos entre si, especialmente na região correspondente a assinatura molecular. Dessa forma, a região dos espectros de 1820 a 890  $\text{cm}^{-1}$  foi destacada (Figura 34). Uma banda foi observada exatamente no mesmo comprimento de onda nos dois espectros das amostras a 1515  $\text{cm}^{-1}$ .

Figura – 34: Detalhe da região do espectro FTIR correspondente a assinatura molecular, das bandas correspondentes.



Fonte: próprio autor (2018).

Como os metabólitos secundários como flavonóis, taninos, terpenoides, glicosídeos, alcaloides e fenóis estão presentes no pó de folhas de *A. occidentale* (SHENY et al., 2011), o mecanismo de redução pode ser sugerido como os grupos hidroxila em polióis e glicosídeos foram oxidados a grupos carbóxico durante a redução.

#### 5.4 Microscopia por força atômica (AFM)

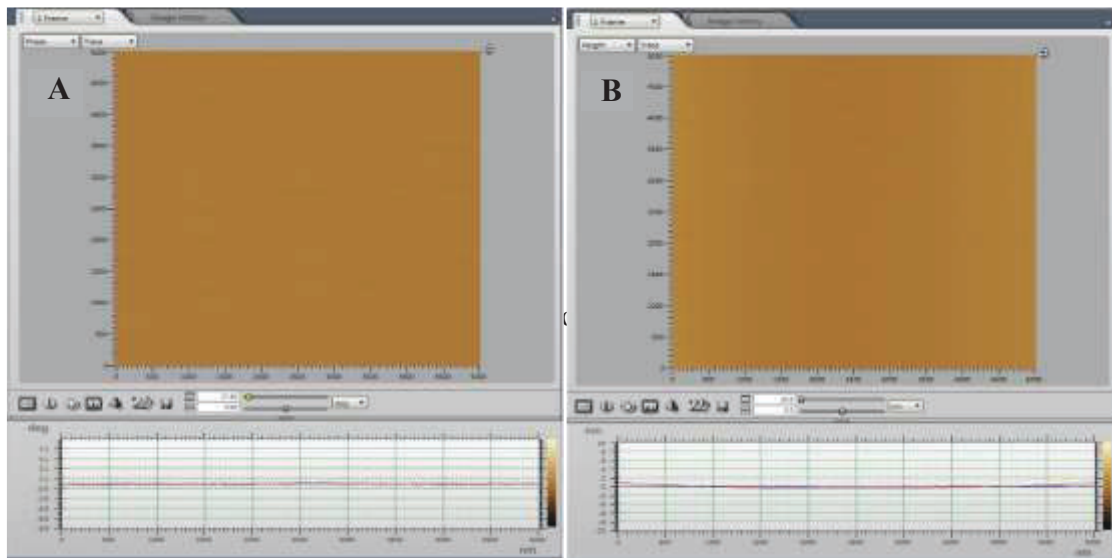
Nas imagens a seguir, as zonas mais escuras correspondem a depressões das amostras. Quanto mais clara for a região, maior é a altura do ponto observado, onde o ponto mais claro em cada imagem corresponde ao máximo na escala do eixo z. As imagens de AFM são tridimensionais, sendo representadas em 2D com uma escala de contraste calibrada na dimensão vertical.



### 5.4.1 Superfície da mica isolante

Todas as imagens obtidas por essa técnica foram utilizando a mica isolante. A Figura 35 mostra uma captura de tela do programa SPM Manager 3.0 do próprio equipamento em funcionamento durante a varredura.

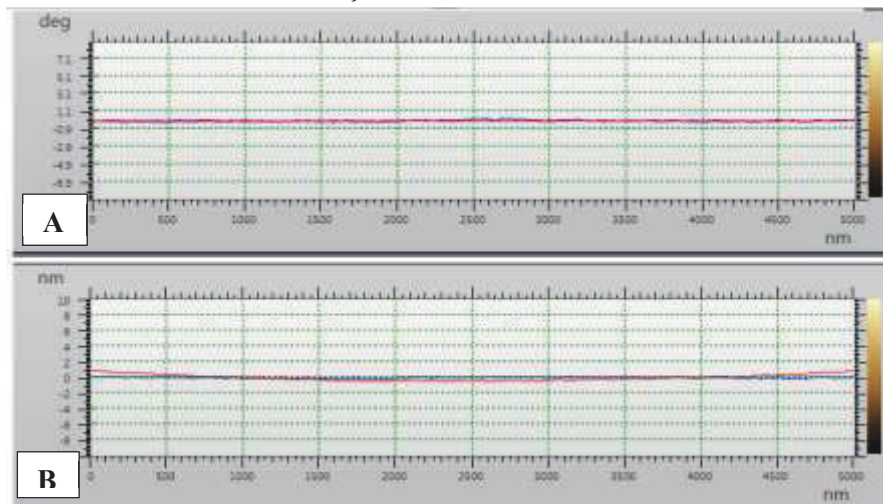
Figura – 35: Captura de tela no momento em que o equipamento fazia a varredura na superfície de mica recém clivada e preparada conforme a descrição feita na metodologia (5x5  $\mu\text{m}$ ).



Fonte: próprio autor (2018).

Em (A) a imagem de altura (*height*) (B) da fase. Nota-se em ambos os lados que a superfície de mica é anatomicamente plana. Na Figura 36, observa as escalas de atuação da sonda em contato com a superfície.

Figura – 36: Detalhe da escala de variação da altura da sonda em contato com a superfície.



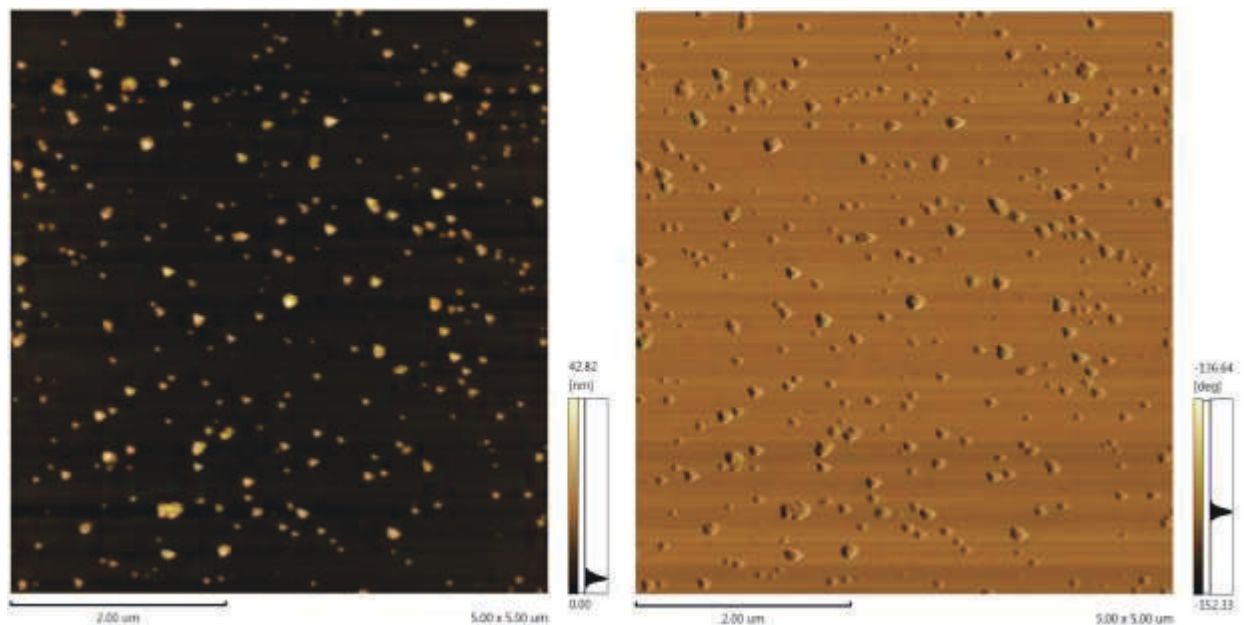
Fonte: próprio autor (2018).

No detalhe da imagem anterior, em (A), observa-se a escala de cores (deg) que indica se a interação da ponta com a amostra entrar em contato com materiais de constituições químicas distintas, exibe cores diferentes no display do programa. Podemos concluir, observando que praticamente não há qualquer alteração de cor, conseqüentemente trata-se do mesmo material em questão. Em (B) exibe a escala da altura da superfície em nanômetros. O contorno da ponteira da sonda praticamente não oscila, mostrando que praticamente não há deformações nem saliências na superfície da mica utilizada. Assim, as amostras de AuNPs depositadas na superfície da mica são, de fato, os particulados que observamos. As imagens mostram filmes contínuos e homogêneos, com praticamente ausência de falhas.

#### 5.4.2 Imagens obtidas por AFM

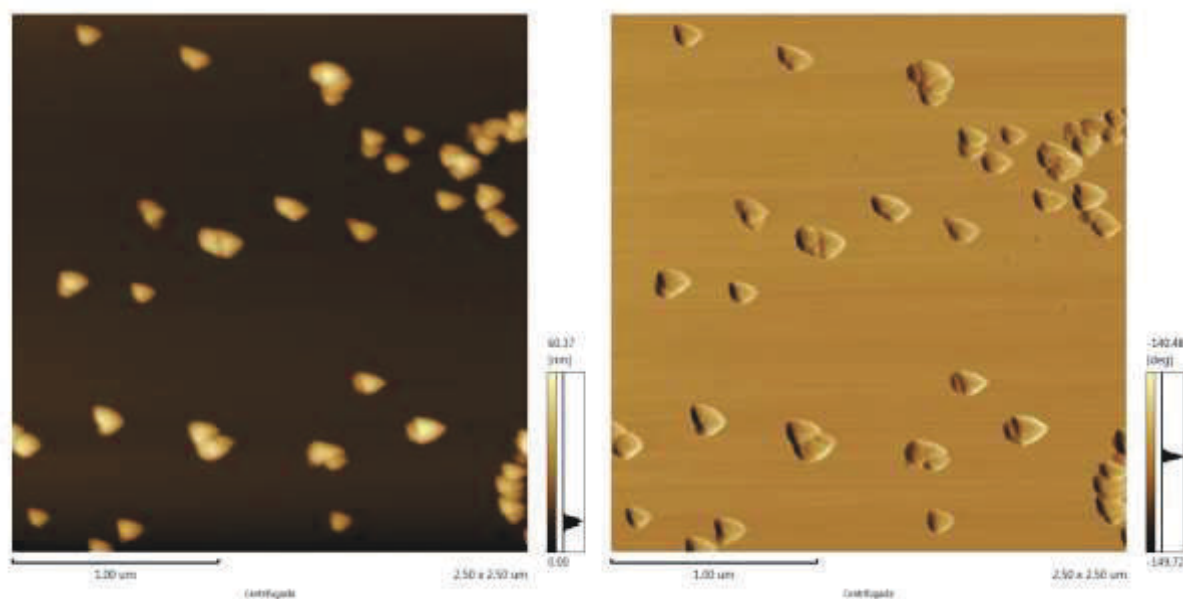
As Figuras 37 e 38 mostram nas AuNPs obtidas por deposição de  $\sim 1\mu\text{L}$  de solução na superfície de mica e deixadas secar por aproximadamente 30 minutos. Após esse período foram realizadas varreduras nas amostras posicionando o feixe de laser do equipamento na porção central da amostra. Todas as imagens a seguir mostrarão a altura (topografia) do lado esquerdo e a fase do lado direito, juntamente com a escala de cores referente ao tamanho dos picos de NPs em cada filme.

Figura – 37: Micrografia das AuNPs depositadas em superfície de mica. Varredura  $5 \times 5\mu\text{m}$ .



Fonte: próprio autor (2018).

Figura – 38: Micrografia das AuNPs depositadas em superfície de mica. Varredura 2,5 x 2,5µm



Fonte: próprio autor (2018).

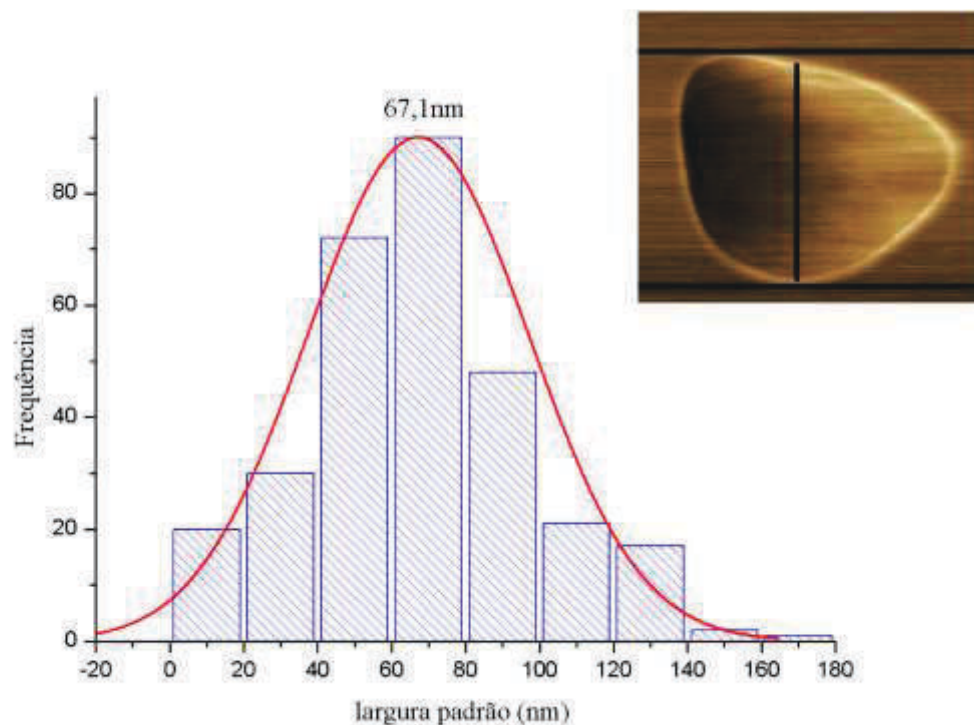
Na imagem da Figura 37 é possível observar uma boa dispersão entre as AuNPs. As nanopartículas menores exibem o contorno esférico, e as maiores mostram-se com o aspecto triangular. As nanopartículas aparecem depositadas na lamínula de mica e exibem boa dispersão, porém com evidência de alguns agregados. Malikova e colaboradores (2002) sintetizaram nanoprismas de ouro em solução aquosa pela redução de  $\text{HAuCl}_4$  com ácido salicílico a  $80^\circ\text{C}$ . Outro estudo (SHANKAR et al., 2004) foi relatado a possibilidade de síntese verde de nanoprismas de ouro a partir da reação do sal de ouro com o extrato do limoeiro (*Cymbopogon flexuosus*). Utilizando botões de cravo (*Syzygium aromaticum*) secos, Raghunandan e colaboradores (2010) conseguiram nanopartículas de ouro com forma irregular e a biorredução e estabilização das NPs foram atribuídas a flavonoides presentes no extrato. Utilizando extrato da folha de *Cassia auriculata*, Kumar e colaboradores (2010) obtiveram nanopartículas esféricas e triangulares (15-25nm) em temperatura ambiente e em 10 minutos.

No presente trabalho, não se teve a intenção de sintetizar os nanoprismas em si. Eles surgiram como uma possível rota não relatada na literatura, pois não foi avaliado o efeito do pH, da temperatura, concentração do íon e extrato, sendo um objeto de investigação em trabalhos futuros. Millstone e colaboradores (2005) relataram que é importante o processo térmico ou a irradiação com luz visível ou ultravioleta para conversão de partículas esféricas de ouro ou de prata em nanoprismas. Já Deivaraj e colaboradores (2005) demonstraram que nanoesferas de prata ou ouro podem se converter em prismas através do processo de *ripening de Ostwald* sem a necessidade de irradiação ou tratamento térmico. Foram produzidas

nanopartículas de ouro com forma hexagonal e triangular, utilizando extrato de *Phyllanthus amarus* e observado que o aumento da concentração do extrato produziu nanopartículas esféricas (KASTHURT et al., 2009).

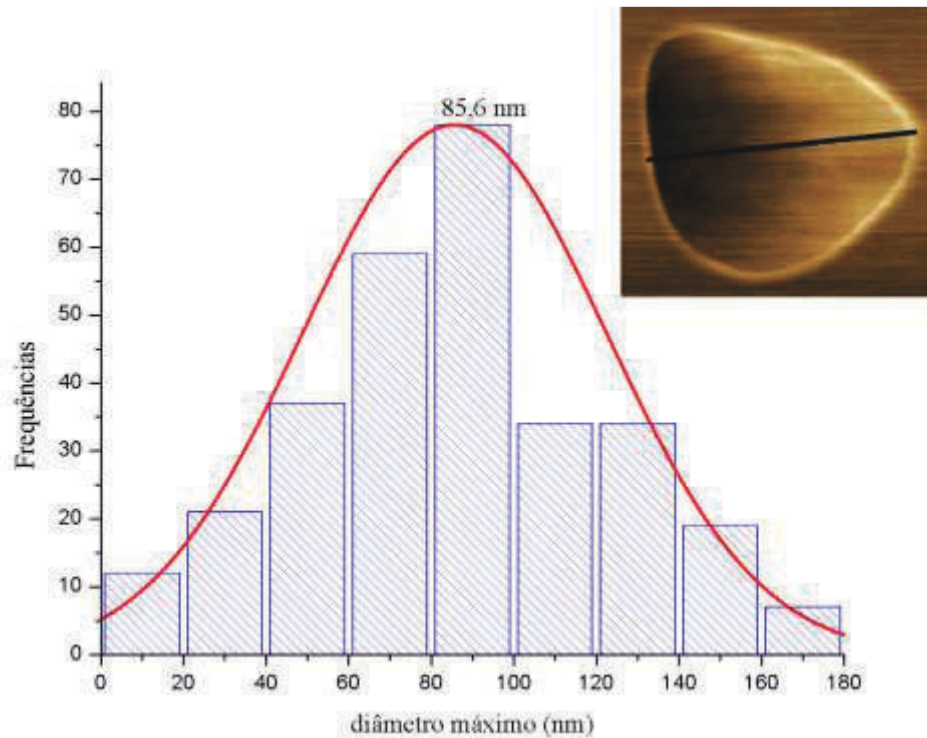
Entretanto, já se conhece que o efeito de crescimento assimétrico das NPs pode estar relacionado com velocidades de crescimentos diferentes das facetas das nanopartículas que é atribuído ao potencial de superfície de cada particulado. A adsorção de alguns agentes estabilizadores na superfície da NP, podem alterar o crescimento dessas faces distintas, produzidas por diferença na estrutura morfológica, levando um empilhamento das partículas (LEE et al., 2011) como observado na imagem acima. Análises estatísticas foram realizadas com base nos gráficos abaixo, para se obter dados da distribuição do diâmetro e da largura padrão das NPs. O Gráfico 1 mostra o histograma com a distribuição gaussiana das amostras da largura padrão da partícula de 67,1 nm, desvio padrão de 29,8nm, largura mínima de 9,76 nm e um máximo de 160,2 nm. O Gráfico 2 apresenta os dados do diâmetro máximo da partícula. Os dados foram plotados no software OriginPro8.

Gráfico – 1: Histograma com distribuição normal da largura das NPs (linha vertical).



Fonte: próprio autor (2018).

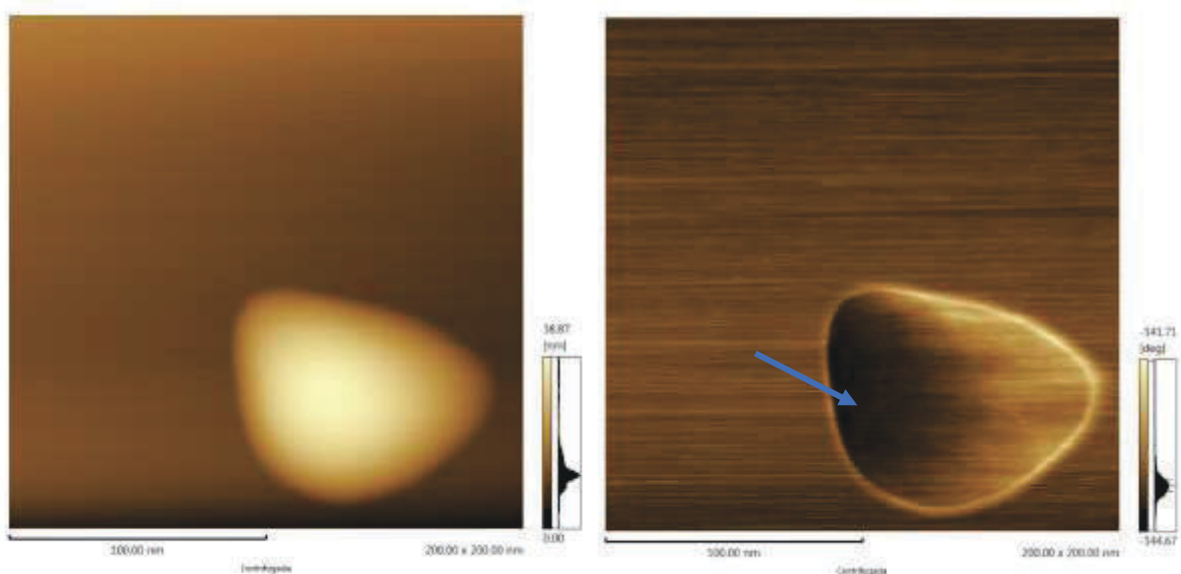
Gráfico – 2: Histograma com distribuição normal do diâmetro das NPs (linha horizontal).



Fonte: próprio autor (2018).

Os dados da distribuição acima apresentam um desvio padrão de 36,8 nm, tamanho mínimo de 9,7 nm e máximo de 168,6 nm. A imagem da Figura 39 mostra uma única AuNP. É possível observar um bom contorno das bordas, mostrando que a sonda estava operando em perfeitas configurações de operação.

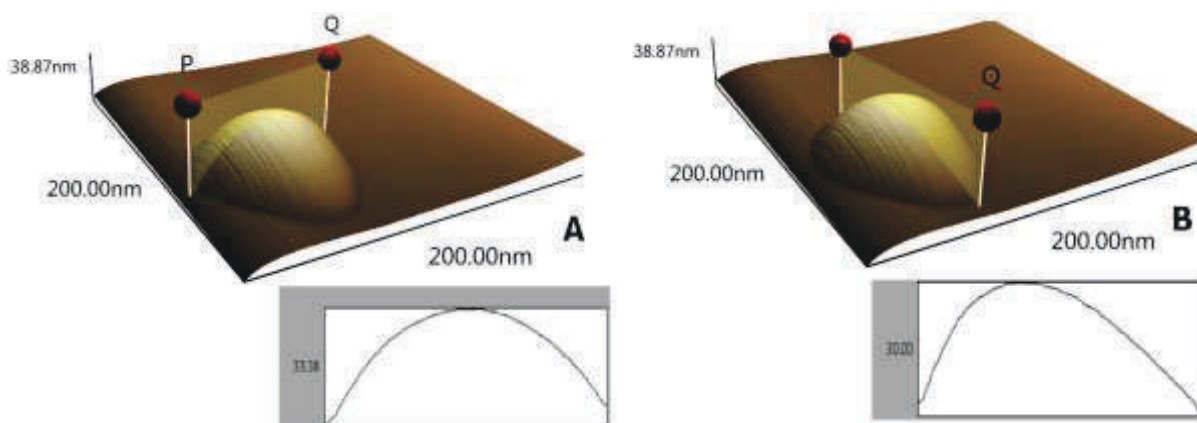
Figura – 39: Detalhe de uma única AuNP. Varredura feita 200 x 200 nm.



Fonte: próprio autor (2018).

Na imagem direita, onde se observa uma seta azul, mostra uma nítida diferença de tonalidade de cor. Apresenta uma estrutura quase oval, sugerindo ser materiais com composição química distinta. Observa-se poucas variações nas imagens, provavelmente devido a uma incorporação de biomoléculas no interior da nanoestrutura. Como a imagem da esquerda não mostra uma topografia alterada, ou seja, sem abaulamento da superfície, pode-se concluir que o material distinto esteja por dentro da NP ou pode-se tratar uma parte oca da mesma. Estes aspectos serão posteriormente investigados em trabalhos futuros. Para comprovar a ausência de qualquer deformação na superfície da NP, foi obtido uma imagem em três dimensões da topografia da nanopartícula observada na imagem acima. A Figura 40 mostra o perfil da superfície entre os pontos de referência P e Q da imagem em comprimento, largura e sua altura.

Figura – 40: Imagem 3D da AuNP, os pontos “P” e “Q” mostram a superfície da NP. Em (A), mostra as dimensões de sua largura e em (B) as dimensões de seu comprimento.



Fonte: próprio autor (2018).

A imagem deixa claro que a “mancha” observada na Figura 39, destacada pela seta, pode ser, de fato, uma estrutura pertencente ao interior da NP. Esta exibe uma altura de 33,8 nm. Pelas imagens em 3D da topografia das amostras nota-se claramente a variação da altura das partículas que compõem o filme, dando ideia da sua rugosidade.

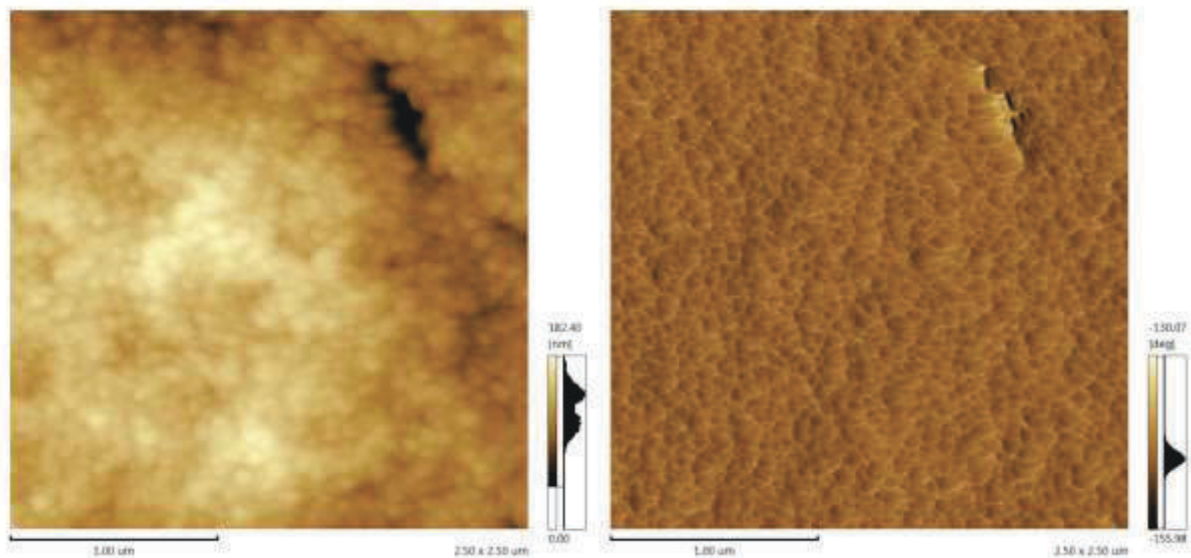
As imagens a seguir foram obtidas não por deposição da solução de AuNP em mica, mas do *pellet* seco (Figura 30.C) resultante da centrifugação, o mesmo utilizado para se obter dos dados de FTIR. Observamos que formou uma estrutura quase plana, apresentando-se como um pequeno filme. Pegamos uma pequena porção e fixamos em uma lamínula de vidro circular, com auxílio de uma fita dupla face, e em seguida presa no suporte metálico para ser acoplado no AFM. A imagem da Figura 41 ilustra essa etapa do processo e as Figuras 42 e 43 foram obtidas com varredura do scanner 2,5x2,5 $\mu$ m e 1x1 $\mu$ m, respectivamente.

Figura – 41: Detalhe da fixação do pellet das AuNPs que foram centrifugadas e utilizadas na obtenção das imagens do filme de NP.



Fonte: próprio autor (2018).

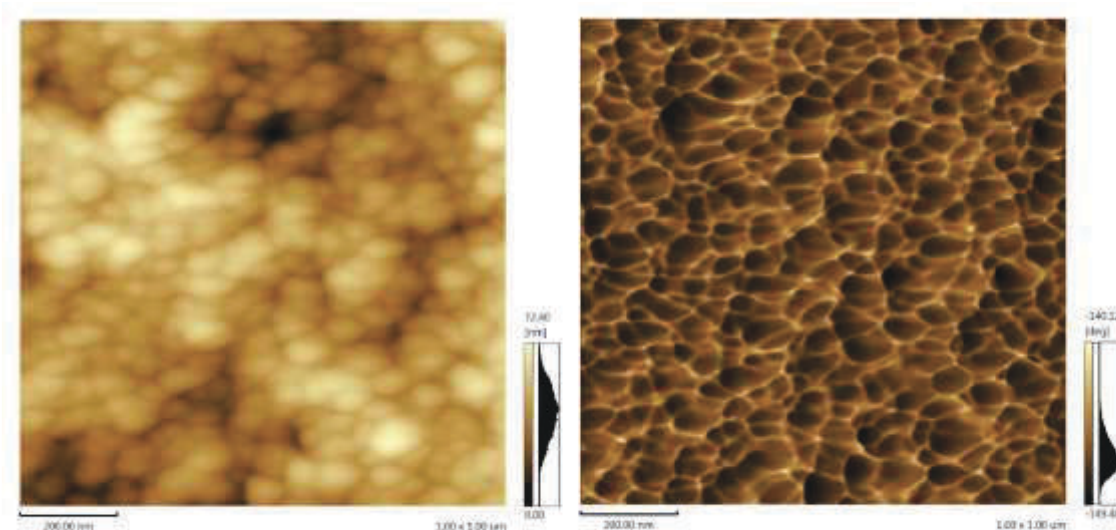
Figura – 42: Imagem das AuNPs do filme de NP. Varredura feita em 2,5x2,5  $\mu\text{m}$ .



Fonte: próprio autor (2018).

Na imagem acima, nota-se que as AuNPs estão todas agrupadas, mas sem formar agregados, como em algumas imagens obtidas por deposição da solução coloidal. Estes agrupamentos que vemos são as nanopartículas em si. Estas diferenças dos filmes multicamadas podem ser atribuídas devido as propriedades de superfície intrínsecas de cada sistema.

Figura – 43: Imagem das AuNPs do filme de NP. Varredura feita em 1,0x1,0  $\mu\text{m}$



Fonte: próprio autor (2018).

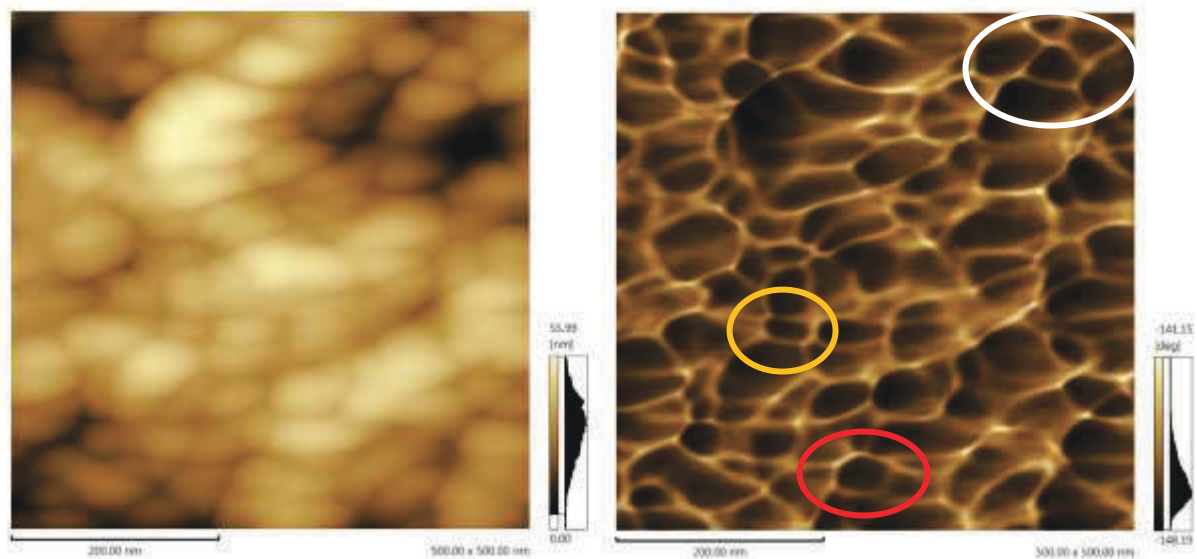
Nessa escala é possível perceber que as nanopartículas exibem vários formatos, esféricos, triangulares, bastões etc. Em relação a este último ponto de análise, é interessante notar que os resultados obtidos por AFM mostraram que, apesar das multicamadas de AuNPs, não foi uma distribuição homogênea em algumas regiões o qual pode ser atribuído a interação dos fitoquímicos com as nanopartículas de material na escala de tamanho investigada. A literatura relata que a manipulação das AuNPs em superfícies como a mica por exemplo, pode ser influenciada pelas características morfológicas da partícula e tipo de ponta utilizada. A compreensão dos diferentes tipos de movimento que a partícula pode realizar durante a manipulação, uma vez que o tipo de movimento das partículas causa perda de energia e desgaste nas superfícies de contato. Observa-se também que o tipo de molécula que envolve a NP também influencia no movimento e trajetória (DARWICH et al., 2011). Nesse caso em particular, onde temos um filme de AuNPs, sem estarem depositadas em uma superfície lisa, como vidro ou mica, não se teve dificuldade de se obter as imagens. A imagem abaixo foi feita em uma escala de varredura 500 x 500 nm.

Na Figura 44 podemos observar a morfologia das nanopartículas com uma área de varredura de 500 x 500 nm. Na imagem da esquerda, observamos a topografia do material particulado, onde nota-se a presença de um “relevo” bastante acidentado, com várias alturas e depressões, devido não ser uma camada uniforme. Já a imagem de fase, revela contornos bastante definidos, podendo distinguir NPs de diversos formatos agrupados. Essa variedade de formatos observados pode ser atribuída a maleabilidade do material, já que estão todas confinadas em um mesmo espaço, e algumas, devido a energia livre de Gibbs, tendem a ir para



o estado energético mais favorável, seja se aglomerando ou se “espremendo” entre as outras. No canto superior esquerdo da imagem de fase (destaque círculo branco) nota-se a presença de uma NP com formato triangular. Já no círculo vermelho, observa a presença de NP com uma discreta morfologia de um pentagrama. No detalhe em amarelo apresenta uma configuração de *nanorods* (nanobastões). Estas formas são conhecidas como anisotrópicas e sua banda plasmônica tende a ser deslocada para direita no espectro UV-Vis, que não foi observado em nossos resultados, podendo-se conjecturar que essas NPs são uma minoria aqui nos resultados. Entretanto essas formas distintas só apareceram nas imagens feitas diretamente na superfície do *pellet* da solução coloidal centrifugada.

Figura – 44: Imagem das AuNPs do filme de NP. Varredura feita em 500 x 500 nm



Fonte: próprio autor (2018).

Esta imagem foi determinada pela deflexão do cantilever proporcionada pelas forças de interações atômicas entre a ponta e o material (AuNPs). As forças de interações entre moléculas da superfície da amostra a ponteira resultam na deflexão do cantilever, que atua como um transdutor de força. Nota-se pela escala de cores, que as regiões mais claras são mais altas e as mais escuras são mais baixas. A imagem de fase, mostra claramente o limite de cada NP, com suas bordas bem definidas.

## 6. CONCLUSÃO

O extrato aquoso de *A. occidentale* pode ser utilizado como agente redutor e estabilizador para obtenção de nanopartículas de ouro a partir do  $\text{HAuCl}_4$  como proposta através da síntese verde. As partículas produzidas apresentaram um tamanho médio de 85,6 nm e pico de absorvância de 532nm no UV-Vis como método de caracterização. A superfície da mica isolante utilizada no presente trabalho, vendida no comércio local, mostrou-se como uma excelente alternativa para deposição de materiais e visualização de amostras, a um custo extremamente baixo.

## 7. PERSPECTIVAS

A partir dos resultados obtidos e da metodologia empregada, uma gama de possibilidades de aplicação dessa ferramenta tecnológica especialmente no campo da biomedicina. O aperfeiçoamento dos métodos com grande rendimento e de baixo custo para a síntese de NPs e que seja ecologicamente viável, tanto para a saúde humana e ambiental, é um relevante desafio, pois as atuais metodologias para a produção utilizam produtos químicos, muitas vezes tóxicos, e processos de uso intensivo de energia e alto custo.

Algumas questões ainda precisam de um melhor entendimento como a cinética da reação, o comportamento e estabilidade das AuNPs quando submetidas a síntese com maior concentração de extrato e pH na faixa fisiológica, a estabilidade e manutenção das características durante um tempo de estocagem a baixas temperaturas e especialmente a realização de testes em *Trypanosoma cruzi* e determinar a concentração inibitória mínima.

Nesse sentido, o *A. occidentale* é uma boa alternativa para a produção de nanopartículas de ouro e faz parte do cenário da química verde, que é ambientalmente aceitável, e excelente candidata a várias aplicações biomédicas.

## REFERÊNCIAS

- AGOSTINI-COSTA, Tânia da Silveira *et al.* Anacardic acid content in cashew apples from *Anacardium microcarpum* and eight clones of *Anacardium occidentale* from Northeastern Brazil. **Ciência Rural**, v. 34, n. 4, p. 1075-1080, 2004.
- AHMAD, Naheed *et al.* Biosynthesis of silver nanoparticles from *Desmodium triflorum*: a novel approach towards weed utilization. **Biotechnology Research International**, v. 2011, 2011.
- AHMAD, T. *et al.* Biosynthesis, structural characterization and antimicrobial activity of gold and silver nanoparticles. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 107, p. 227–234, 2013.
- AHMED, Khan Behlol Ayaz *et al.* Preparation of gold nanoparticles using *Salicornia brachiata* plant extract and evaluation of catalytic and antibacterial activity. **Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, v. 130, p. 54-58, 2014.
- AISWARYA, G.; REZA, K. H.; RADHIKA, G.; RAHUL, G.; SIDHAYE, V. Study for anthelmintic activity of cashew Apple (*Anacardium occidentale*) extract. **International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research**, v. 6, p. 44-47, 2011.
- ALCALÁ-ALCALÁ, Sergio; QUINTANAR-GUERRERO, David. La terapia a nanoescala: ensamblaje de estructuras liberadoras de fármacos. **Mundo Nano. Revista Interdisciplinaria en Nanociencia y Nanotecnología**, v. 7, n. 12, 2014.
- ALBERNAZ, Vanessa Lima. **Síntese verde de nanopartículas de prata com extrato aquoso de folhas de *Brosimum gaudichaudii*, caracterização físicoquímica, morfológica e suas aplicações no desenvolvimento de um nanobiossensor eletroquímico**. 2014. 121 f., il. Dissertação (Mestrado em Nanociência e Nanobiotecnologia) — Universidade de Brasília, Brasília, 2014.
- ARAUJO, C. R. F.; PEREIRA, J. V.; PEREIRA, M. S. V.; ALVES, P. M.; HIGINO, J. S.; MARTINS, A. B. Concentração mínima bactericida do extrato do cajueiro sobre bactérias do biofilme dental. **Pesquisa Brasileira de Odontopediatria e Clínica Integrada**, v.9, p.187-191, 2009.
- ARMENDARIZ, Veronica *et al.* Size controlled gold nanoparticle formation by *Avena sativa* biomass: use of plants in nanobiotechnology. **Journal of Nanoparticle Research**, v. 6, n. 4, p. 377-382, 2004.
- ASHENHURST, J. **Infrared Spectroscopy: A quick primer on interpreting spectra**. Masterorganicchemistry.com. 23/11/2016. Disponível em: <[https://www.masterorganicchemistry.com/2016/11/23/quick\\_analysis\\_of\\_ir\\_spectra/](https://www.masterorganicchemistry.com/2016/11/23/quick_analysis_of_ir_spectra/)> Acessado em 20/06/2018.
- ANJUM, Sadiya *et al.* Development of novel wound care systems based on nanosilver nanohydrogels of polymethacrylic acid with Aloe vera and curcumin. **Materials Science and Engineering: C**, v. 64, p. 157-166, 2016.
- AKHTAR, M. S.; PANWAR, J.; YUN, Y.-S. Biogenic synthesis of metallic nanoparticles by plant extracts. **ACS Sustainable Chemistry & Engineering**, v. 1, n. 6, p. 591-602, 2013.

- AZZAZY, Hassan ME; MANSOUR, Mai MH; KAZMIERCZAK, Steven C. Nanodiagnosics: a new frontier for clinical laboratory medicine. **Clinical chemistry**, v. 52, n. 7, p. 1238-1246, 2006.
- BALASUBRAMANIAN, Suresh K. et al. Characterization, purification, and stability of gold nanoparticles. **Biomaterials**, v. 31, n. 34, p. 9023-9030, 2010.
- BARCELOS, G. R. M.; SHIMABUKURO F.; MACIEL, M. A. M.; CÓLUS, I. M. S. Genotoxicity and antigenotoxicity of cashew (*Anacardium occidentale* L.) in V79 cells. **Toxicology in Vitro**, v.21, p.1468-1475, 2007.
- BARRATT, G. M., Therapeutic applications of colloidal drug carriers. **Pharmaceutical Science & Technology Today**, 3, 163-171, 2000.
- BASELT, David R. *et al.* Digital signal processor control of scanned probe microscopes. **Review of scientific instruments**, v. 64, n. 7, p. 1874-1882, 1993.
- BASTÚS, Neus G. *et al.* Kinetically controlled seeded growth synthesis of citrate-stabilized gold nanoparticles of up to 200 nm: size focusing versus Ostwald ripening. **Langmuir**, v. 27, n. 17, p. 11098, 2011.
- BAHADUR, K. C. *et al.* Gold nanoparticle-based gene delivery: promises and challenges. **Nanotechnology Reviews**, v. 3, n. 3, p. 269-280, 2014.
- BAZAN, Carlos et al. Contractility assessment in enzymatically isolated cardiomyocytes. **Biophysical reviews**, v. 4, n. 3, p. 231-243, 2012.
- BENCHAAR, C. *et al.* A review of plant-derived essential oils in ruminant nutrition and production. **Animal Feed Science and Technology**, v. 145, n. 1, p. 209-228, 2008.
- BEGUM, Parvin *et al.* Zoosporicidal activities of anacardic acids against *Aphanomyces cochlioides*. **Zeitschrift für Naturforschung C**, v. 57, n. 9-10, p. 874-882, 2002.
- BINDHU, M. R.; UMADEVI, M. Antibacterial activities of green synthesized gold nanoparticles. **Materials Letters**, v.120, p.122-125, 2014.
- BHATTACHARYA, Resham; MUKHERJEE, Priyabrata. Biological properties of “naked” metal nanoparticles. **Advanced drug delivery reviews**, v. 60, n. 11, p. 1289-1306, 2008.
- BINNIG, Gerd; QUATE, Calvin F.; GERBER, Ch. Atomic force microscope. **Physical review letters**, v. 56, n. 9, p. 930, 1986.
- BOUZADA, M. L. M.; FABRI, R. L.; DUARTE, G. G.; SCIO, E. **Busca de novas drogas antimicrobianas a partir de vegetais**. Revista Principia, 11. 2007.
- BORUAH, S. K.; BORUAH, P. K.; SARMA, P.; MEDHI, C.; MEDHI, O. K. Green synthesis of gold nanoparticles using *Camellia sinensis* and kinetics of the reaction. **Advanced Materials Letters**, v.3, n.6, p.481-486, 2012.
- BURT, Sara. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods—a review. **International journal of food microbiology**, v. 94, n. 3, p. 223-253, 2004.

BRAGA, F. G.; BOUZADA, M. L. M.; FABRI, R. L.; MATOS, M. O.; MOREIRA, F.O.; SCIO, E.; COIMBRA, E. S. Antileishmanial and antifungal activity of plants used in traditional medicine in Brazil. **Journal of Ethnopharmacology**, v.111, p.396-402, 2007.

BROINIZI, Priscila Regina Bolelli *et al.* Evaluation of the antioxidant activity of phenolic compounds naturally contained in by-products of the cashew apple (*Anacardium occidentale* L.). **Food Science and Technology (Campinas)**, v. 27, n. 4, p. 902-908, 2007.

BROINIZI, Priscila Regina Bolelli *et al.* Propriedades antioxidantes em subproduto do pedúnculo de caju (*Anacardium occidentale* L.): efeito sobre a lipoperoxidação e o perfil de ácidos graxos poliinsaturados em ratos. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 44, n. 4, p. 773-781, 2008.

BROWN, Kenneth R.; NATAN, Michael J. Hydroxylamine seeding of colloidal Au nanoparticles in solution and on surfaces. **Langmuir**, v. 14, n. 4, p. 726-728, 1998.

BRUST, Mathias *et al.* Synthesis of thiol-derivatised gold nanoparticles in a two-phase liquid-liquid system. **Journal of the Chemical Society, Chemical Communications**, n. 7, p. 801-802, 1994.

CASTRO, Laura *et al.* Extracellular biosynthesis of gold nanoparticles using sugar beet pulp. **Chemical Engineering Journal**, v. 164, n. 1, p. 92-97, 2010.

CAUERHFF, Ana; CASTRO, Guillermo R. Bionanoparticles, a green nanochemistry approach. **Electronic Journal of Biotechnology**, v. 16, n. 3, p. 11-11, 2013.

CESARANO, Joseph; AKSAY, Ilhan A.; BLEIER, Alan. Stability of Aqueous  $\alpha$ -Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> Suspensions with Poly (methacrylic acid) Polyelectrolyte. **Journal of the American Ceramic Society**, v. 71, n. 4, p. 250-255, 1988.

CHAUDHURI, R. G.; PARIA, S. Core/shell nanoparticles: classes, properties, synthesis mechanisms, characterization, and applications. **Chemical Reviews**, v. 112, n. 4, p. 2373-433, 2012.

CHAU, C-F.; WU, S-H.; YEN, G-C. The development of regulations for food nanotechnology. **Trends in Food Science & Technology**, Amsterdam, v. 18, n. 5, p. 269-280, 2007.

CHAN, Juliana M. *et al.* PLGA-*lecithin*-PEG core-shell nanoparticles for controlled drug delivery. **Biomaterials**, v. 30, n. 8, p. 1627-1634, 2009.

CHANDRAN, S. Prathap *et al.* Synthesis of gold nanotriangles and silver nanoparticles using *Aloe vera* plant extract. **Biotechnology progress**, v. 22, n. 2, p. 577-583, 2006.

CHAVES, Mariana H. *et al.* Total phenolics, antioxidant activity and chemical constituents from extracts of *Anacardium occidentale* L., Anacardiaceae. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 20, n. 1, p. 106-112, 2010.

DAHAKA, Akash P. et al. Antimicrobial screening of different extract of *Anacardium occidentale* Linn. leaves. **International Journal of ChemTech Research**, v. 1, n. 4, p. 856-858, 2009.

DARWICH, Samer et al. Manipulation of gold colloidal nanoparticles with atomic force microscopy in dynamic mode: influence of particle–substrate chemistry and morphology, and of operating conditions. **Beilstein journal of nanotechnology**, v. 2, p. 85, 2011.

DAI, Liming; MAU, Albert WH. Controlled synthesis and modification of carbon nanotubes and C60: carbon nanostructures for advanced polymeric composite materials. **Advanced Materials**, v. 13, n. 12-13, p. 899-913, 2001.

DAVIS L, Stonehouse W, Loots du T, Mukuddem-Petersen J, van der Westhuizen FH, Hanekom SM, Jerling JC. The effects of high walnut and cashew nut diets on the antioxidant status of subjects with metabolic syndrome. **European Journal of Nutrition**, v. 46, n. 3, p. 155-164, 2007.

DI GIUSEPPE, A. **Metrology and Physical Constants**. IOS Press, 2013.

DWIVEDI, Amarendra Dhar; GOPAL, Krishna. Biosynthesis of silver and gold nanoparticles using *Chenopodium album* leaf extract. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v. 369, n. 1-3, p. 27-33, 2010.

DWIVEDI, A. D.; GOPAL, K. Plant-mediated biosynthesis of silver and gold nanoparticles. **Journal of Biomedicine and Nanotechnology**, v. 7, n. 1, p. 163-164, 2011.

DOS SANTOS, Teresinha de Jesus Aguiar *et al.* Antioxidant properties and chemical composition of technical Cashew Nut Shell Liquid (tCNSL). **Food Chemistry**, v. 126, n. 3, p. 1044-1048, 2011.

DUBEY, M.; BHADARIA, S.; KUSHWAH, B. S. Green synthesis of nanosilver particles from extract of *Eucalyptus hibrida* (safeda) leaf. **Digest Journal of Nanomaterials and Biostructures**, v. 4, n. 3, p. 537-543, 2009.

ELAVAZHAGAN, Tamizhamudu; ARUNACHALAM, Kantha D. Memecylon edule leaf extract mediated green synthesis of silver and gold nanoparticles. **International Journal of Nanomedicine**, v. 6, p. 1265, 2011.

EASTOE, Julian; HOLLAMBY, Martin J.; HUDSON, Laura. Recent advances in nanoparticle synthesis with reversed micelles. **Advances in colloid and interface science**, v. 128, p. 5-15, 2006

EUSTIS, Susie; EL-SAYED, Mostafa A. Why gold nanoparticles are more precious than pretty gold: noble metal surface plasmon resonance and its enhancement of the radiative and nonradiative properties of nanocrystals of different shapes. **Chemical society reviews**, v. 35, n. 3, p. 209-217, 2006.

FAROOQUI, M. A. *et al.* Extraction of silver nanoparticles from the leaf extracts of *Clerodendrum inerme*. **Digest Journal of Nanomaterials and Biostructures**, v. 5, n. 1, p. 43-49, 2010.

FERREIRA, Virgínia Clara Teixeira. **Polímeros condutores e monocamadas auto-montadas na concepção de novas arquiteturas contendo nanopartículas metálicas:** preparação, caracterização e desempenho para electrocatálise e biosensores. 2011 221f. Tese (Doutorado em Química) – Faculdade de Ciências, Universidade de Lisboa, Portugal.

FLORÊNCIO, Alexandra Patrícia de S. Estudo da atividade anti-tumoral do polissacarídeo (pju) extraído de *Anacardium occidentale* frente a um modelo experimental do sarcoma 180. **Revista Eletrônica de Farmácia**, v. 4, n. 1, 2007.

FIGUEROLA, Albert et al. From iron oxide nanoparticles towards advanced iron-based inorganic materials designed for biomedical applications. **Pharmacological Research**, v. 62, n. 2, p. 126-143, 2010.

FONTES, Adriana Machado. **“Biotemplates” para automontagem de nanopartículas de ouro: buscando inspiração na natureza para sintetizar estruturas complexas.** 2012.108f.: Dissertação (Mestrado em Física) - Instituto de Ciências Exatas, Universidade Federal da Bahia, Salvador.

FREESTONE, Ian et al. The Lycurgus cup—a roman nanotechnology. **Gold bulletin**, v. 40, n. 4, p. 270-277, 2007.

FRÉCHET, Jean MJ. Dendrimers and supramolecular chemistry. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 99, n. 8, p. 4782-4787, 2002.

FUJITA, G. T. BDRA-26-Caju, intenso caju. **Revista Terra da Gente**. Janeiro 2008.

GADE, Aniket *et al.* Biofabrication of silver nanoparticles by *Opuntia ficus-indica*: in vitro antibacterial activity and study of the mechanism involved in the synthesis. **Current Nanoscience**, v. 6, n. 4, p. 370-375, 2010.

GANTA, Srinivas *et al.* A review of stimuli-responsive nanocarriers for drug and gene delivery. **Journal of Controlled Release**, v. 126, n. 3, p. 187-204, 2008.

GARCIA, Marcus Vinicius Dias. **Síntese, caracterização e estabilização de nanopartículas de prata para aplicações bactericidas em têxteis.** 2011 86f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) Faculdade de Engenharia Química, Universidade Estadual de Campinas, Campinas-SP: [s.n.], 2011.

GASIOREK, Friederike *et al.* Effects of multivalent histamine supported on gold nanoparticles: activation of histamine receptors by derivatized histamine at subnanomolar concentrations. **Organic & biomolecular chemistry**, v. 13, n. 39, p. 9984-9992, 2015.

GEORGIEV, Peter *et al.* Implementing atomic force microscopy (AFM) for studying kinetics of gold nanoparticle's growth. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v. 434, p. 154-163, 2013.

GENTRY, James W. The legacy of John Tyndall in aerosol science. **Journal of aerosol science**, v. 28, n. 8, p. 1365-1372, 1997.



GONÇALVES, J. L. S. et al. In vitro anti-rotavirus activity of some medicinal plants used in Brazil against diarrhea. **Journal of ethnopharmacology**, v. 99, n. 3, p. 403-407, 2005.

GORUP, Luiz Fernando. **Gold and silver colloidal nanoparticles and their functionalization with dibutyl-dichalcogenides**. 2010. 142 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Exatas e da Terra) - Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 2010.

GORUP, Luiz Fernando. **Hybrid materials obtained in the adsorption of metal nanoparticles on surface of micellar fungi by effect biotemplate**. 2014. 85 f. Tese (Doutorado em Ciências Exatas e da Terra) - Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 2014.

GHODAKE, G. S. et al. Pear fruit extract-assisted room-temperature biosynthesis of gold nanoplates. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 75, n. 2, p. 584-589, 2010

GOVINDARAJU, K. *et al.* Biogenic silver nanoparticles by *Solanum torvum* and their promising antimicrobial activity. **Journal of Biopesticides**, v. 3, n. 1, p. 394-399, 2010.

GUO, Peixuan; WEI, Chiming. Quantum dots for robust and simple assays using single particles in nanodevices. **Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine**, v. 1, n. 2, p. 122-124, 2005.

HAMOUDEH, Misara *et al.* Radionuclides delivery systems for nuclear imaging and radiotherapy of cancer. **Advanced drug delivery reviews**, v. 60, n. 12, p. 1329-1346, 2008.

HANG, Jianzhong *et al.* Electrostatic and electrosteric stabilization of aqueous suspensions of barite nanoparticles. **Powder Technology**, v. 192, n. 2, p. 166-170, 2009.

HARRISON P. **Emerging challenges: nanotechnology and the environment**. GEO Year Book. United Nations Environment Programme (UNEP), Nairobi, Kenya. ISBN978-92-807-2768-9. 2007.

HERBST, Marcelo Hawrylak; MACÊDO, Maria Iaponeide Fernandes; ROCCO, Ana Maria. Tecnologia dos nanotubos de carbono: tendências e perspectivas de uma área multidisciplinar. **Química Nova**, v. 27, n. 6, p. 986-992, 2004.

HICKS, Jocelyn F.; MILES, Deon T.; MURRAY, Royce W. Quantized double-layer charging of highly monodisperse metal nanoparticles. **Journal of the American Chemical Society**, v. 124, n. 44, p. 13322-13328, 2002.

HILDEBRAND, D. F.; HAMILTON-KEMP, T. R.; LEGG, C. S.; BOOKJANS, G. Plant lipoxygenase: occurrence, properties and possible functions. *Curr. Top. Plants Biochem. Physiol.*, v.7, p.201-219, 1988.

HORN, Dieter; RIEGER, Jens. Organic nanoparticles in the aqueous phase—theory, experiment, and use. **Angewandte Chemie International Edition**, v. 40, n. 23, p. 4330-4361, 2001.

HUANG, Jiale *et al.* Biosynthesis of silver and gold nanoparticles by novel sundried *Cinnamomum camphora* leaf. **Nanotechnology**, v. 18, n. 10, p. 105104, 2007.

- IRAVANI, Siavash. Green synthesis of metal nanoparticles using plants. **Green Chemistry**, v. 13, n. 10, p. 2638-2650, 2011.
- JAIN, Prashant K.; EL-SAYED, Ivan H.; EL-SAYED, Mostafa A. Au nanoparticles target cancer. **Nano today**, v. 2, n. 1, p. 18-29, 2007.
- JANDT, Klaus D. Developments and perspectives of scanning probe microscopy (SPM) on organic materials systems. **Materials Science and Engineering: R: Reports**, v. 21, n. 5-6, p. 221-295, 1998.
- JAYASEELAN, C.; RAHUMAN, A. A. Acaricidal efficacy of synthesized silver nanoparticles using aqueous leaf extract of *Ocimum canum* against *Hyalomma anatolicum* and *Hyalomma marginatum isaaci* (Acari: Ixodidae). **Parasitology Research**, v. 111, n. 3, p. 1369-1378, 2012.
- Ji, Xiaohui et al. Size control of gold nanocrystals in citrate reduction: the third role of citrate. **Journal of the American Chemical Society**, v. 129, n. 45, p. 13939-13948, 2007.
- KASTHURI, J.; KATHIRAVAN, K.; RAJENDIRAN, N. Phyllanthin-assisted biosynthesis of silver and gold nanoparticles: a novel biological approach. **Journal of Nanoparticle Research**, v. 11, n. 5, p. 1075-1085, 2009.
- KANNAN, V. Rajesh et al. Elementary chemical profiling and antifungal properties of cashew (*Anacardium occidentale* L.) nuts. **Botany Research International**, v. 2, n. 4, p. 253-257, 2009.
- KUBO, Isao et al. Antitumor agents from the cashew (*Anacardium occidentale*) apple juice. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 41, n. 6, p. 1012-1015, 1993.
- KUBO, I.; MUROI, H.; KUBO A. Naturally occurring antiacne agents. **Journal of Natural Products**, v.57, p.9-17, 1994.
- KUBO, Isao; NIHEI, Ken-ichi; TSUJIMOTO, Kazuo. Antibacterial action of anacardic acids against methicillin resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 51, n. 26, p. 7624-7628, 2003.
- KONAN, N. A.; BACCHI, E. M. Antiulcerogenic effect and acute toxicity of a hydroethanolic extract from the cashew (*Anacardium occidentale* L.) leaves. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 112, p.237-242, 2007.
- KOZUBEK, A. *et al.* Natural amphiphilic phenols as bioactive compounds. **Cellular and Molecular Biology Letters**, v. 6, n. 2A, p. 351-355, 2001.
- KUMAR, Vineet; YADAV, Sudesh Kumar. Plant-mediated synthesis of silver and gold nanoparticles and their applications. **Journal of chemical Technology and Biotechnology**, v. 84, n. 2, p. 151-157, 2009.
- KUMAR, Anil; SINGHAL, Aditi. Synthesis of colloidal silver iron oxide nanoparticles—study of their optical and magnetic behavior. **Nanotechnology**, v. 20, n. 29, p. 295606, 2009.

KUMAR, V.; YADAV, S. C.; YADAV, S. K. Syzygium cumini leaf and seed extract mediated biosynthesis of silver nanoparticles and their characterization. **Journal of Chemical Technology & Biotechnology**, v. 85, n. 10, p. 1301-1309, 2010.

LAURENS, A.; BEZOT, J.; DELORME, C. Activité molluscicide de l'*Anacardium occidentale* L. (Anacardiaceae). In: **Annales pharmaceutiques françaises**. Masson, 1987. p. 471-473.

LAMER, Victor K.; DINEGAR, Robert H. Theory, production and mechanism of formation of monodispersed hydrosols. **Journal of the American Chemical Society**, v. 72, n. 11, p. 4847-4854, 1950.

LEE, Gaehang et al. Synthesis and assembly of anisotropic nanoparticles. **Korean Journal of Chemical Engineering**, v. 28, n. 8, p. 1641, 2011.

LEHN, Jean-Marie. Supramolecular chemistry scope and perspectives molecules, supermolecules, and molecular devices (Nobel Lecture). **Angewandte Chemie International Edition in English**, v. 27, n. 1, p. 89-112, 1988.

LIMA, Carlos Alberto de A.; PASTORE, Gláucia Maria; LIMA, Eliza Dorotea Pozzobon de A. Study of the antibacterial activity of anacardic acids from the cashew *Anacardium occidentale* nut shell oil of the clone of cashew-midget-precocious CCP-76 and and CCP-09 in five stages of maturation on oral microorganisms. **Food Science and Technology (Campinas)**, v. 20, n. 3, p. 358-362, 2000.

LINDON, John C.; TRANTER, George E.; KOPPENAAL, David. **Encyclopedia of spectroscopy and spectrometry**. Academic Press, 2016.

LIZ-MARZÁN, Luis M. Nanometals: formation and color. **Materials today**, v. 7, n. 2, p. 26-31, 2004.

LOO, Yuet Ying *et al.* Synthesis of silver nanoparticles by using tea leaf extract from *Camellia sinensis*. **Int J Nanomedicine**, v. 7, p. 4263-4267, 2012.

LOOS, M. R. **NANOCIÊNCIA E NANOTECNOLOGIA: Compósitos Termofixos Reforçados com Nanotubos de Carbono**. Editora Interciência RJ 978-3941492257, 300 páginas, ISBN: 9788571933194 1ª Ed. 2014.

MAHL, Dirk et al. Possibilities and limitations of different analytical methods for the size determination of a bimodal dispersion of metallic nanoparticles. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v. 377, n. 1-3, p. 386-392, 2011.

MALIKOVA, Natalie et al. Layer-by-layer assembled mixed spherical and planar gold nanoparticles: control of interparticle interactions. **Langmuir**, v. 18, n. 9, p. 3694-3697, 2002.

MARIN, Eder Prodossimo. **Espectroscopia de infravermelho e suas aplicações**. 2013. 73 f. Trabalho de conclusão de curso (bacharelado - Física) - Universidade Estadual Paulista, Instituto de Geociências e Ciências Exatas, 2013.

MELO, A.F.M., **Estudo galênico de formas plásticas (gel e creme) do extrato bruto de *Anacardium occidentale* L.** 2002. 105f. Dissertação de Mestrado – Universidade Federal de Pernambuco – UFPE, Recife, 2002.

- MELO, D.F.de; LIMA, M. da G.S.; NOGUEIRA, F.D.L. Manejo na Pós Colheita Melhora a Conservação de Frutas Tropicais. **Pesquisas FUNCAP – Revista de Ciência e Tecnologia** – v. 2, p. 16 e 17, 2001.
- MELO JR, Maurício Alves *et al.* Preparation of silver and gold nanoparticles: a simple method to introduce nanotechnology into teaching laboratories. **Química Nova**, v. 35, n. 9, p. 1872-1878, 2012.
- MELO-CAVALCANTE, A. A.; PICADA, J. N.; RUBENSAM, G.; HENRIQUES, A. P. Antimutagenic activity of cashew apple (*Anacardium occidentale* Sapindales, Anacardiaceae) fresh juice and processed juice (cajuína) against methyl methanesulfonate, 4-nitroquinoline N-oxide and benzo[a]pyrene. **Genetics and Molecular Biology**, v.31, p.759-766, 2008.
- MIGUEL, Carla Sofia Caseiro. **Síntese e caracterização de nanopartículas FeO<sub>x</sub>/Au/Ag em multicamada núcleo-concha**. 2013. 169f. Tese de Doutorado (Bioquímica Aplicada) - Centro de Competência de Ciências Exatas e da Engenharia. Universidade da Madeira, Funchal, Portugal.
- MITTAL, Amit Kumar; CHISTI, Yusuf; BANERJEE, Uttam Chand. Synthesis of metallic nanoparticles using plant extracts. **Biotechnology advances**, v. 31, n. 2, p. 346-356, 2013.
- MODY, Vicky V. et al. Introduction to metallic nanoparticles. **Journal of Pharmacy and Bioallied Sciences**, v. 2, n. 4, p. 282, 2010.
- MOGERMAN, W. D. Faraday's lecture on gold. **Gold Bulletin**, v. 7, n. 1, p. 22-24, 1974.
- MORTON, Julia Frances *et al.* **Fruits of warm climates**. JF Morton, 1987.
- MORAIS, Talita C. et al. Protective effect of anacardic acids from cashew (*Anacardium occidentale*) on ethanol-induced gastric damage in mice. **Chemico-biological interactions**, v. 183, n. 1, p. 264-269, 2010.
- MORRIS, V.J.; KIRBY, A.R.; GUNNING, A.P. **Atomic force microscopy for biologists**, second edition, Imperial College Press, London, 2001
- MOUT, Rubul *et al.* Surface functionalization of nanoparticles for nanomedicine. **Chemical Society Reviews**, v. 41, n. 7, p. 2539-2544, 2012.
- MÜLLER D, AMREIN M, ENGEL A. Adsorption of Biological Molecules to a Solid Support for Scanning Probe Microscopy. **J. of Struct. Biology** 1997 119:172-188.
- MUROI, Hisae; KUBO, Isao. Bactericidal activity of anacardic acids against *Streptococcus mutans* and their potentiation. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 41, n. 10, p. 1780-1783, 1993.
- MURTHY, K. N. C.; SINGH, R. P.; JAYAPRAKASHA, G. K. Antioxidant activity of grape (*Vitis vinifera*) pomace extracts. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 50, n.21, p. 5909–5914, 2002.
- MYROSHNYCHENKO, Viktor *et al.* Modelling the optical response of gold nanoparticles. **Chemical Society Reviews**, v. 37, n. 9, p. 1792-1805, 2008.

- NABIKHAN, A. *et al.* Synthesis of antimicrobial silver nanoparticles by callus and leaf extracts from saltmarsh plant, *Sesuvium portulacastrum* L. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 79, n. 2, p. 488-493, 2010.
- NARAYANAN, K. Badri; SAKTHIVEL, N. Coriander leaf mediated biosynthesis of gold nanoparticles. **Materials Letters**, v. 62, n. 30, p. 4588-4590, 2008.
- NEVES, B. R. A.; VILELA, J. M. C.; ANDRADE, M. S. Scanning probe microscopy: an introduction. **Cerâmica**, v. 44, n. 290, p. 212-219, 1998.
- NETHRADEVI, Chandran; SIVAKUMAR, Padmanaban; RENGANATHAN, Sahadevan. Green synthesis of silver nanoparticles using *Datura metel* flower extract and evaluation of their antimicrobial activity. **International Journal of Nanomaterials and Biostructures**, v. 2, n. 2, p. 16-21, 2012.
- NOVOA, Aléxis Jesús Vidal *et al.* Avaliação da atividade antioxidante dos compostos fenólicos naturalmente presentes em subprodutos do pseudofruto de caju (*Anacardium occidentale* L.). **Ciênc. Tecnol. Aliment**, v. 27, n. 4, p. 902-908, 2007.
- OFUSORI, D. A. *et al.* Microstructural Study of the Effect of ethanolic extract of Cashew stem bark *Anacardium occidentale* on the Brain and Kidney of Swiss albino mice. **Internet. J. Alt. Med**, v. 5, n. 2, 2008.
- OLIVEIRA, Micheline Soares Costa *et al.* Antioxidant, larvicidal and antiacetylcholinesterase activities of cashew nut shell liquid constituents. **Acta Tropica**, v. 117, n. 3, p. 165-170, 2011.
- PAGE, Katharine *et al.* Direct observation of the structure of gold nanoparticles by total scattering powder neutron diffraction. **Chemical physics letters**, v. 393, n. 4, p. 385-388, 2004.
- PAL, R. *et al.* Characterization of citrate capped gold nanoparticle-quercetin complex: Experimental and quantum chemical approach. **Journal of Molecular Structure**, v. 1046, p. 153-163, 2013.
- PEREIRA, Junia M., *et al.* Anacardic acid derivatives as inhibitors of glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase from *Trypanosoma cruzi*, **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v. 16, p. 8889-8895, 2008.
- PEREIRA, M. K. **Ressonância de Plasmon de Superfície Localizado e Espalhamento Raman em Soluções Coloidais de Ouro**, 2009. 108f. 2009. Dissertação (Mestrado em Física), Instituto de Física da UFRGS, Porto Alegre.
- PERTINARI, R.A.; TARSITANO, M.A.A. Comercialização de caju in natura na região noroeste do estado de São Paulo. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.24, n.3, p.697-699, 2002.
- PHILIP, Daizy. Biosynthesis of Au, Ag and Au–Ag nanoparticles using edible mushroom extract. **Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, v. 73, n. 2, p. 374-381, 2009.

PHILIP, Daizy. Green synthesis of gold and silver nanoparticles using *Hibiscus rosa sinensis*. **Physica E: Low-Dimensional Systems and Nanostructures**, v. 42, n. 5, p. 1417-1424, 2010.

PHILIP, Daizy et al. *Murraya koenigii* leaf-assisted rapid green synthesis of silver and gold nanoparticles. **Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, v. 78, n. 2, p. 899-904, 2011.

PINHEIRO, Analia Maria. **Desenvolvimento de néctares mistos à base de caju (*Anacardium occidentale* L) e açaí (*Euterpe oleracea* Mart.)**. 2008. 75 f.: Dissertação (mestrado) - Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências Agrárias, Departamento de Tecnologia de Alimentos, Fortaleza-CE, 2008.

PITARKE, J. M. *et al.* Surface plasmons in metallic structures. **Journal of Optics A: Pure and Applied Optics**, v. 7, n. 2, p. S73, 2005.

PORTO, Karla Rejane de Andrade et al. Larvicidal activity of *Anacardium humile* Saint Hill oil on *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762) (Diptera, Culicidae). **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 41, n. 6, p. 586-589, 2008.

PRADO, A. R. *et al.* Comparison between the synthesis of gold nanoparticles with sodium citrate and sodium tetraborate. **BMC Proceedings**, v. 8, n. Suppl 4, p. P252, 2014.

QUELEMES, Patrick V. *et al.* Development and antibacterial activity of cashew gum-based silver nanoparticles. **International journal of molecular sciences**, v. 14, n. 3, p. 4969-4981, 2013.

RAI, Mahendra. Nanobiotecnologia verde: biossínteses de nanopartículas metálicas e suas aplicações como nanoantimicrobianos. **Ciência e Cultura**, v. 65, n. 3, p. 44-48, 2013.

RAGHUNANDAN, Deshpande et al. Rapid biosynthesis of irregular shaped gold nanoparticles from macerated aqueous extracellular dried clove buds (*Syzygium aromaticum*) solution. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 79, n. 1, p. 235-240, 2010.

RAJA, K.; SARAVANAKUMAR, A.; VIJAYAKUMAR, R. Efficient synthesis of silver nanoparticles from *Prosopis juliflora* leaf extract and its antimicrobial activity using sewage. **Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, v. 97, p. 490-494, 2012.

RAVEENDRAN, Poovathinthodiyil; FU, Jie; WALLEN, Scott L. A simple and “green” method for the synthesis of Au, Ag, and Au–Ag alloy nanoparticles. **Green Chemistry**, v. 8, n. 1, p. 34-38, 2006.

RAWAT, R. S. Dense Plasma Focus-From Alternative Fusion Source to Versatile High Energy Density Plasma Source for Plasma Nanotechnology. In: **Journal of Physics: Conference Series**. IOP Publishing, 2015. p. 012021.

RIBEIRO, Nara Calaça. **Caracterização química e de atividade biológica de *Anacardium microcarpum* Ducke e *Anacardium occidentale* L. (ANACARDIACEAE) no estado do Piauí, Brasil**. 2016. 64 f. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) – Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia, Universidade Federal do Piauí, Parnaíba

ROUCOUX, Alain; SCHULZ, Jürgen; PATIN, Henri. Reduced transition metal colloids: a novel family of reusable catalysts? **Chemical reviews**, v. 102, n. 10, p. 3757-3778, 2002.

RONCONI, Célia M. *et al.* Polyviologen Dendrimers as Hosts and Charge-Storing Devices. **Chemistry—A European Journal**, v. 14, n. 27, p. 8365-8373, 2008.

ROSS D, Moldeus P., **Antioxidant defense systems and oxidative stress**. In Vigo-Pelfrey C: Membrane lipid oxidation. 1th ed. Boca Raton, CRC Press., 54, 151-170, 1991.

RUNNIE, I. *et al.* Vasorelaxation induced by common edible tropical plant extracts in isolated rat aorta and mesenteric vascular bed. **Journal of ethnopharmacology**, v. 92, n. 2, p. 311-316, 2004.

SADEGHI, Babak; MOHAMMADZADEH, M.; BABAKHANI, B. Green synthesis of gold nanoparticles using Stevia rebaudiana leaf extracts: characterization and their stability. **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology**, v. 148, p. 101-106, 2015.

SHAH, Monic *et al.* Gold nanoparticles: various methods of synthesis and antibacterial applications. **Front Biosci (Landmark Ed)**, v. 19, p. 1320-1344, 2014.

SAHOO, S. K.; PARVEEN, S.; PANDA, J. J. The present and future of nanotechnology in human health care. **Nanomedicine: Nanotechnology, Biology, and Medicine**, Oxford, v. 3, n. 1, p. 20-31, 2007.

SANCHEZ, Clément *et al.* Applications of hybrid organic–inorganic nanocomposites. **Journal of Materials Chemistry**, v. 15, n. 35-36, p. 3559-3592, 2005.

SANTOS, Ricardo Pires dos. **Aproveitamento de resíduos e microscopia de força atômica em materiais biológicos**. 2007. 308 f. Tese (Doutorado em Física) - Programa de Pós-Graduação em Física, Departamento de Física, Centro de Ciências, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza.

SANTOS, Ricardo Pires dos. *et al.* Production and characterization of the cashew (*Anacardium occidentale* L.) peduncle bagasse ashes. **Journal of Food Engineering**, v. 79, n. 4, p. 1432-1437, 2007.

SANTOS, Francianne Oliveira. **Atividades biológicas de *Anacardium occidentale* (Linn)**. 2011.57 f. Dissertação de Mestrado, Sistemas Agrossilvipastoris no Semi-árido, Universidade Federal de Campinas, Patos, Paraíba.

SATHISHKUMAR, M. *et al.* Cinnamon zeylanicum bark extract and powder mediated green synthesis of nano-crystalline silver particles and its bactericidal activity. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 73, n. 2, p. 332-8, 2009.

SAXENA, Antariksh; TRIPATHI, R. M.; SINGH, R. P. Biological synthesis of silver nanoparticles by using onion (*Allium cepa*) extract and their antibacterial activity. **Dig J Nanomater Bios**, v. 5, n. 2, p. 427-432, 2010.

SHANKAR, S. Shiv *et al.* Bioreduction of chloroaurate ions by geranium leaves and its endophytic fungus yields gold nanoparticles of different shapes. **Journal of Materials Chemistry**, v. 13, n. 7, p. 1822-1826, 2003.

SHANKAR, S. S. *et al.* Rapid synthesis of Au, Ag, and bimetallic Au core-Ag shell nanoparticles using Neem (*Azadirachta indica*) leaf broth. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 275, n. 2, p. 496-502, 2004.

SHANKAR, S. Shiv *et al.* Biological synthesis of triangular gold nanoparticles. **Nature materials**, v. 3, n. 7, p. 482, 2004.

SHENY, D. S.; MATHEW, Joseph; PHILIP, Daizy. Phytosynthesis of Au, Ag and Au–Ag bimetallic nanoparticles using aqueous extract and dried leaf of *Anacardium occidentale*. **Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, v. 79, n. 1, p. 254-262, 2011.

SHENY, D. S.; PHILIP, Daizy; MATHEW, Joseph. Rapid green synthesis of palladium nanoparticles using the dried leaf of *Anacardium occidentale*. **Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, v. 91, p. 35-38, 2012.

SHENY, D. S.; PHILIP, Daizy; MATHEW, Joseph. Synthesis of platinum nanoparticles using dried *Anacardium occidentale* leaf and its catalytic and thermal applications. **Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, v. 114, p. 267-271, 2013.

SKOOG, D. A. *et al.* **Analytical chemistry: an introduction.**, 7th ed. (Saunders College Publishing: Philadelphia). 2000.

SILVA, Jackeline G. da *et al.* Antimicrobial activity of the hydroalcoholic extract of *Anacardium occidentale* Linn. against multi-drug resistant strains of *Staphylococcus aureus*. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 17, n. 4, p. 572-577, 2007.

SILVA, Rubenice Amaral da. **ANTIMICROBIAL ACTION *Anacardium Occidentale* L.: biotechnological potential in the generation of anti-caries products.** 2012. 154 f. Tese (Doutorado em Fertilização) - Universidade Federal do Maranhão, São Luís, 2012.

SILVA, L. P. Nanopartículas verdes: Plantas do cerrado são usadas na produção de nanossistemas para controle de patógenos e pragas da agricultura, entre outras aplicações. **Pesquisa FAPESP**, São Paulo (SP), edição 223, 70-73p, 2014.

SILVA, T. A.; GUERRA, R. N. M. **Processo para obtenção de flores de *Anacardium occidentale* L. (cajuero), extrato hidro-alcóolico, liofilizado, seco por atomização, chá, suas composições farmacêuticas e uso terapêutico.** 2009. Disponível em: <[http://revista.inpi.gov.br/INPI\\_UPLOAD/Revistas/PATENTES2085.pdf](http://revista.inpi.gov.br/INPI_UPLOAD/Revistas/PATENTES2085.pdf)> pag 100. Acesso em 10/12/2017.

SINGH, Ashwani Kumar *et al.* Biosynthesis of gold and silver nanoparticles by natural precursor clove and their functionalization with amine group. **Journal of Nanoparticle Research**, v. 12, n. 5, p. 1667-1675, 2010.

SINGH, Ashwani Kumar; SRIVASTAVA, O. N. One-step green synthesis of gold nanoparticles using black cardamom and effect of pH on its synthesis. **Nanoscale research letters**, v. 10, n. 1, p. 353, 2015.

SOARES, Leonor Ricardo Pereira Dias. **Nanopartículas de ouro anisométricas como nanossondas para a identificação do polimorfismo de DNA associado à Intolerância à**



**Lactose**. 2016. 246f. Tese (Doutorado em Química Sustentável) - Faculdade de Ciências e Tecnologia, Universidade Nova de Lisboa, Portugal.

SOUZA, C. P. et al. O uso da casca da castanha do caju, *Anacardium occidentale*, como moluscicida alternativo. **Revista do Instituto de Medicina Tropical**, v. 34, p.459-466, 1992.

SOUZA, Alessandra de Albuquerque T.; MARIA DO SOCORRO, V.; HIGINO, Jane S. Atividade antimicrobiana in vitro do extrato de *Anacardium occidentale* L. sobre espécies de *Streptococcus*. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, v. 16, n. 2, p. 202-205, 2006.

SPERLING, Ralph A. *et al.* Biological applications of gold nanoparticles. **Chemical Society Reviews**, v. 37, n. 9, p. 1896-1908, 2008.

TOMA, Henrique E.; DA SBONIFACIO, L.; ANAISSI, Fauze J. Da cor à cor inexistente: uma reflexão sobre espectros eletrônicos e efeitos cromáticos. **Química Nova**, v. 28, n. 5, p. 897, 2005.

TORQUATO, D. S.; FERREIRA, M. L.; SÁ, G. C.; BRITO, E. S.; PINTO, G. A. S.; AZEVEDO E. H. F. Evaluation of antimicrobial activity of cashew tree gum. **World Journal of Microbiology & Biotechnology**, v.20, p.505-507, 2004.

TRABULSI FILHO, Farid Antônio *et al.* Estudo de padronização de extratos de *Anacardium occidentale* L. na pesquisa e desenvolvimento de fitoterápicos giardicidas. **Cadernos de Pesquisa**, 2013.

TURKEVICH, John; STEVENSON, Peter Cooper; HILLIER, James. A study of the nucleation and growth processes in the synthesis of colloidal gold. **Discussions of the Faraday Society**, v. 11, p. 55-75, 1951.

THURMAN J.M. Triggers of inflammation after renal ischemia/reperfusion. **Clinical Immunology** 123: 7–13, 2007.

USHANANDINI, Sampath et al. The anti-ophidian properties of *Anacardium occidentale* bark extract. **Immunopharmacology and immunotoxicology**, v. 31, n. 4, p. 607-615, 2009.

VANDERLINDE, Frederico Argollo *et al.* Evaluation of the antinociceptive and anti-inflammatory effects of the acetone extract from *Anacardium occidentale* L. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 45, n. 3, p. 437-442, 2009.

VIJAYARAGHAVAN, K. *et al.* One step green synthesis of silver nano/microparticles using extracts of *Trachyspermum ammi* and *Papaver somniferum*. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 94, p. 114-117, 2012.

VIDHU, V. K.; AROMAL, S. Aswathy; PHILIP, Daizy. Green synthesis of silver nanoparticles using *Macrotyloma uniflorum*. **Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, v. 83, n. 1, p. 392-397, 2011.

WANG, Hua *et al.* A protein A-based orientation-controlled immobilization strategy for antibodies using nanometer-sized gold particles and plasma-polymerized film. **Analytical biochemistry**, v. 324, n. 2, p. 219-226, 2004.

WONG, Ho Lun *et al.* Chemotherapy with anticancer drugs encapsulated in solid lipid nanoparticles. **Advanced drug delivery reviews**, v. 59, n. 6, p. 491-504, 2007.

XIA, Younan *et al.* Shape-Controlled synthesis of metal nanocrystals: simple chemistry meets complex physics? **Angewandte Chemie International Edition**, v. 48, n. 1, p. 60-103, 2009.

YEH, Hsin-Chih; HO, Yi-Ping; WANG, Tza-Huei. Quantum dot-mediated biosensing assays for specific nucleic acid detection. **Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine**, v. 1, n. 2, p. 115-121, 2005.

ZANCHET, Daniela; HALL, Blair D.; UGARTE, Daniel. X-ray Characterization of Nanoparticles. **Characterization of nanophase materials**, p. 13-36, 2000.