



UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA DE PESCA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOTECNOLOGIA DE RECURSOS
NATURAIS

CIRO SIQUEIRA FIGUEIRA

FITOSSÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DE NANOPARTÍCULAS DE OURO
SINTETIZADAS COM EXTRATO AQUOSO DE *Anacardium occidentale* E
AVALIAÇÃO DO SEU EFEITO ANTIBACTERIANO

FORTALEZA

2023

CIRO SIQUEIRA FIGUEIRA

FITOSSÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DE NANOPARTÍCULAS DE OURO
SINTETIZADAS COM EXTRATO AQUOSO DE *Anacardium occidentale* E AVALIAÇÃO
DO SEU EFEITO ANTIBACTERIANO

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia de Recursos Naturais da Universidade Federal do Ceará, *Campus* do Pici, como pré-requisito obrigatório para obtenção do título de doutor em Biotecnologia. Área de concentração: Aplicação biotecnológica de moléculas biologicamente ativas.

Orientador: Prof. Dr. Ricardo Pires dos Santos.

FORTALEZA

2023

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

- F485f Figueira, Ciro Siqueira.
Fitossíntese e caracterização de nanopartículas de ouro sintetizadas com extrato aquoso de *Anacardium occidentale* e avaliação do seu efeito antibacteriano. / Ciro Siqueira Figueira. – 2023.
105 f. : il. color.
- Tese (doutorado) – Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia de Recursos Naturais, Fortaleza, 2023.
Orientação: Prof. Ricardo Pires dos Santos.
1. Nanopartículas. 2. Síntese verde. 3. *Anacardium occidentale*. 4. Potencial antimicrobiano. I. Título.
CDD 660.6
-

CIRO SIQUEIRA FIGUEIRA

FITOSSÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DE NANOPARTÍCULAS DE OURO
SINTETIZADAS COM EXTRATO AQUOSO DE *Anacardium occidentale* E AVALIAÇÃO
DO SEU EFEITO ANTIBACTERIANO

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação em Biotecnologia de Recursos Naturais da Universidade Federal do Ceará, *Campus* do Pici, como pré-requisito obrigatório para obtenção do título de doutor em Biotecnologia. Área de concentração: Aplicação biotecnológica de moléculas biologicamente ativas.

Aprovada em ___/___/___

BANCA EXAMINADORA

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

Profª. Dra. Márcia Machado Marinho
Universidade Estadual Vale do Acaraú (UVA)

Prof. Dr. Emmanuel Silva Marinho
Universidade Estadual do Ceará (UECE)

Prof. Dr. João Batista Cajazeiras
Centro Universitário Inta (UNINTA)

Prof. Dr. Igor Iuco Castro da Silva
Universidade Federal do Ceará (UFC)

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.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

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

Aos professores do Programa, pelos ensinamentos e dedicação e aos membros da banca.

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

À equipe técnica dos Laboratórios de Química e de Microscopia do Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal de São Carlos (UFSCar) pela imensa colaboração com este trabalho. À equipe do Laboratório de Microbiologia da Universidade Estadual do Ceará (UVA) pelo apoio e colaboração.

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.

“Para os crentes, Deus está no princípio das coisas.

Para os cientistas, no final de toda reflexão.”

Max Planck

RESUMO

O uso da nanobiotecnologia vem alterando a maneira com que diversos tipos de materiais são utilizados. A biossíntese de nanopartículas é um método bastante simples, eficaz e de custo relativamente baixo comparado a outros métodos de produção de nanopartículas metálicas (NPs). Seu comportamento está relacionado ao meio reacional em que se encontra, estabilidade, composição química, grau de agregação, morfologia e tamanho, e por isso modulações no momento da síntese são determinantes para a atividade biológica. Grande parte das rotas tradicionalmente utilizadas para a produção de nanopartículas metálicas, utilizam solventes tóxicos, que geram resíduos nocivos à saúde e ao meio ambiente. Estudos com NPs vêm mostrando que elas apresentam elevado potencial antimicrobiano, entrega de fármacos, dentre outros. O estudo teve como objetivo o desenvolvimento de uma metodologia sustentável para a síntese de nanopartículas de ouro, utilizando como agente redutor extrato aquoso de folhas de *Anacardium occidentale*, e posterior avaliação da atividade antimicrobiana. As nanopartículas de ouro (AuNPs) foram sintetizadas por oxirredução, com base em um planejamento onde a variável observada foi a concentração do agente redutor. A caracterização foi realizada com análises de UV-Vis, Microscopia, Potencial Zeta, ICP-MS e Infravermelho. A atividade antibacteriana foi testada contra *Staphylococcus aureus* 1117 e *Escherichia coli* DH5 α pela técnica de microdiluição em caldo, e a interação rápida por agitação, seguidas de análises de Microscopia Eletrônica de Transmissão. O extrato liofilizado de folhas do cajueiro foi capaz de reduzir o ouro de modo tão eficaz quanto o citrato de sódio (agente redutor comumente utilizado). A concentração do agente redutor foi relevante para determinar as características das nanopartículas. O pico de absorvância ocorreu entre 519 e 529nm. Juntamente com tais dados as imagens de microscopia confirmam a presença de nanopartículas de ouro com tamanho médio de 13 - 23 nm. A partir da síntese verde as AuNPs tinham formas variadas e potencial zeta mostrou que as AuNPs eram estáveis. As análises de ICP-MS mostraram que a concentração de AuNP com a síntese verde foi maior que com citrato. As nanopartículas de ouro apresentaram potencial antibacteriano e foram capazes de inibir o crescimento de *S. aureus* por interação com a membrana. O extrato vegetal mostrou-se uma ótima alternativa para a síntese de AuNPs, dando origem a partículas com atividade antimicrobiana eficaz na inibição de *S. aureus*.

Palavras-chave: nanopartículas; síntese verde; *Anacardium occidentale*; potencial antimicrobiano.

ABSTRACT

The use of nanobiotechnology is changing the way in which various types of materials are used. The biosynthesis of nanoparticles is a very simple, effective, and relatively low-cost method compared to other methods of producing metallic nanoparticles (NPs). Their behavior is related to the reaction medium in which they are found, their stability, chemical composition, degree of aggregation, morphology, and size, which is why modulations at the time of synthesis are decisive for their biological activity. Most of the routes traditionally used to produce metal nanoparticles use toxic solvents, which generate waste that is harmful to health and the environment. Studies on NPs have shown that they have high antimicrobial potential, drug delivery, among others. The aim of this study was to develop a sustainable methodology for the synthesis of gold nanoparticles, using an aqueous extract of *Anacardium occidentale* leaves as a reducing agent, and to evaluate their antimicrobial activity. The gold nanoparticles (AuNPs) were synthesized by oxirreduction, based on a design in which the variable observed was the concentration of the reducing agent. Characterization was carried out using UV-Vis, microscopy, zeta potential, ICP-MS and infrared analyses. Antibacterial activity was tested against *Staphylococcus aureus* 1117 and *Escherichia coli* DH5 α using the broth microdilution technique, and rapid interaction by shaking, followed by Transmission Electron Microscopy analysis. The lyophilized cashew leaf extract was able to reduce gold as effectively as sodium citrate (the commonly used reducing agent). The concentration of the reducing agent was relevant in determining the characteristics of the nanoparticles. The absorbance peak occurred between 519 and 529nm. Together with this data, the microscopy images confirm the presence of gold nanoparticles with an average size of 13 - 23 nm. From the green synthesis the AuNPs had varied shapes and the zeta potential showed that the AuNPs were stable. ICP-MS analysis showed that the concentration of AuNPs with the green synthesis was higher than with citrate. The gold nanoparticles showed antibacterial potential and were able to inhibit the growth of *S. aureus* by interacting with the membrane. The plant extract proved to be an excellent alternative for the synthesis of AuNPs, resulting in particles with effective antimicrobial activity in inhibiting *S. aureus*.

Keywords: nanoparticles; green synthesis; *Anacardium occidentale*; antimicrobial potential.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	– Representação esquemática de diferentes tipos de nanopartículas (NPs) divididas em categorias orgânicas e inorgânicas.....	23
Figura 2	– [A]:Soluções de nanopartículas de ouro de colorações diferentes do ouro metálico. [B] Esquema das ressonâncias localizadas de plásmon de superfície (LSPR) em nanopartículas de ouro.....	24
Figura 3	– Representação esquemática das abordagens <i>top-down</i> e <i>bottom-up</i> para a fabricação de nanoestruturas.....	25
Figura 4	– Representação para síntese verde de nanopartículas metálicas de plantas, bactérias e fungos com possíveis mecanismos de morte celular bacteriana.....	26
Figura 5	– [a] Estrutura celular de Gram positivos. [b] Estrutura celular de Gram negativos	31
Figura 6	– Micrografia eletrônica de varredura (MEV) mostra uma cepa da bactéria <i>S. aureus</i>	32
Figura 7	– Micrografia eletrônica de varredura colorida mostrando um número de bactérias <i>Gram-negativas Escherichia coli</i>	34
Figura 8	– Cajueiro com seus pseudofrutos e frutos (castanha).....	39
Figura 9	– Esquema de NP em solução com destaque para as medidas de diâmetro hidrodinâmico e potencial zeta	43
Figura 10	– Esquema do princípio da espectroscopia de energia dispersiva de raios X (EDX) em microscópio eletrônico de varredura (MEV).....	46
Figura 11	– Princípio de funcionamento do Microscópio Eletrônico de Transmissão	48
Figura 12	– [a] Solução de H _{Au} Cl ₄ (2,5 x 10 ⁻⁴ mol/L). [b] Filtração do extrato aquoso das folhas do <i>A. occidentale</i>	52
Figura 13	– Folhas recém-colhidas. [b] Folhas secas. [c] Amostra da folha após o processo de moagem	52

Figura 14	– [a] Liofilizado ressuspendido. [b] H _{AuCl} ₄ (2,5 x 10 ⁻⁴ mol/L). [c] Solução de AuNPs	54
Figura 15	– Solução de H _{AuCl} ₄ (2,5 x 10 ⁻⁴ mol/L) e citrato de sódio (1 x 10 ⁻³ g/mL). [b] Adição do citrato de sódio. [c] AuNP formadas pelo método do citrato	55
Figura 16	– 1: AuNP sintetizada com E1. 2: AuNP sintetizada com E2. 3: AuNP sintetizada com E3. 4: AuNP sintetizada com de citrato de sódio.....	62
Figura 17	– Imagens das AuNPs com histograma com distribuição de tamanho das AuNPs + E1 (1 mg/mL)	64
Figura 18	– Imagens de MET da Amostra 2 (A2) e histograma com distribuição de tamanho das AuNPs + E2 (5mg/mL)	65
Figura 19	– MET da Amostra 3 (A3) com histograma com distribuição de tamanho das nanopartículas	65
Figura 20	– MET de AuNPs sintetizadas com citrato de sódio com histograma com distribuição de tamanho das nanopartículas	66
Figura 21	– [a] EDS AuNP com extrato de <i>A. occidentale</i> . [b] EDS AuNP com citrato de sódio	67
Figura 22	– Controle: imagem de MET de <i>Staphylococcus aureus</i> sem processamento	72
Figura 23	– Imagem de MET em diferentes aumentos, para interação entre <i>S. aureus</i> e AuNPs	72
Figura 24	– Controle: imagem de MET de <i>E. coli</i>	73
Figura 25	– Imagem de MET em diferentes aumentos, para interação entre <i>E. coli</i> e AuNPs	73
Figura 26	– Imagem de MET de <i>S. aureus</i> após processamento	78
Figura 27	– Imagem de MET de AuNPs com <i>S. aureus</i>	78

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1	– Absorbância solução de H _{Au} Cl ₄ ($2,5 \times 10^{-4}$ mol/L). [B] Absorbância do extrato de <i>A. occidentale</i> na concentração utilizada na síntese da amostra A3	60
Gráfico 2	– UV-Vis das AuNPs com extrato aquoso das folhas de <i>A. occidentale</i> com diferentes concentrações (E3, E2 e E1 de extrato)	61
Gráfico 3	– Espectro de Infravermelho do extrato das folhas do <i>A. occidentale</i> e das nanopartículas de ouro funcionalizadas com o extrato	69
Gráfico 4	– Região do espectro FTIR correspondente a assinatura molecular, das bandas correspondentes	70
Gráfico 5	– [a] Crescimento de <i>E. coli</i> frente a nanopartículas de ouro sintetizadas com extrato em concentrações diferentes. [b] Crescimento de <i>E. coli</i> com o extrato.....	75
Gráfico 6	– Crescimento de <i>S. aureus</i> frente a nanopartículas de ouro sintetizadas com extrato em concentrações diferentes. [b] Crescimento de <i>S. aureus</i> com o extrato.....	76

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Relação entre valores de potencial Zeta grau de agregação do coloide.....	44
Tabela 2 – Planejamento de experimento com variação de massa do agente redutor.....	53
Tabela 3 – Estabilidade das nanopartículas com base em valores de potencial Zeta.....	63
Tabela 4 – Concentração de AuNPs (mg/L) por ICP-MS	71

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

Abs	Absorbância
AFM	Microscópio de Força Atômica
AuNPs	Nanopartículas de ouro
DLS	Espalhamento de luz dinâmico
DRX	Difração por raio-x
EDS	Espectroscopia de raios X por dispersão em energia
FTIR	Espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier
HAuCl ₄	Ácido tetracloroáurico
HNO ₃	Ácido nítrico
HCl	Ácido clorídrico
IR	Infravermelho (do inglês <i>Infrared</i>)
ICP-MS	Espectrômetria de Massa com Plasma Indutivamente Acoplado
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
PZ	Potencial Zeta
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 ⁻¹	Centímetro recíproco (número de onda)
%	Porcentagem
Hz	Hertz
N/m	Newton por metro
Au ⁺³	Átomo de ouro oxidado
Au ⁰	Átomo de ouro reduzido
mL	Mililitros
µL	Microlitros
mg	Miligramas
°C	Graus Celsius
M	Molar
2D	Duas dimensões
3D	Três dimensões

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	17
2	REFERENCIAL TEÓRICO.....	21
2.1	Nanotecnologia	21
2.2	Nanopartículas.....	22
2.3	Nanopartículas de ouro.....	23
2.4	Síntese de Nanopartículas.....	24
2.5	Biossíntese de nanopartículas	25
2.6	Atividade Biológica de AuNPs.....	28
2.6.1	<i>Potencial Antimicrobiano de Nanopartículas de Ouro</i>	30
2.6.1.1	<i>Microrganismos Gram positivos e Gram negativos</i>	31
2.6.1.2	<i>Staphylococcus aureus</i>	32
2.6.1.3	<i>Escherichia coli</i>	34
2.6.2	<i>Resistência microbiana</i>	36
2.7	Vegetal de interesse: <i>Anacardium occidentale</i> L	38
2.8	Métodos de Caracterização das Nanopartículas	40
2.8.1	<i>Espectroscopia UV – Visível</i>	40
2.8.2	<i>Espectrômetro de Massa com Plasma Indutivamente Acoplado (ICP-MS)</i>	41
2.8.3	<i>Potencial Zeta (ζ)</i>	42
2.8.4	<i>Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR)</i>	44
2.8.5	<i>Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) com Espectroscopia de energia dispersiva de raios-X (EDS)</i>	45
2.8.6	<i>Microscopia Eletrônica de Transmissão (MET)</i>	47
3	OBJETIVOS	50
3.1	Objetivo geral.....	50
3.2	Objetivos específico	50
4	PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL	51
4.1	Otimização de síntese de AuNP com extrato aquoso das folhas de <i>A. occidentale</i>	51
4.2	Coleta das Folhas e Preparação do Extrato	52
4.2.1	<i>Protocolo de trabalho e biossíntese das AuNPs</i>	53

4.2.2	<i>Síntese das Nanopartículas de Ouro com citrato de sódio</i>	54
4.3	Caracterização das Nanopartículas	55
4.3.1	<i>Espectroscopia UV – Visível</i>	55
4.3.2	<i>Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) – EDS</i>	55
4.3.3	<i>Potencial Zeta (ζ)</i>	56
4.3.4	<i>Espectroscopia de Infravermelho (FTIR)</i>	56
4.3.5	<i>Espectrometria de Massa com Fonte de Plasma (ICP-MS)</i>	56
4.4	Avaliação do Potencial Antimicrobiano	57
4.4.1	<i>Cepas utilizadas</i>	57
4.4.2	<i>Esterilidade das AuNPs</i>	57
4.4.3	<i>Análise da Interação entre AuNPs e as Bactérias</i>	57
5	RESULTADOS E DISCUSSÕES	60
5.1	Otimização da Biossíntese	60
5.2	Potencial Zeta (ζ)	62
5.3	Microscopia Eletrônica de Transmissão (MET)	64
5.4	Espectroscopia de energia dispersiva de raios X (EDS)	67
5.5	Espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier (FTIR)	68
5.6	Espectrômetro de Massa com Plasma Indutivamente Acoplado (ICP-MS)	71
5.7	Atividade Antibacteriana	71
5.7.1	<i>Esterilidade das AuNPs</i>	71
5.7.2	<i>Interação Rápida</i>	71
5.7.3	<i>Concentração Inibitória Mínima</i>	74
5.7.4	<i>Análise da Interação entre AuNPs e as Bactérias</i>	78
6	CONCLUSÕES	80
	REFERÊNCIAS	81

1 INTRODUÇÃO

A nanotecnologia é um campo de conhecimento em constante evolução que permite a criação e manipulação de materiais e dispositivos em escala nanométrica. O termo nanotecnologia foi cunhado por Norio Taniguchi, pesquisador da universidade de Tóquio (Taniguchi, 1974). Suas ideias remontam ao século XIX, quando as propriedades do ouro e da prata foram exploradas pela primeira vez. As propriedades das nanopartículas de ouro e prata foram descritas pela primeira vez em 1857 por Michael Faraday em sua publicação “Experimental Relationships of Gold and Other Metals to Light” (Faraday, 1857). O debate pioneiro sobre nanotecnologia começou em 1959, Richard Feynman em uma palestra intitulada "There's Plenty of Room at the Bottom" (Feynman, 1960), sugeriu a manipulação dos átomos como forma de construir novos materiais. Esta palestra é considerada como o ponto inicial da nanociência ou nanotecnologia. Mais tarde, o foco da nanotecnologia foi direcionado para o uso de nanopartículas em medicamentos e na administração de medicamentos. “Uma abordagem para o desenvolvimento de capacidades gerais para manipulação molecular” de Eric Drexler foi uma das primeiras publicações em 1981 que abriu as portas para a revolução da nanotecnologia (El-Burm, 2023).

A nanotecnologia, nos últimos anos, tornou-se o foco principal de muitos pesquisadores (Chakravarty; Vora, 2021). A nanotecnologia envolve o estudo da criação, caracterização e aplicação de nanomateriais. Em sistemas biológicos, a nanotecnologia pode ser usada para explorar processos muito delicados (Chaikittisilp; Yamauchi; Ariga, 2022) e para investigação nas ciências biomédicas (Rennick; Johnston; Parton, 2021).

O termo "nano" se refere a bilionésima parte do metro ou 10^{-9} m (Xakimovna, 2023). Dentro dessa faixa de tamanho, existem nanopartículas com pelo menos duas dimensões na escala nanométrica (Findik, 2021). Os materiais com pelo menos uma de suas dimensões entre 1-100 nm são geralmente chamados de nanopartículas (NPs) (Dolai; Mandal; Jana, 2021). É importante observar que uma variedade de materiais em massa pode ser usada para fabricar nanopartículas. A ação das nanopartículas depende de sua química, morfologia e tamanho (Saleh, 2020).

Tradicionalmente, o ouro metálico é considerado um sinal de poder e riqueza desde tempos pré-históricos. Entre várias nanopartículas, as nanopartículas de ouro (AuNPs) possuem uma natureza mais estável, geometria bem ordenada e morfologias de superfície bastante diferentes (Sarfraz; Khan, 2021). O ouro metálico tem sido utilizado de muitas maneiras para

melhorar a saúde humana desde tempos antigos (Balfourier *et al.*, 2020). Comparado aos materiais em massa, as AuNPs exibem propriedades catalíticas, eletrônicas e ópticas únicas em tamanhos menores, variando de 1-100 nm, sendo não tóxicas e biocompatíveis (Hassan, *et al.*, 2022). As AuNPs são preciosas e inertes, não se oxidando facilmente quando expostas ao oxigênio ou a ambientes altamente ácidos (Ishida *et al.*, 2019). Seu tamanho menor e com maior área superficial as tornam adequadas para inúmeras aplicações biomédicas (Kannan *et al.*, 2020). Devido às suas conhecidas aplicações em diferentes áreas, como eletrônica, biotecnologia e medicina, a síntese de nanopartículas de ouro tem recebido grande interesse de pesquisadores (Hammami *et al.*, 2021). Desde então, as AuNPs vêm sendo exploradas em diversas aplicações, incluindo atividade antimicrobiana (Sathiyaraj *et al.*, 2021). No entanto, as AuNPs são comumente fabricadas usando diferentes técnicas químicas e físicas, que são custosas e envolvem o uso de produtos químicos tóxicos que não são apropriados para usos medicinais (Hano; Abbasi, 2021). Vários microrganismos e extratos de plantas também são utilizados na fabricação de AuNPs (Dash; Sen; Dash, 2022). Portanto, é interessante que se desenvolva métodos inovadores e ecologicamente aceitos para sintetizar AuNPs, a fim de aumentar seus benefícios para a sociedade. As propriedades únicas das AuNPs as tornam viáveis para uso em diversos campos.

De acordo com Abid e colaboradores (2022), existem duas abordagens principais para sintetizar nanopartículas, conhecidas como método "de cima para baixo" (*Top-down*) e "de baixo para cima" (*Bottom-up*). Na abordagem *Top-down* ou rota física, as nanopartículas metálicas são sintetizadas a partir de reagentes de grande tamanho, e, portanto, o tamanho das nanopartículas é comparativamente maior. Para reduzir o tamanho, é necessário um processo mecânico ou a adição de ácidos fortes (Jiang, *et al.*, 2022). Na abordagem *Bottom-up* ou rota química, as nanopartículas são sintetizadas a partir do nível atômico, formando aglomerados supramoleculares (Camargos; Rezende, 2021). As nanopartículas metálicas são sintetizadas por diferentes métodos, tais como métodos físicos, químicos, enzimáticos e biológicos (Shnoudeh *et al.*, 2019). Alguns dos métodos físicos usados para sintetizar nanopartículas incluem deposição por pulverização, técnicas litográficas, arco de plasma, adsorção a laser pulsado, pirólise por pulverização, moagem de bolas e evaporação térmica, entre outros (Dang-Bao; Favier; Gómez, 2021). Da mesma forma, diferentes métodos químicos estão atualmente em prática para sintetizar nanopartículas de metal, tais como o processo sol-gel, eletrodeposição, deposição química de vapor e deposição química de solução (Cook; Clemons, 2022), método químico suave, método Langmuir-Blodgett, rota catalítica, hidrólise (Santhosh; Genova; Chamati, 2022), método de co-precipitação e método químico úmido (Sharma *et al.*, 2021).

As metodologias convencionais para preparar nanopartículas apresentam várias ameaças ao meio ambiente (Saravanakumar, *et al.*, 2022). Para mitigar essas ameaças, rotas alternativas para sintetizar nanopartículas estão sendo atualmente implementadas, incluindo a rota de síntese verde, que é ecologicamente amigável e econômica (KUMAR *et al.*, 2021). A fitossíntese é uma abordagem ecologicamente viável usado para a produção de nanopartículas em grande escala (Bala; Rani, 2020). O método de síntese verde tem vantagens sobre outros métodos convencionais devido à natureza renovável dos extratos de plantas, às condições suaves de reação e à natureza amigável ao meio ambiente do meio aquoso (Ameen *et al.*, 2019).

Os metabólitos das plantas desempenham um papel na redução de íons metálicos para nanopartículas e na sua estabilização (Sanjivkumar; Silambarasan, 2023). Além disso, vários grupos funcionais, como ácidos carboxílicos e polióis, são considerados responsáveis pela síntese de nanopartículas (Sheny *et al.*, 2011) e as tornam mais estáveis (Sharma *et al.*, 2015). O uso de partes de plantas com o objetivo de produzir nanopartículas é ecologicamente amigável, econômico e eficaz em termos de custos (Santhosh; Genova; Chamati, 2022)

As nanopartículas têm potencial para atividades antibacterianas e antifúngicas. O primeiro potencial medicinal das AuNPs foi relatado por Robert Koch (Dehghan *et al.*, 2023). Desde então, as AuNPs estão sendo exploradas em muitas aplicações, incluindo atividade antimicrobiana (Mehravani; Ribeiro; Zille, 2021). Tem sido investigado nos últimos anos que várias bactérias patogênicas humanas aumentaram sua resistência a diversos medicamentos sintéticos (Mobed; Hasanzadeh; Seidi, 2021). Devido ao surgimento de cepas resistentes e ao aumento da resistência microbiana a íons metálicos e antibióticos, as nanopartículas são hoje o foco intenso de pesquisadores, uma vez que possuem potencial antibacteriano aprimorado devido à maior relação área de superfície/volume (Mařátková *et al.*, 2022). A química da superfície e o tamanho das nanopartículas afetam a propriedade antimicrobiana (Abdalla *et al.*, 2020.), pois tamanhos maiores tendem a minimizar a atividade, enquanto tamanhos menores a aprimoram (Osonga *et al.*, 2020). O aumento na atividade antibacteriana de AuNPs mediadas por plantas pode ser devido ao revestimento com extratos de plantas (Nguyen *et al.*, 2022). Os agentes infecciosos podem contaminar a água e os alimentos consumidos por seres humanos e todos os seres vivos. Bactérias gram-positivas, como *Staphylococcus aureus*, e bactérias gram-negativas, como *Escherichia coli*, têm sido encontradas desenvolvendo resistência a antibióticos convencionais (Tavares *et al.*, 2020). Portanto, é imprescindível desenvolver novos agentes antibacterianos para tratar infecções resistentes a antibióticos. No presente estudo, foi investigado o efeito de AuNPs contra essas duas bactérias (*Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli*).

As AuNPs foram sintetizadas a partir de extratos de folhas de *Anacardium occidentale*. O cajueiro, *Anacardium occidentale* L., única espécie cultivada e a mais dispersa do gênero, pertence à família *Anacardiaceae*, que compreende cerca de 60 a 70 gêneros e 400 a 600 espécies (Novaes; Novaes, 2021). Contudo, a maior diversidade de *A. occidentale* L, encontra-se no nordeste brasileiro (Padilha *et al.*, 2020), região responsável por cerca de 94% da produção de caju, principalmente nos estados do Ceará, Piauí e Rio Grande do Norte, sobretudo nas faixas litorânea e de transição com outros ecossistemas (Novaes; Novaes, 2021).

O *A. occidentale* possui diversos efeitos biológicos comprovados, tais como: antioxidante, anti-inflamatório, antimicrobiano e inibidor de enzimas farmacologicamente importantes (Ribeiro *et al.*, 2020). *A. occidentale* contém vários fitoquímicos, como triterpenoides, saponinas, ácido tânico, aminoácidos, alcaloides, resveratrol, antraquinonas, flavonoides (Costa *et al.*, 2020) e muitos outros (Khayruzamri; Samsudin, 2023). Possui propriedades antioxidantes, antibacterianas e purgativas (Naka *et al.*, 2019). À medida que a pesquisa com AuNPs está se expandindo a cada dia, é necessário investigar o papel das plantas na síntese de AuNPs (Kumar *et al.*, 2019).

Neste trabalho, estudamos a síntese de nanopartículas de ouro com o extrato de *A. occidentale* utilizando um planejamento prévio a fim de verificar as variáveis que interferem no processo e otimizar uma rota de síntese reprodutível de nanopartículas monodispersas. Os nanomateriais foram caracterizados por técnicas de espectroscopia (UV-vis, FTIR, IC-PS e EDS), microscopia eletrônica de transmissão, potencial Zeta e sua atividade antimicrobiana.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Nanotecnologia

A nanotecnologia é a ciência da produção, engenharia e utilização de materiais na faixa de tamanho de 1-100 nm (Srivastava *et al.* 2022a). A nanotecnologia é um conhecimento multidisciplinar que abrange física, química, biologia e ciências dos materiais, e desenvolve materiais terapêuticos únicos em tamanho na escala nano para aplicações biomédicas (Ikumapayi *et al.*, 2021). O uso da nanotecnologia está se desenvolvendo rapidamente comercial e industrialmente, o que levou à emissão de nanopartículas no ambiente, afetando os organismos (Sun *et al.*, 2022). A nanotecnologia tem impacto em todas as áreas da vida. Nos últimos anos, o foco dos pesquisadores se voltou para a fabricação de AuNPs, uma vez que elas têm aplicações inovadoras em diversas áreas de contato humano. Devido às amplas aplicações de nanopartículas em diferentes áreas, como eletrônica, catálise, química, energia e medicina, a demanda por nanopartículas está crescendo a cada dia (Fonseca, 2022). Tradicionalmente, a tecnologia química úmida é usada para produzir nanopartículas metálicas, o que envolve o uso de produtos químicos muitas vezes tóxicos (Samuel *et al.*, 2022.). Os nanomateriais possuem atributos únicos em contraste com seus equivalentes em massa devido às suas dimensões nanométricas especiais (Saleh, 2020). No caminho para fabricar novos materiais em escala nanométrica, devido à sua proeminente aplicação na ciência e tecnologia, a nanotecnologia está se desenvolvendo como um campo emergente (Ahmed *et al.*, 2021).

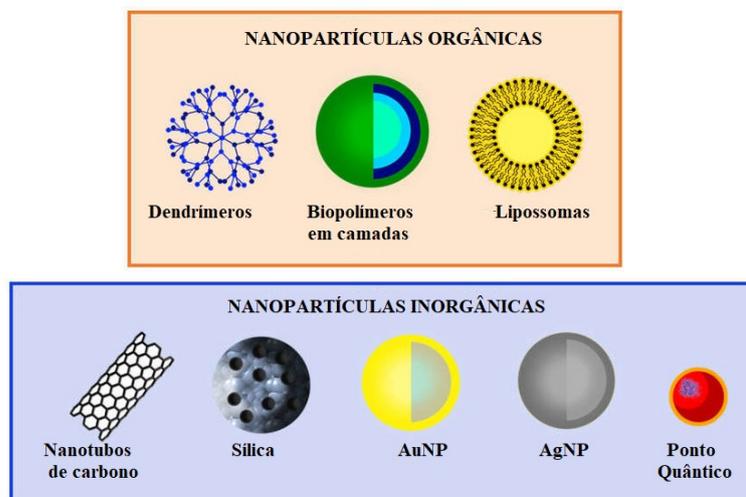
Isso ocorre devido à ampla aplicabilidade das nanopartículas em diferentes áreas, como eletrônica, catálise, química, energia e medicina, o que está gerando uma demanda comercial contínua por nanopartículas (Shah *et al.*, 2021). Nos últimos anos, o foco principal da nanotecnologia tem sido criar nanopartículas a partir de diversas substâncias com aplicações diversas em saúde e meio ambiente (Martínez *et al.*, 2020). A nanotecnologia tem muitas aplicações promissoras em design estrutural, diagnóstico médico e imagem (Dessale; Mengistu; Mengist, 2022). As metodologias convencionais para preparar nanopartículas apresentam várias ameaças ao meio ambiente (Kong; Zhang; Wang, 2021).

2.2 Nanopartículas

As nanopartículas são agregados atômicos ou moleculares com pelo menos uma dimensão na faixa de tamanho de 1-100 nm (Jaswal; Gupta, 2023), que podem mudar radicalmente suas propriedades físico-químicas em comparação com o material em massa do tamanho natural (Liu *et al.*, 2023). A definição exata de nanopartículas ainda está em processo de evolução e, atualmente, as nanopartículas são consideradas como entidades de material biopersistente ou insolúvel fabricadas intencionalmente (Yin *et al.*, 2023). Para ilustrar isso, um fio de cabelo humano tem aproximadamente 50000 nm de diâmetro enquanto um vírus tem cerca de 100 nm de largura. Um átomo tem 0,1 nm, portanto, aproximadamente dez átomos em linha são iguais a um nanômetro (Sorbiun *et al.*, 2018). As nanopartículas formam um material intermediário entre moléculas individuais e seus materiais em massa, portanto, suas propriedades são bastante diferentes das de suas contrapartes moleculares e em massa (Hueckel *et al.*, 2023). Devido ao tamanho extremamente reduzido, as propriedades relacionadas ao tamanho das nanopartículas podem diferir consideravelmente de seus materiais em massa (Szczyglewska; Feliczak-Guzik; Nowak, 2023). As nanopartículas estão sendo consideradas como blocos fundamentais da nanotecnologia. Nos últimos anos, as nanopartículas tornaram-se candidatos paralelos a outros recursos convencionais com inúmeras aplicações no campo da engenharia e da ciência (Mohajerani *et al.*, 2019). As propriedades distintivas das nanopartículas são atribuídas à alta energia superficial, à área superficial específica muito grande e ao confinamento quântico (Hossain *et al.*, 2023). As nanopartículas são de intenso interesse para os pesquisadores devido à sua ampla aplicação em diversos campos da ciência e tecnologia, como química, medicina, biotecnologia e agricultura (Sorbiun *et al.*, 2018).

As nanopartículas são divididas em classes orgânicas e inorgânicas, incluindo nanoparticulados de carbono e metálicas (ouro e prata, por exemplo), respectivamente ilustrado na Figura 1.

Figura – 1: Representação esquemática de diferentes tipos de nanopartículas (NPs) divididas em categorias orgânicas e inorgânicas.



Fonte: adaptado de Silva; Almeida; Vale, (2019).

Entre ambas as classes, as nanopartículas de origem inorgânica têm uma importância primordial devido às suas propriedades funcionais especiais. Essas nanopartículas metálicas são de grande importância em entrega de medicamentos, medicina e cosméticos devido à excelente biocompatibilidade, grande funcionalidade e acessibilidade conveniente (Bagheri *et al.*, 2020). Em aplicações biológicas, as nanopartículas de metais nobres, como ouro, platina, chumbo e prata, são amplamente desenvolvidas devido às suas propriedades físico-químicas especiais (Aboyewa *et al.*, 2021a). Essas nanopartículas ganharam uma importância particular devido às suas propriedades compostas e ópticas (Wang; Kafshgari; Meunier, 2020).

2.3 Nanopartículas de ouro

Nouri e Wen (2021) descrevem o ouro (Au), cujo número atômico é 79 na tabela periódica, é um metal de brilho dourado notável, conhecido por sua resistência à corrosão, maleabilidade e ductilidade. Na escala nanométrica, as propriedades do ouro são muito diferentes das do material massivo, pois o ouro em massa é de cor amarela e tem uma massa sólida, enquanto no caso de soluções de AuNPs, a cor da solução é vermelho vinho (Alizadeh; Nazari, 2020). As AuNPs são os materiais nanométricos mais aceitos para a preparação de plataformas nanométricas projetadas em dispositivos de detecção inteligente (Ziai *et al.*, 2022). Isso se deve à propriedade de ressonância plasmônica de superfície das AuNPs, como

exemplificado na Figura 2, que as torna o material nanométrico mais apropriado para terapêutica biomédica, bioimagem e ferramentas biodiagnósticas (Sarfraz; Khan, 2021).

Figura – 2: [A]: Soluções de nanopartículas de ouro de colorações diferentes do ouro metálico. [B]: Esquema das ressonâncias localizadas de plásmom de superfície (LSPR) em nanopartículas de ouro.



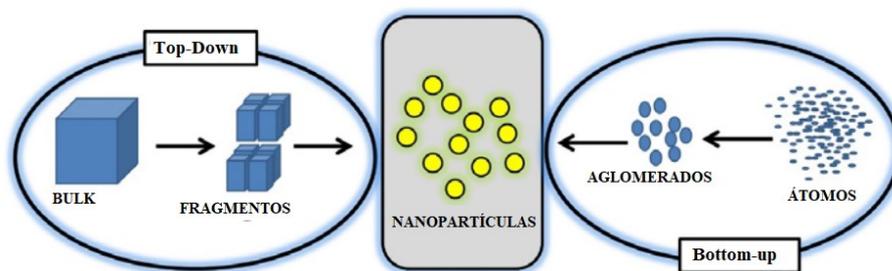
Fonte: adaptado de Abadeer e Murphy (2016)

As AuNPs têm cativado o mundo científico devido às suas distintas propriedades fisiológicas e biológicas desde o início do Século XX (Mughal, 2022). Devido a esses atributos únicos, muitos pesquisadores têm utilizado as AuNPs para abordar questões socioeconômicas em diversos domínios, incluindo biologia (Almanghadim *et al.*, 2021), farmacologia (Akintelu; Yao; Folorunso, 2021), medicina (Dheyab *et al.*, 2022), cosmetologia (Paiva-Santos *et al.*, 2021) e química clínica (Anselmo; Mitragotri, 2019). Ao mesmo tempo, as AuNPs também são usadas em muitos outros campos, como catálise, eletrônica, eletrodos enzimáticos, supercondutores, biossensores e terapia contra o câncer, entre outros (Sanati *et al.*, 2019).

2.4 Síntese de Nanopartículas

Geralmente, os protocolos usados para a síntese de nanopartículas são classificados em duas categorias principais: físicos e químicos (Saleh, 2021), Figura 3. O método físico (*Top-Down*) inclui moagem de alta energia, dispersão ultrassônica, degradação plástica severa e condensação de gás inerte (Adhikari; Sarkar, 2019). O método físico é trabalhoso, caro para produção em grande escala e as nanopartículas produzidas geralmente são maiores em tamanho (Harish *et al.*, 2022).

Figura – 3: Representação esquemática das abordagens *top-down* e *bottom-up* para a fabricação de nanoestruturas.



Fonte: adaptado de Galstyan (2018).

Os métodos químicos (*Bottom-up*) para a síntese de nanopartículas incluem coprecipitação química, condensação química a vapor, microemulsão, pulso de eletrodeposição (Ijaz *et al.*, 2020). O método químico também inclui a redução química (Gebre; Sendeku, 2019), procedimentos eletroquímicos (John *et al.* 2021) e redução fitoquímica (Shaikh *et al.*, 2021). Nos tempos recentes, a abordagem da química verde visa reduzir ou eliminar materiais prejudiciais à saúde humana e ao ecossistema durante o *design*, desenvolvimento e implementação de processos e produtos químicos (Pradeep *et al.*, 2021). A etapa preliminar na criação de AuNPs inclui a redução do ouro iônico (Au^{3+}) para átomos neutros (Au^0) usando um agente redutor forte (Pakrieva *et al.* 2020). Redutores sintéticos não são ideais para criar AuNPs porque traços desses redutores permanecem ligados à superfície das AuNPs, o que pode ser prejudicial durante aplicações biomédicas (Bawazeer *et al.*, 2021). Portanto, abordagens alternativas para substituir redutores químicos sintéticos na fabricação de AuNPs têm sido exploradas recentemente.

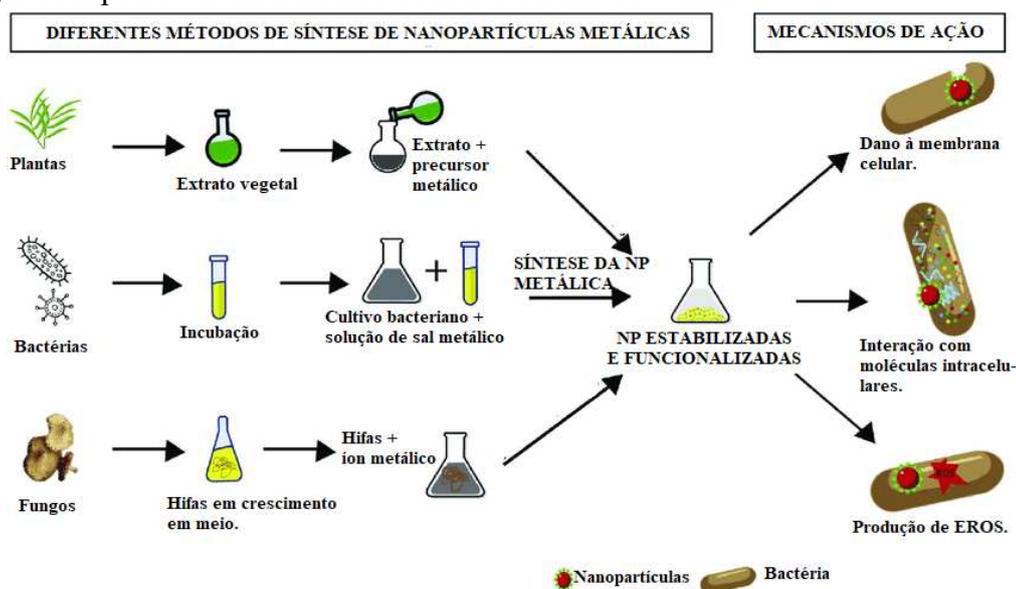
2.5 Biossíntese de nanopartículas

Recentemente, a nanotecnologia tem se destacado como um domínio essencial da ciência em que a interação entre materiais biológicos e sintéticos é explorada e controlada em nível celular usando partículas em escala nano (Rauta; Mohanta; Nayak, 2019). Os métodos convencionais para a síntese de nanopartículas envolvem alta radiação e agentes redutores altamente concentrados e agentes estabilizantes que são perigosos tanto para a saúde humana quanto para o meio ambiente (Dawson; Yan, 2021). Os recursos biológicos para a síntese de

nanopartículas estão ganhando considerável atenção dos pesquisadores para desenvolver um protocolo limpo, ecologicamente correto e inofensivo. Portanto, a síntese de nanopartículas por meio de métodos biológicos, sendo um método de biorredução em etapa única e ecologicamente aceito, é a melhor alternativa aos métodos convencionais. (Bao; Lan, 2019). Além disso, essa abordagem para a síntese de nanopartículas é eficiente em termos energéticos (Soni *et al.*, 2021). Além disso, as técnicas baseadas em biologia envolvem fontes ambientalmente amigáveis, como bactérias, cianobactérias, microalgas, algas marinhas, enzimas, fungos e plantas (Chopra *et al.*, 2022).

Vários meios biológicos têm sido adotados para sintetizar nanopartículas, mas dentre todos, o método baseado em plantas tem se mostrado o mais apropriado. Extratos de plantas reduzem metais iônicos em átomos a uma taxa mais rápida em condições normais de pressão e temperatura (Shafey, 2020). Uma variedade de plantas e microrganismos provou ser uma excelente fonte de redutores naturais (Mayegowda *et al.*, 2023), como simplificado na Figura 4. Se as nanopartículas forem usadas na fabricação e aplicação terapêutica, é imperativo projetar um protocolo ecologicamente correto para fabricá-las. Esse objetivo pode ser alcançado substituindo compostos químicos tradicionais que são utilizados como agentes redutores durante a conversão do ouro iônico em Au^0 na fabricação de AuNPs. As melhores e mais baratas alternativas são extratos naturais de plantas (Nayak *et al.*, 2022).

Figura – 4: Representação para síntese verde de nanopartículas metálicas de plantas, bactérias e fungos com possíveis mecanismos de morte celular bacteriana.



Fonte: adaptado de Singh *et al.*, (2020).

A fabricação de nanopartículas metálicas por meio de rotas ecológicas depende de três etapas com base nas abordagens da química verde, que incluem a seleção de agentes redutores ambientalmente favoráveis, substâncias não tóxicas para a estabilização, meio solvente biocompatível e não tóxico (Berta *et al.* 2021). Atualmente, as nanopartículas estão sendo sintetizadas usando diferentes micro e macroorganismos, como procariotos simples (Mustapha *et al.*, 2022), organismos eucarióticos complexos, como fungos, algas marinhas, microalgas (Bachheti *et al.*, 2021) e até mesmo plantas angiospermas complexas estão sendo utilizadas na criação de nanopartículas baseadas em rotas biológicas (Srivastava *et al.* 2022b). Dentre esses organismos, as plantas são os melhores candidatos a serem explorados para a síntese de nanopartículas, porque são ricas em compostos naturais, como alcaloides, flavonoides, taninos, saponinas e esteroides (Ishak; Kamarudin; Timmiati, 2019). Esses produtos vegetais são derivados de várias partes da planta. Muitos pesquisadores descobriram que as plantas oferecem uma alternativa ecologicamente correta e não tóxica para a síntese de materiais em tamanho nano, em comparação com outros métodos convencionais, pois os extratos de plantas contêm muitos fitoquímicos importantes que atuam como agentes redutores e estabilizadores em reações de biorredução na síntese de nanopartículas (Barathikannan *et al.*, 2023).

Nos sistemas baseados em plantas para a síntese de nanopartículas, tanto o poder de redução quanto o poder de estabilização são fornecidos pelos extratos de plantas. A redução e estabilização das nanopartículas são fornecidas por diversos fitoquímicos das plantas (Chutoprapat; Kopongpanich; Chan, 2022). Além disso, a taxa de reação é mais rápida quando extratos de plantas são usados como poder redutor a temperatura e pressão ambiente (Pyrzynska; Sentkowska, 2021). Nesse procedimento baseado em sistemas biológicos, é vantajoso em relação aos métodos convencionais, pois os extratos de plantas proporcionam um meio de reação não tóxico (Hammami *et al.*, 2021). Os sistemas baseados em plantas oferecem uma alternativa mais barata, eficiente em termos energéticos e amiga do meio ambiente em relação aos outros métodos convencionais, ganhando assim uma atenção tremenda dos cientistas nos dias de hoje (Velidandi *et al.*, 2020). Várias nanopartículas metálicas, incluindo ouro, foram sintetizadas com sucesso usando plantas, com potencial para tratar várias doenças (Al-Khattaf, 2021).

Um estudo paramétrico sobre a síntese de AuNPs usando extrato aquoso de folhas de *Elaise guineensis* foi realizado por Ahmad e colaboradores (2016), e foi investigado que compostos carboxílicos e fenólicos desempenharam seu papel na redução e estabilização. As AuNPs foram sintetizadas por meio de um método verde e amigável ao meio ambiente, usando o extrato de pétalas de *Elaichi* como agente redutor e estabilizador. Foi observado que a reação

é rápida e concluída em cinco minutos a temperatura ambiente (Rajan; Rajan; Philip, 2017). A síntese de AuNPs usando extrato etanólico das folhas de *Amaranthus spinosus* e o estudo de suas propriedades ópticas foram investigados (Boro *et al.*, 2023). *Diospyros ferrea* foi usado para fabricar AuNPs com tamanho variando de 70 a 90 nm. As AuNPs sintetizadas apresentaram considerável eficácia anticâncer e antibacteriana (Muddapur *et al.*, 2022). Um extrato aquoso de *Gymnema sylvestre* foi usado para sintetizar AuNPs, e as AuNPs funcionalizadas foram caracterizadas quanto ao tamanho e forma e testadas em linhas de células de carcinoma do cólon humano (Aljarba *et al.*, 2022).

AuNPs foram sintetizadas usando extratos da camada epicotilar de sementes de *Achyranthes aspera* e investigada sua atividade anticâncer, constatando-se que as AuNPs exibem atividade anticâncer significativa contra linhas de células de câncer cervical (Muthusamy; Pottail, 2021). Babu e colegas (2013) sintetizaram AuNPs usando flores de *Couroupita guianensis* e investigaram sua atividade anticâncer usando o ensaio MTT, constatando que as AuNPs têm forte potencial anticâncer. AuNPs foram sintetizadas usando extrato de cebola e caracterizadas usando métodos UV-visível, XRD e SEM, TEM, por Hatipoğlu (2021). Alshameri e Owais, (2022) sintetizaram AuNPs usando *Bauhinia tomentosa* e confirmaram sua atividade anticâncer *in vitro*.

Sistemas baseados em plantas necessitam de menos tempo de incubação em comparação com micro-organismos e, ao mesmo tempo, podem ser escalados para produção comercial (Masri *et al.*, 2019). Assim, o foco se voltou para a nanotecnologia verde. Muitas tentativas foram feitas para fabricar nanopartículas metálicas usando extratos de plantas, pois as plantas contêm uma variedade de fitoquímicos. Essas AuNPs mediadas por plantas foram encontradas eficazes contra várias doenças, incluindo o câncer (Husen *et al.*, 2019).

2.6 Atividade biológica de AuNPs

Recentemente, a nanotecnologia verde e as nanociências estabeleceram-se para oferecer e superar oportunidades de explorar a influência de nanopartículas metálicas em atividades antimicrobianas (Sahu *et al.*, 2021). As nanopartículas de ouro possuem diversas aplicações nas ciências biomédicas. A área mais promissora na pesquisa de nanotecnologia é a entrega de medicamentos anticancerígenos a tumores usando nanopartículas (Hussain; Amjad, 2021). As AuNPs, entre outras nanopartículas de metais nobres, possuem mais importância devido à sua longa história de uso médico, como no tratamento do câncer e da artrite (Yaqoob *et al.*, 2020).

Com maior eficácia e menos efeitos colaterais em comparação com outros medicamentos comerciais contra o câncer, as nanopartículas que direcionam vias biológicas se tornaram tremendamente importantes (Raj *et al.*, 2021). As nanopartículas distorcem a membrana devido ao fluxo eletrostático (Gopmandal; Duval, 2022).

AuNPs com consideráveis atividades biológicas foram sintetizadas com sucesso por meio de uma rota verde usando diferentes partes de plantas. A síntese e caracterização de AuNPs por meio de uma rota verde foram relatadas utilizando *Camellia sinensis* (Pirko *et al.*, 2021) e *Juniperus communis* (Mariychuk *et al.*, 2020). Nanopartículas de ouro e prata foram sintetizadas usando casca de *Plumbago zeylanica*, e suas atividades antioxidantes, antimicrobianas e citotóxicas foram avaliadas (Bloch *et al.*, 2022). Foi constatado que as NPs apresentam forte atividade antioxidante, antibacteriana e citotóxica (Jalilian *et al.*, 2020). A eficácia antibacteriana de AuNPs derivadas de *Gomphrena celosioides* e folhas de *Prunus amygdalus* (amêndoa) em patógenos bacterianos selecionados foi investigada, e foi constatado que as AuNPs exibem forte inibição contra os patógenos testados (Malaikozhundan *et al.*, 2023). As AuNPs foram sintetizadas usando extratos de *Rhus chinensis* e seu efeito citotóxico foi avaliado, observando-se que as AuNPs induziram citotoxicidade de maneira dose-dependente (Liu *et al.*, 2020). Foi relatada a síntese de nanopartículas de ouro e prata usando extrato aquoso de *Commelina nudiflora* L. e sua atividade anticâncer contra células de câncer de colorretal, constatando-se que as nanopartículas de ouro e prata biossintetizadas apresentam significativa atividade anticâncer (Mesas *et al.*, 2023). Trabalhos semelhantes foram realizados para avaliar a atividade anticâncer e antioxidante das AuNPs revestidas com extrato de folhas de *Cassia tora* em células de câncer de cólon, e verificou-se que as AuNPs mostraram forte atividade anticâncer contra as células tumorais (Sargazi *et al.*, 2022). Nadaf e colaboradores (2022) sintetizaram AuNPs utilizando extratos de folhas de *Carica papaya* e *Catharanthus roseus*. Foi descoberto que flavonoides, alcaloides e proteínas adsorvidas na superfície das AuNPs eram responsáveis pela sua estabilização e não aglomeração (Ahmad *et al.*, 2021). Os extratos contendo nanopartículas mostraram atividades antibacterianas e anticancerígenas ampliadas devido ao seu efeito sinérgico (Aboyewa *et al.*, 2021b). Huo e colaboradores (2018) relataram um método econômico e ecológico para a síntese de AuNPs usando extratos de frutas de *Citrus maxima*. Foi constatado que as AuNPs produzidas com o extrato de frutas de *C. maxima* apresentam atividade catalítica aprimorada. Além disso, extratos de plantas foram encontrados como uma fonte melhor para a redução e estabilização das AuNPs. Nanopartículas de ouro e prata foram sintetizadas usando plantas e suas atividades potenciais contra patógenos alimentares foram avaliadas (Ali *et al.*, 2021). Descobriu-se que as AuNPs têm um forte

potencial contra células cancerosas, patógenos bacterianos e fúngicos (Clarance *et al.*, 2020). Nanopartículas de ouro e prata foram sintetizadas usando extrato de folhas de *Gymnema sylvestre* e sua atividade antioxidante e antiproliferativa foi investigada, constatando-se que as AuNPs apresentam forte atividade antiproliferativa contra células Hep2 (Malik *et al.*, 2023). Foi desenvolvido um método simples, eficiente e ecológico para a síntese de AuNPs usando extrato de folhas de *Nepenthes khasiana*, e sua atividade antimicrobiana também foi avaliada. Verificou-se que as AuNPs biossintetizadas mostraram atividade antimicrobiana significativa (Botteon *et al.*, 2021). A propriedade de biorredução de íons de ouro em AuNPs foi estudada por espectroscopia UV-Vis, FTIR, MET e MEV (WAHAB *et al.*, 2018).

2.6.1 Potencial Antimicrobiano de Nanopartículas de Ouro

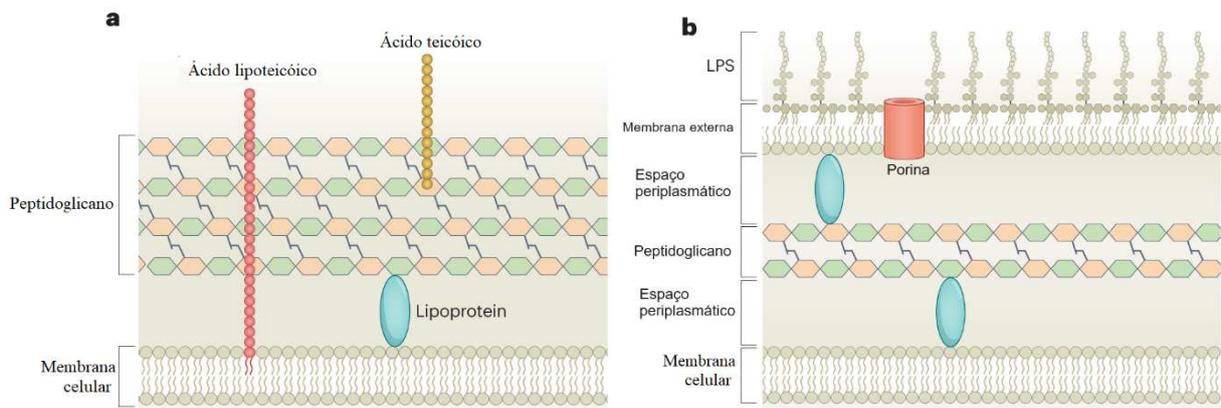
As nanopartículas de ouro estão atraindo considerável interesse científico como uma nova geração de agentes antimicrobianos devido à crescente resistência das bactérias aos antibióticos (Costa *et al.*, 2022). Estudos mostram que as bactérias têm mais dificuldade em adquirir resistência a eles (Christaki; Marcou; Tofarides, 2020). Vários estudos confirmaram que os AuNPs são uma boa alternativa para o controle de microrganismos. AuNPs obtidos por síntese verde (extrato do fruto de *Ananas comosus* como agente redutor) foram capazes de diminuir o crescimento de *Staphylococcus aureus* e *Pseudomonas aeruginosa* (Singh *et al.*, 2020). Em 2020, Parvekar e colaboradores conduziram um trabalho sobre a atividade antimicrobiana de nanopartículas e confirmaram o efeito bactericida contra *S. aureus*. A combinação de nanopartículas de ouro sintetizadas pela química verde com diferentes antibióticos foi capaz de aumentar o efeito antibacteriano do antibiótico. (Nishanthi, R. *et al.*, 2019).

A ação antibacteriana das nanopartículas de ouro pode ser por diversos fatores. Quando carregadas, podem ser atraídas pela carga negativa das bactérias. Nanopartículas de ouro com tamanho menor, são capazes de alcançar o interior das bactérias com mais facilidade, ocasionando um dano celular (Hameed *et al.*, 2020).

2.6.1.1 Microrganismos Gram positivos e Gram negativos

A parede celular é a estrutura rígida que envolve a célula bacteriana, desempenhando o papel crucial na determinação de sua morfologia, seja ela cocoide, bacilar ou espiralada (Cylke; Si; Banerjee, 2022). Formada principalmente por peptidoglicano, constituído de unidades repetidas de dissacarídeo de ácido N-acetilmurâmico e glucosamina-N-acetil, ligadas por cadeias laterais pentapeptídicas (Gabanyi *et al.*, 2022.), ela circunda tanto a membrana plasmática quanto a célula em sua totalidade. Originalmente categorizadas por Hans Christian Gram há mais de um século com base em sua capacidade de reter o violeta de cristal (Ruhali; Kataria, 2021), essas bactérias se dividem em dois grupos principais, de acordo com as variações na organização da parede celular. Um desses agrupamentos foi denominado Gram-positivo, devido à sua afinidade pela coloração violeta, enquanto o outro foi batizado de Gram-negativo, devido à sua incapacidade de reter a coloração. A diferenciação entre essas categorias se deve, sobretudo, às diferenças estruturais fundamentais na parede celular dessas duas classes bacterianas (Briaud; Carroll, 2020).

Figura – 5: [a]: Estrutura celular de Gram positivos; [b]: Estrutura celular de Gram negativos.



Fonte: Adaptado de Lithgow; Stubenrauch; Stumpf (2023).

A Figura 5 ilustra as diferenças na estrutura da parede celular entre bactérias Gram positivas e Gram negativas. Na Figura 5a, é visível a parede celular dos micro-organismos Gram positivos, que compreende múltiplas camadas de peptidoglicano (com espessura variando de 20 a 80 nm), conectadas aos ácidos lipoteicoicos que se estendem até a membrana plasmática e ácidos teicoicos. Esses polissacarídeos carregados negativamente são vitais para a

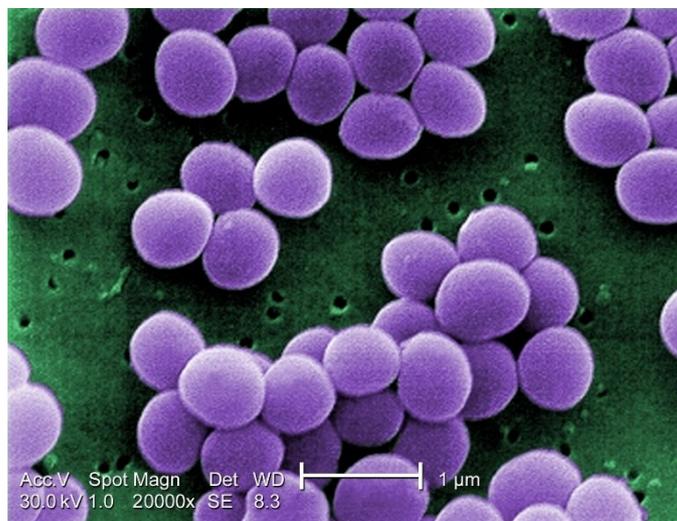
sobrevivência bacteriana e desempenham um papel substancial na conformação celular (Qiao, *et al.*, 2022.).

Por contraste, na Figura 5b, pode-se examinar a parede celular das bactérias Gram negativas, composta por uma fina camada de peptidoglicano, localizada no espaço periplasmático, que fica entre as membranas interna e externa. A segunda membrana externa está ancorada ao peptidoglicano por meio de lipoproteínas (com espessura de 7,5 a 10 nm). A membrana externa está associada a lipopolissacarídeos que se estendem para o espaço extracelular e incluem porinas, que facilitam a passagem de pequenas moléculas hidrossolúveis (Berini *et al.*, 2022).

2.6.1.2 *Staphylococcus aureus*

O *Staphylococcus aureus* é uma bactéria que se apresenta na forma de cocos Gram-positivos e pertence à família *Staphylococcaceae*, ilustrado na Figura 6. Essas bactérias têm um diâmetro que varia de 0,5 a 1,5 μm e podem ser encontradas isoladamente, em pares ou em pequenas cadeias compostas por 3 ou 4 células, formando aglomerados irregulares ou às vezes regulares. São imóveis, podem viver sem oxigênio, resistem à bacitracina, não produzem esporos, geralmente possuem a enzima catalase e têm a capacidade de se desenvolver em ambientes altamente salinos (Zhang *et al.*, 2022). A temperatura ideal para seu crescimento situa-se entre 30 °C e 37 °C (Naomi-Matsuoka *et al.*, 2021).

Figura – 6: Micrografia eletrônica de varredura (MEV) mostra uma cepa da bactéria *S. aureus*



Fonte: <https://phil.cdc.gov/details.aspx?pid=11155>

A parede celular dessas bactérias é composta essencialmente por ribitol e ácido teicoico, que estão ligados covalentemente ao peptidoglicano. O ácido lipoteicoico é um polímero de fosfato de glicerol anexado a um extremo de glicolipídios ancorados na membrana citoplasmática (Satyra *et al.*, 2021). O peptidoglicano, que constitui 50% da parede celular, tem a capacidade de estimular a liberação de citocinas pelos macrófagos, ativar o sistema complemento e causar a agregação de plaquetas (Serwecińska, 2020).

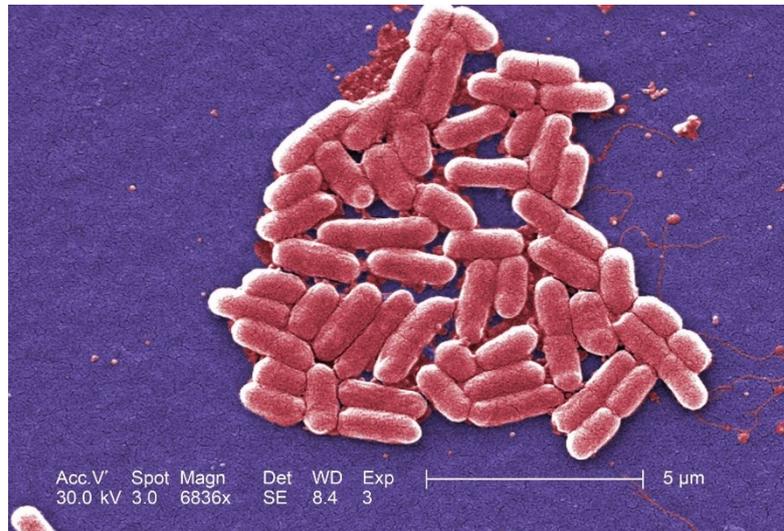
Desde a sua descoberta em 1880, *S. aureus* têm assumido papel de destaque no que tange ao desenvolvimento de infecções. Podem afetar vários locais como corrente sanguínea, trato respiratório, pele, tecidos moles, bem como causar infecções de feridas pós-operatórias, pneumonia necrotizante, e bacteremia associada à cateter central (Toledo, 2021), além de ser uma das principais causas mundiais de surtos de doenças relacionadas com o consumo de alimentos (Bencardino; Amagliani; Brandi, 2021). Trata-se de uma das principais causas de hospitalização e infecções adquiridas na comunidade, e pode resultar em consequências graves (Da Silva, *et al.*, 2020). Sua importância enquanto patógeno humano está relacionada não só a sua capacidade de causar várias doenças, mas também ao seu grande potencial para desenvolvimento de resistência aos antimicrobianos (Bôtelho, *et al.* 2022), o que aumenta a demanda pela descoberta de novos antibióticos.

A resistência do *S. aureus* está relacionada principalmente a produção de β -lactamase (Cussolim, *et al.*, 2021). Atualmente cerca de 90% dos isolados produzem tal enzima, que é capaz de inativar os antibióticos β -lactâmicos. Como alternativa, em 1961 foi introduzido a Meticilina (De Oliveira *et al.*, 2022), mas rapidamente a resistência foi relatada (LEE *et al.*, 2018). Essas cepas foram denominadas de *Staphylococcus aureus* resistente à metilina (MRSA) e são resistentes a todos os antimicrobianos β -lactâmicos (Da Cunha; Baiense, 2023). O mecanismo de ação dos β -lactâmicos está relacionado a capacidade de se ligar a proteínas que participam da síntese da parede celular (Proteínas Ligadoras de Penicilina - PBPs), impedindo assim a formação de parede, resultando em lise e morte bacteriana (Fisher; Mobashery, 2020). A resistência à metilina está relacionada ao desenvolvimento de uma PBP 2a, que não têm afinidade pelo antimicrobianos. A codificação dessas proteínas torna o patógeno resistente, e está relacionada à aquisição do gene *mecA* "Cassete Cromossômico Estafilocócico *mec* - SCC*mec*" detectável em isolados de MRSA (Naorem *et al.*, 2020).

2.6.1.3 *Escherichia coli*

A *Escherichia coli*, é uma bactéria gram-negativa, anaeróbia facultativa, em forma de bastonete e pertence à família *Enterobacteriaceae*. Ela foi descoberta e isolada pela primeira vez em 1885 pelo médico alemão Theodor Escherich, pioneiro em seus métodos de cultivo anaeróbico e utilizou a nova técnica de coloração desenvolvida por Hans Christian Gram para isolar uma variedade de bactérias a partir de amostras fecais infantis. Esses métodos permitiram a Escherich realizar estudos mais aprofundados sobre a *E. coli* e suas características (Denamur *et al.*, 2021).

Figura – 7: Micrografia eletrônica de varredura colorida mostrando um número de bactérias *Gram-negativas Escherichia coli*.



Fonte: <https://www.britannica.com/science/E-coli#/media/1/192351/147082>

Sua morfologia é a de um bacilo (forma de bastão), e ela é caracterizada por ser anaeróbica facultativa, o que significa que ela pode crescer tanto na presença quanto na ausência de oxigênio. Possui uma ampla gama de sorotipos com diferentes propriedades, mas a maioria deles é considerada inofensiva para os seres humanos (Pitout *et al.*, 2022). A *E. coli* desempenhou um papel crucial no desenvolvimento da genética. Em 1946, o cientista norte-americano George W. Beadle demonstrou que as mutações genéticas ocorrem nas bactérias, usando a *E. coli* como organismo de estudo. Esta descoberta revolucionou a compreensão da genética e desempenhou um papel significativo na fundação da genética molecular (Bonten *et al.*, 2021).

Ela possui uma parede celular fina composta por peptidoglicano, que é envolvida por uma membrana plasmática e uma membrana externa que contém lipopolissacarídeos (LPS), além disso, a *E. coli* tem um único cromossomo circular composto por DNA de fita dupla (Yang *et al.*, 2020). A *E. coli* possui apêndices externos que desempenham papéis importantes em sua patogenicidade. As fimbrias, também conhecidas como *pili*, são estruturas semelhantes à pelos que possibilitam a bactéria aderir às superfícies hospedeiras, facilitando a colonização. Além disso, pode ser flagelada, o que lhe confere a capacidade de se mover, o que é importante para encontrar novos locais de colonização (Liu *et al.*, 2020).

Embora muitas cepas de *E. coli* sejam inofensivas, algumas se destacam por sua patogenicidade, ou seja, sua capacidade de causar doenças em seres humanos e outros animais (Liu *et al.*, 2020). A patogenicidade da *E. coli* depende de uma variedade de fatores virulentos, que incluem toxinas, proteínas de aderência, sistemas de secreção e capacidade de invasão de tecidos. Além disso, frequentemente desenvolve resistência a antibióticos, tornando o tratamento de infecções cada vez mais desafiador (Denamur *et al.*, 2021). As toxinas produzidas por cepas patogênicas de *E. coli* são essenciais para causar doenças. A toxina Shiga produzida por *Escherichia coli* Enterohemorrágica (EHEC) é uma das mais estudadas e perigosas. Ela causa danos às células intestinais e pode levar a complicações graves (Dos Santos *et al.*, 2023).

As fimbrias e outras proteínas de aderência permitem que a *E. coli* se fixe a células hospedeiras, iniciando a colonização. Isso é essencial para a infecção do trato gastrointestinal e urinário. A *E. coli* possui sistemas de secreção que lhe permitem injetar proteínas efetoras nas células hospedeiras, alterando sua função e promovendo a infecção (Aleksandrowicz *et al.*, 2021).

Além dos mecanismos diretos de patogenicidade, a capacidade da *E. coli* de adquirir genes de virulência através da transferência horizontal de genes também desempenha um papel fundamental na sua patogenicidade (Moralez *et al.*, 2021). Isso é frequentemente facilitado por plasmídeos, elementos genéticos móveis que carregam genes de virulência e podem ser transferidos entre bactérias. A aquisição de novos genes de virulência pode transformar uma cepa aparentemente inofensiva de *E. coli* em um patógeno perigoso (Lee *et al.*, 2022).

Diversas cepas de *E. coli* são responsáveis por infecções gastrointestinais, causando sintomas como diarreia, cólicas abdominais, náusea e vômito (Wei *et al.*, 2021). A gravidade das infecções varia dependendo da cepa envolvida. Em recém-nascidos, a *E. coli* pode causar meningite, uma inflamação das membranas que envolvem o cérebro e a medula espinhal. Isso é particularmente preocupante em bebês prematuros e de baixo peso ao nascer (Shekhar; Merchant, 2022). A presença de *E. coli* na corrente sanguínea pode levar à sepse, uma resposta

inflamatória sistêmica do corpo a uma infecção. A sepse é uma condição potencialmente letal que pode levar à falência de órgãos e requer atenção médica urgente. A *E. coli* é uma bactéria comum no trato gastrointestinal humano e de outros animais. A transmissão ocorre principalmente por meio de alimentos ou água contaminados (Procianoy; Silveira, 2020). O consumo de alimentos crus ou mal cozidos, bem como a falta de higiene pessoal, podem aumentar o risco de infecção (Khan; Gupta, 2020). A prevenção de infecções por *E. coli* patogênica envolve boas práticas de higiene e segurança alimentar. Cozinhar alimentos de origem animal completamente, lavar as mãos regularmente e evitar o consumo de água não tratada são medidas eficazes para reduzir o risco de infecção.

O tratamento de infecções por *E. coli* patogênica pode ser desafiador devido à crescente resistência a antibióticos. Muitas cepas de *E. coli* adquiriram resistência a múltiplos antibióticos, tornando o tratamento comum menos eficaz. Portanto, a escolha de antibióticos ou alternativas naturais aliadas a biotecnologia deve ser baseada em testes de sensibilidade, e o uso responsável de antibióticos é fundamental para combater o desenvolvimento de resistência.

2.6.2 Resistência microbiana

A resistência microbiana é um fenômeno que tem preocupado a comunidade científica e a área da saúde em todo o mundo, especialmente a resistência bacteriana tem se tornado cada vez mais desafiadora no tratamento de infecções causadas por bactérias. A capacidade desses microrganismos de resistir à ação de medicações antibióticas tem levado a um aumento no número de infecções difíceis de tratar e a uma maior morbimortalidade (Luo *et al.*, 2021).

O histórico da resistência microbiana remonta ao surgimento dos antibióticos na década de 1940. Naquela época, esses medicamentos revolucionaram o tratamento de infecções, salvando milhões de vidas. No entanto, o uso indiscriminado e inadequado dos antibióticos ao longo dos anos levou ao desenvolvimento de bactérias resistentes (Hamel; Rolain; Baron, 2021).

De acordo com a Organização Pan-Americana da Saúde (2021), a resistência antimicrobiana (RAM) coloca em risco a eficácia da prevenção e do tratamento de um número cada vez maior de infecções por vírus, bactérias, fungos e outros microrganismos. A RAM é um problema complexo e multifatorial que envolve diversos fatores, como o uso excessivo e inadequado de antibióticos em humanos e animais, a falta de acesso a medicamentos de

qualidade, o uso de antimicrobianos na agricultura e a disseminação global de microrganismos resistentes (Domínguez; Chacón; Wallace, 2021).

No que diz respeito especificamente à resistência bacteriana, essa capacidade das bactérias de resistirem à ação de antibióticos é adquirida por meio do desenvolvimento de mecanismos de resistência (Serwecińska, 2020). Segundo Baaloudj e colaboradores (2021), as bactérias podem desenvolver diferentes estratégias para se protegerem dos efeitos dos antibióticos. Um dos principais mecanismos de resistência bacteriana é a produção de enzimas que inativam ou modificam os antibióticos. Um exemplo conhecido é a beta-lactamase, uma enzima produzida por algumas bactérias que degrada a estrutura dos antibióticos beta-lactâmicos, como a penicilina. Essa enzima impede que o antibiótico exerça seu efeito bactericida, tornando as bactérias resistentes (Fatima *et al.*, 2021).

Outro mecanismo comum é a modificação dos sítios-alvo dos antibióticos. As bactérias podem alterar as estruturas das proteínas que são alvo dos antibióticos, tornando-as menos suscetíveis aos seus efeitos (Pepi; Focardi, 2021). Esse é o caso, por exemplo, da resistência à rifampicina em algumas cepas de *Mycobacterium tuberculosis*, causador da tuberculose (Feyisa *et al.* 2019). Além disso, as bactérias também podem desenvolver sistemas de bombeamento que as ajudam a eliminar os antibióticos de seu interior. Esses sistemas de efluxo são capazes de bombear os antibióticos para fora da célula bacteriana, impedindo que eles alcancem concentrações suficientes para serem efetivos (Eddabra *et al.*, 2020).

A resistência bacteriana também pode ser adquirida através da transferência de material genético de outras bactérias. Esse processo, chamado de transferência horizontal de genes, permite que as bactérias adquiram genes de resistência de outras espécies bacterianas (Li; Zhang, 2022). Essa capacidade de troca genética contribui para a rápida disseminação da resistência entre diferentes bactérias.

Atualmente, a resistência microbiana se tornou um desafio global. Estima-se que, até 2050, as infecções resistentes a antibióticos poderão causar mais de 10 milhões de mortes por ano, superando o número de óbitos por câncer (Mancuso *et al.*, 2021). Isso ocorre porque as opções terapêuticas estão se esgotando, e muitas bactérias já são resistentes à maioria dos antibióticos existentes. O contexto atual da resistência microbiana envolve a disseminação de bactérias resistentes em diversos ambientes, como hospitais, comunidades e até mesmo em animais. Essa disseminação ocorre por meio do contato direto entre pessoas, da contaminação de alimentos e da água, bem como do uso indiscriminado de antibióticos na medicina humana e veterinária. Além disso, a resistência bacteriana pode ser transmitida verticalmente, ou seja, de mãe para filho, aumentando ainda mais a disseminação dessa resistência (Fong, 2023).

Diante desse cenário preocupante, é fundamental adotar uma abordagem integrada para combater a resistência microbiana. Isso envolve a implementação de políticas de uso racional de antibióticos, o fortalecimento dos sistemas de vigilância e controle de infecções, o desenvolvimento de novos antibióticos e alternativas terapêuticas, a promoção de práticas adequadas de higiene e biossegurança, e o incentivo à pesquisa e desenvolvimento de vacinas (Pulingam *et al.*, 2022). Além disso, é importante conscientizar a população sobre a importância do uso adequado de antibióticos e da prevenção de infecções. A automedicação e a prescrição desnecessária de antibióticos devem ser evitadas, pois contribuem para o surgimento e disseminação da resistência bacteriana (Pereira *et al.*, 2022).

Em suma, a resistência microbiana, especialmente a resistência bacteriana, é um problema de saúde pública mundial que vem crescendo de forma alarmante nas últimas décadas. As bactérias têm desenvolvido mecanismos para resistir aos antibióticos, tornando-se cada vez mais difíceis de serem combatidas. É necessário unir esforços de diferentes setores da sociedade para enfrentar esse desafio, buscando soluções sustentáveis e eficazes para garantir a eficácia dos tratamentos antimicrobianos e preservar a saúde da população.

2.7 Vegetal de interesse: *Anacardium occidentale* L.

A escolha do *Anacardium occidentale* como vegetal para a síntese verde de nanopartículas não foi aleatória. A literatura relata suas atividades antimicrobianas (Rodrigues, 2023), anti-inflamatória (Soares *et al.*, 2022) e antioxidante (Chen *et al.*, 2023). Levou-se em conta também, a disponibilidade estudos já relatados sobre a aplicabilidade de insumos de partes do cajueiro, utilizados na síntese de nanopartículas (Sheny *et al.*, 2011). Além disto, a escolha do cajueiro é devida 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 8) pertence à família *Anacardiaceae*, gênero *Anacardium*. É uma planta tipicamente tropical, perene, crescimento contínuo, alcançando até 20 m de altura (Santos, 2007). É encontrado em vários outros países, como Índia, Brasil, Moçambique e Tanzânia (Padilha *et al.*, 2020).

Figura – 8: Cajueiro com seus pseudofrutos e frutos (castanha).



Fonte: autor (2022).

É inegável a importância da cultura do caju para avanços na pesquisa e possíveis soluções, especialmente na área da saúde. No Nordeste brasileiro, uma região economicamente desfavorecida, a cajucultura é uma das principais fontes desses compostos fenólicos, impulsionando a economia local, gerando empregos e renda (Xavier *et al.*, 2022). O caju, especificamente o pedúnculo floral, é a parte mais atraente da árvore, com uma aparência exótica e uma variedade de cores, que vão do vermelho ao amarelo. Além disso, o caju possui um alto teor de vitamina C e um valor nutricional significativo. No entanto, atualmente, há um aproveitamento limitado do potencial disponível dessa matéria-prima (Novaes; Novaes, 2021).

A amêndoa da castanha do caju (ACC), que é a verdadeira fruta do cajueiro, é consumida pelas pessoas como alimento. Juntamente com o líquido da casca da castanha (LCC), a amêndoa constitui o principal produto de exportação. Além disso, os compostos fenólicos extraídos dessas partes da planta são utilizados na indústria automotiva e possuem propriedades medicinais, como ação antisséptica, vesicante e vermífuga (Santos, 2007). A composição do caju apresenta uma variedade de nutrientes, incluindo carboidratos, taninos, sais minerais, vitaminas e ácidos orgânicos. Segundo Rodrigues e colaboradores (2023), a casca da castanha contém ácido anacárdico, cardol, anacardol, taninos, flavonoides, ácido gálico e ácido siríngico. A película que envolve a amêndoa possui epicatequina e beta-sitosterol. A semente (amêndoa) contém proteínas, minerais, esteroides, triterpenóides e tocoferóis. O pseudofruto do caju apresenta concentrações de taninos, água, açúcares, proteínas, vitamina C, ácidos orgânicos, carotenoides e fibras. As cascas e folhas do cajueiro contêm fenóis, flavonoides,

esteroides, saponinas, gomas, catequinas, taninos, resinas e corantes. De acordo com De Almeida (2022), *A. occidentale* possui onze classes distintas de metabólitos secundários, sendo os taninos os principais responsáveis pelas propriedades farmacológicas. O cajueiro é popularmente utilizado como remédio anti-inflamatório e contra disenteria (De Araújo *et al.*, 2020). Kustiawan (2023) relata propriedades antifúngicas, antibacterianas e antitumorais.

Alguns fatores, como solo, safra, maturação e condições climáticas, podem afetar a composição química e a qualidade nutricional do cajueiro (Aminu *et al.*, 2021). Alterações bioquímicas nos frutos também podem ocorrer durante a colheita como afirma Adiga e colaboradores (2020).

Ao considerar uma planta como candidata para a biossíntese, é importante levar em conta certos fatores. Uma revisão da literatura para analisar estudos prévios é vantajosa, pois contribui para a construção de um banco de dados sobre o uso de plantas na síntese verde. É interessante observar a eficácia do mecanismo de síntese e o potencial do extrato em atuar como um biorredutor do sal metálico, além de sua capacidade de recobrir as partículas. Além disso, o valor medicinal associado à planta e sua ampla distribuição geográfica tornam seu uso ainda mais atrativo (De Araújo *et al.*, 2020).

2.8 Métodos de Caracterização das Nanopartículas

2.8.1 Espectroscopia UV – Visível

A técnica de fotometria de UV-Vis é amplamente utilizada na caracterização de nanopartículas (Sharma *et al.*, 2022). Essa técnica envolve a absorção de radiação ultravioleta/visível (180 a 780 nm) pelo material, resultando na excitação dos elétrons do estado fundamental para o estado excitado. O espectro de absorção é obtido iluminando a amostra (que está diluída em um líquido) com luz e determinando a relação entre a intensidade da radiação que atravessa a amostra e uma referência (Vijayaram *et al.*, 2023).

Normalmente, comprimentos de onda entre 400 e 800 nm são utilizados para a caracterização de nanopartículas metálicas com dimensões entre 2 e 100 nm (Belardja *et al.*, 2020). A absorvância é altamente sensível às propriedades do material, como sua natureza, tamanho, forma e grau de agregação das nanopartículas (Aldabib; Edbeib, 2020). Estudos têm analisado a absorvância no espectro UV-Vis de nanopartículas de ouro. De acordo com esses

estudos, observa-se que a absorvância está diretamente relacionada ao tamanho, forma e composição das nanopartículas de ouro (Panja *et al.*, 2021).

Devadharshini e colaboradores (2023) relataram as propriedades ópticas das nanopartículas de ouro e constataram que o aumento do tamanho das partículas resultou em um deslocamento para comprimentos de onda maiores no espectro de absorvância. Além disso, diferentes formas das nanopartículas, como esféricas, triangulares e cilíndricas, também influenciaram a intensidade e a forma do espectro de absorvância (Gunawan; Sardjono, 2022).

Estudos recentes também têm explorado as propriedades de nanopartículas de prata com revestimentos ou funcionalizações específicas. Khan e colaboradores (2018) investigaram o efeito da modificação de superfície nas propriedades ópticas das nanopartículas de prata e observaram que a presença de revestimentos orgânicos ou ligantes influenciou significativamente a absorvância no espectro UV-Vis.

2.8.2 Espectrometria de Massa com Fonte de Plasma (ICP-MS)

A caracterização de nanopartículas metálicas é de extrema importância para compreender suas propriedades e potenciais aplicações em diferentes áreas, como ciência dos materiais, nanotecnologia e medicina. A técnica de Espectrometria de Massa com Fonte de Plasma (ICP-MS) tem se destacado como uma poderosa ferramenta para essa caracterização, permitindo a análise e quantificação dessas partículas com alta sensibilidade e precisão (Meermann; Nischwitz, 2018), além de ser sensível a concentrações na escala de ng/L.

A Espectrometria de Massa com Fonte de Plasma Indutiva (ICP-MS) utiliza um plasma de argônio para ionizar as amostras, permitindo a análise de uma ampla gama de elementos químicos presentes nas nanopartículas metálicas (Witzler *et al.*, 2016). O plasma de argônio é capaz de ionizar as partículas, convertendo-as em íons que podem ser detectados e quantificados pelo espectrômetro de massa. A intensidade do sinal é determinada pelo tamanho da partícula, e a frequência das ondas é diretamente proporcional à concentração das nanopartículas (Laycock, *et al.*, 2022).

O espectrômetro de massa é composto por três principais componentes: a fonte de plasma, o sistema de separação de íons e o detector. O plasma de argônio, gerado pela fonte de plasma, ioniza as partículas metálicas presentes na amostra. Os íons são então separados de acordo com sua massa e carga elétrica pelo sistema de separação de íons, e finalmente são detectados pelo detector, que gera um espectro de massa (Montaño *et al.*, 2019). A técnica de

ICP-MS possui diversas vantagens na caracterização de nanopartículas. Ela é capaz de fornecer informações precisas sobre a composição química das partículas, permitindo a identificação de diferentes elementos presentes nas amostras (Fuentes-Cervantes *et al.*, 2023). A ICP-MS também pode fornecer informações sobre a valência dos elementos, o que é importante para compreender suas propriedades e reatividade química (Tian *et al.*, 2022). Porém, a técnica de ICP-MS também possui algumas limitações. É necessário um preparo adequado das amostras, a fim de evitar contaminações e garantir resultados confiáveis (Flores *et al.*, 2021). Além disso, a técnica pode ser onerosa devido ao custo dos equipamentos e reagentes utilizados, limitando sua acessibilidade em alguns laboratórios (Flores *et al.*, 2021). A técnica ICP-MS possui uma ampla gama de aplicações na caracterização de nanopartículas metálicas. Além das áreas mencionadas anteriormente, como ciência dos materiais, nanotecnologia e medicina, a técnica também é amplamente utilizada em estudos ambientais (Laycock *et al.*, 2022).

A Espectrometria de Massa com Fonte de Plasma (ICP-MS) é uma ferramenta poderosa para a caracterização de nanopartículas metálicas. Ela permite a análise e quantificação dessas partículas com alta sensibilidade e precisão, fornecendo informações sobre sua composição química, distribuição de tamanho e estabilidade.

2.8.3 Potencial Zeta (ζ)

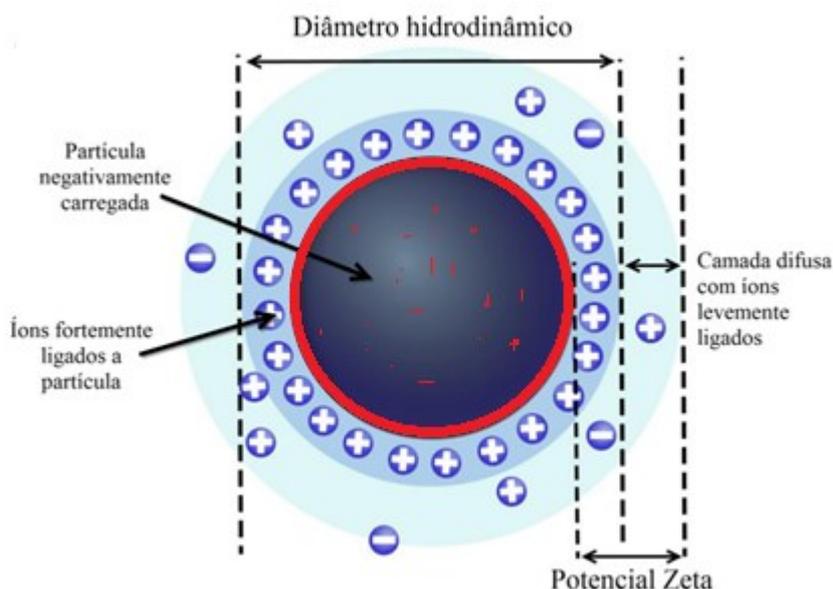
Vários elementos exercem influência na estabilidade de um coloide. Uma medida adequada para essa avaliação é a análise do Potencial Eletrocinético (PE), ou seja, o exame do potencial de superfície (Chandrasekaran; Kim; Chun, 2020). O PE corresponde ao potencial no plano de deslizamento, que se situa a uma certa distância da superfície. Esse plano é definido como a região em que parcelas de fluido se movem em direções opostas em fenômenos físicos, como a eletroforese e a eletrosmose (Carvalho *et al.*, 2018).

De modo geral, sempre que um material entra em contato com um líquido, tende a adquirir carga elétrica em sua superfície. A carga elétrica líquida na superfície das partículas afeta a distribuição de íons em sua proximidade, resultando em um aumento na concentração de íons de carga oposta (Kazemzadeh *et al.*, 2019). Esse processo leva à formação de uma camada elétrica dupla na interface entre a partícula e o líquido, conforme ilustrado na Figura 7.

Essa dupla estrutura possui duas áreas, uma interna, que engloba os íons fortemente vinculados à superfície, que não é impactada por movimentos térmicos, e uma região externa, conhecida como Camada de Stern, que neutraliza a maior parte da carga de superfície (Lunardi

et al., 2021). Embora a maioria das cargas seja neutralizada, uma porção residual tem a capacidade de atrair íons para o coloide, porém com menor intensidade e a uma distância maior da superfície, resultando na formação da camada dispersa, ou camada difusa (Kamble, *et al.*, 2022).

Figura – 9: Esquema de NP em solução com destaque para as medidas de diâmetro hidrodinâmico e potencial Zeta.



Fonte: Adaptado de Albernaz (2014).

A camada dispersa é suscetível a alterações devido a agitação térmica, concentração de sais, entre outros fatores. A estabilidade das partículas coloidais é determinada pela carga exercida pelo coloide sobre a camada dispersa e pela distância entre os íons nessa região (Crist *et al.*, 2021). Em outras palavras, se a carga da superfície do coloide for alta e a distância entre os íons da superfície for grande, o coloide será considerado estável, evitando a aproximação de outras partículas (Mohammadi-Jam; Waters; Greenwood, 2022).

O potencial eletrocinético é, portanto, determinado com base na carga da superfície da partícula e na composição do meio circundante. Ela pode ser obtida experimentalmente, refletindo a carga efetiva das partículas, ou seja, está relacionada à repulsão eletrostática entre elas e, conseqüentemente, à estabilidade da suspensão (Carvalho *et al.*, 2018). A medida do potencial eletrocinético é realizada de forma indireta, estimando-se o valor do potencial na superfície, a técnica mais utilizada e aceita é a mobilidade eletroforética. Neste método, uma

suspensão coloidal diluída é colocada em uma célula de dois eletrodos e um potencial elétrico é aplicado à suspensão.

Partículas eletricamente carregadas se movem em direção ao eletrodo de carga oposta, com maior velocidade à medida que sua carga elétrica e o campo elétrico aplicado aumentam (Shrestha; Wang; Dutta, 2020). De acordo com Lu e Kessler (2006), o valor absoluto do potencial eletrocinético deve ser superior a 25 mV para que um coloide seja considerado estabilizado. A Tabela 1 lista os valores do potencial eletrocinético e a estabilidade correspondente.

Tabela 1. Relação entre valores de potencial Zeta grau de agregação do coloide.

Potencial Zeta (mV)	Agregação coloidal
$\geq \pm 30$	Pouca ou nenhuma
$\geq \pm 15 > \pm 30$	Agregação moderada
$< \pm 15$	Agregação intensa

Fonte: Adaptado de LU e KESSLER (2006).

2.8.4 Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR)

A Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR) é uma técnica poderosa e amplamente utilizada na caracterização de nanopartículas sintetizadas por rota verde (Johnson; Shanmugam; Lakshmi, 2022). A síntese de nanopartículas de prata por métodos de rota verde tem despertado grande interesse devido aos seus benefícios ambientais e à redução do uso de agentes tóxicos na produção desses materiais (Patil; Chougale, 2021).

A técnica FTIR baseia-se na interação das moléculas com a radiação infravermelha, permitindo a análise de suas vibrações moleculares. No caso das nanopartículas de ouro, a FTIR pode fornecer informações valiosas sobre a presença de grupos funcionais na superfície das partículas, bem como sobre a formação de camadas orgânicas ou inorgânicas adsorvidas (Pandey *et al.*, 2019). A coleta dos espectros de FTIR é realizada por meio de um interferômetro, que gera um sinal interferométrico a partir da interferência de dois feixes de radiação infravermelha. Esse sinal é transformado em um espectro de transmissão ou absorção, fornecendo informações sobre as frequências de vibração das moléculas presentes nas AgNPs (Gong *et al.*, 2020).

Uma das principais vantagens da FTIR na caracterização de nanopartículas é sua capacidade de identificar e diferenciar os diferentes grupos funcionais presentes na superfície dos nanoparticulados. Isso possibilita a análise das interações químicas e da estabilidade das nanopartículas, além de fornecer informações sobre a presença de impurezas ou resíduos provenientes do processo de síntese (Hu *et al.*, 2017).

Além disso, a técnica FTIR permite a obtenção de espectros de alta resolução e sensibilidade, o que contribui para uma análise precisa das características estruturais e composicionais das nanopartículas de prata sintetizadas por rota verde (Kumari *et al.*, 2019). Em resumo, a Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier desempenha um papel fundamental na caracterização de nanopartículas de prata sintetizadas por química verde, fornecendo informações detalhadas sobre as propriedades químicas, estruturais e de superfície desses materiais. Essa técnica se mostra valiosa para o desenvolvimento e aplicação dessas nanopartículas em diversas áreas, como a nanomedicina, catálise e eletrônica (Huang *et al.*, 2020).

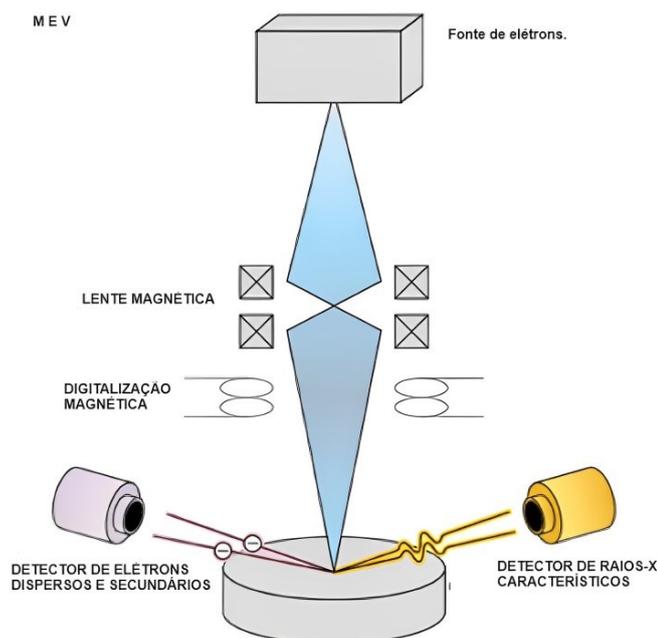
2.8.5 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) com Espectroscopia de Energia Dispersiva de raios-X (EDS).

O Microscópio Eletrônico de Varredura (MEV) acoplado à Espectroscopia de Energia Dispersiva de Raios-X (EDS) é uma técnica poderosa e versátil que combina a capacidade de visualização em alta resolução do MEV com a análise de composição química elementar da EDS (Gautam; Grady; Fernando, 2023). É uma ferramenta bastante utilizada tanto nas áreas de materiais quanto biológicas fornecendo informações sobre a morfologia e permite a identificação de elementos químicos de uma amostra sólida.

O MEV é uma ferramenta de imagem que utiliza elétrons no lugar de luz visível para alcançar uma resolução muito maior do que a obtida com microscópios ópticos tradicionais. No interior do MEV, uma fonte de elétrons emite um feixe de elétrons altamente energético (Maesaroh *et al.*, 2023). Essa fonte é geralmente um filamento de tungstênio ou uma emissão de campo. Os elétrons emitidos são acelerados e focalizados por um conjunto de lentes eletromagnéticas, direcionando-os para a amostra de interesse, como ilustrado na Figura 10. Quando o feixe de elétrons colide com a amostra, ocorre uma série de interações, incluindo espalhamento elástico e inelástico de elétrons, ionização, emissão de elétrons secundários e a emissão de raios-X característicos (Naysmith; Mian; Rana, 2023).

Essas interações são cruciais para a formação de imagens e análise de composição. Os sinais gerados a partir das interações elétron-amostra são detectados e convertidos em informações visuais, criando uma imagem de alta resolução da superfície da amostra (Khatami; Alijani; Sharifi, 2018).

Figura – 10: Esquema do princípio da espectroscopia de energia dispersiva de raios X (EDS) em microscópio eletrônico de varredura (MEV).



Fonte: adaptado de PICCINOTTI (2018).

A Espectroscopia de Energia Dispersiva de Raios-X (EDS) é uma técnica que permite a análise quantitativa da composição elementar de uma amostra. O princípio de funcionamento da EDS envolve a detecção e análise dos raios-X característicos emitidos pelos átomos da amostra quando são excitados por elétrons de alta energia do MEV. Quando os elétrons de alta energia do MEV interagem com os átomos da amostra, eles podem remover elétrons das camadas internas dos átomos, deixando espaços vazios nas camadas eletrônicas (Mohammed; Abdullah, 2018). Quando elétrons de camadas externas transicionam para as camadas vazias, eles emitem raios-X característicos com energias específicas, dependendo do elemento. Os raios-X característicos são coletados por um detector de EDS. Este detector é composto por um cristal de detecção, geralmente de silício ou germânio, que converte os raios-X em impulsos elétricos mensuráveis (Gentile *et al.*, 2020).

Os impulsos elétricos são analisados em termos de energia e intensidade. Isso permite a identificação dos elementos presentes na amostra com base na energia característica dos raios-X. A intensidade dos picos de raios-X está relacionada à concentração dos elementos. Além da análise espectral, a EDS-MEV também pode ser usada para mapear a distribuição dos elementos na amostra, fazendo varreduras da amostra em uma grade e adquirindo espectros em diferentes pontos. Isso cria mapas de composição elementar que mostram onde cada elemento está localizado na amostra (Durdaği *et al.*, 2023).

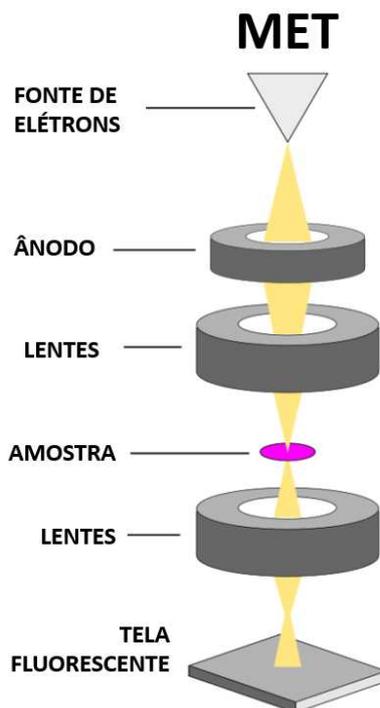
A combinação do MEV com a EDS oferece uma abordagem poderosa para a caracterização de materiais em escala nanométrica, permitindo a visualização de estruturas e a análise de composição química com alta resolução espacial (Davies *et al.*, 2022). Essa técnica desempenha um papel fundamental em uma ampla gama de aplicações na nanotecnologia, desde a pesquisa de materiais até a nanomedicina e a fabricação de dispositivos eletrônicos avançados (Rompalski *et al.*, 2019).

2.8.6 Microscopia Eletrônica de Transmissão (MET)

A microscopia eletrônica de transmissão (MET) é uma técnica avançada de imagem que permite a caracterização de nanopartículas em detalhes estruturais, espectroscópicos, composicionais e cristalográficos. A MET utiliza instrumentos modernos de microscopia eletrônica, que proporcionam muita resolução e precisão na visualização dessas partículas (Franken *et al.*, 2020).

O princípio de funcionamento da MET baseia-se na interação dos elétrons com a amostra a ser analisada. Um feixe de elétrons é gerado por um canhão de elétrons e acelerado em direção à amostra por meio de um sistema de lentes eletromagnéticas (Zhang *et al.*, 2020). Esse feixe de elétrons passa através da amostra e é transmitido para um sistema de detecção, onde é convertido em uma imagem. O MET possui uma série de componentes importantes que contribuem para o seu funcionamento. Entre eles, destacam-se o canhão de elétrons, que gera o feixe eletrônico, as lentes eletromagnéticas, que controlam o foco e a direção do feixe, e o sistema de detecção, que converte o sinal de elétrons em uma imagem visualizável (De Jonge *et al.*, 2019).

Figura – 11: Princípio de funcionamento do Microscópio Eletrônico de Transmissão



Fonte: adaptado de Escalante e Escalante (2019).

Durante o processo de caracterização de nanopartículas por MET, algumas etapas são realizadas. Primeiramente, a amostra é preparada de forma a torná-la suficientemente fina para a passagem dos elétrons. Isso é feito por meio de técnicas de preparação, como a laminação ou a moagem (Shume; Murthy; Zereffa, 2020). Em seguida, a amostra é colocada em um microscópio eletrônico de transmissão, onde é submetida ao feixe de elétrons. Durante a análise, são realizadas diversas imagens da amostra em diferentes regiões, permitindo uma avaliação mais completa das nanopartículas.

Um dos principais sinais utilizados na MET são os elétrons transmitidos, que fornecem informações sobre a estrutura interna da amostra. Além disso, os elétrons dispersos também são utilizados na MET, fornecendo informações sobre a composição e a forma das partículas. A técnica de espectroscopia de elétrons dispersivos em energia (EDS) é utilizada para analisar os elétrons dispersos e determinar a composição química das nanopartículas (Tang *et al.* 2020).

A resolução espacial da MET é determinada pela distância mínima entre dois objetos que podem ser distinguidos na imagem. Essa resolução é influenciada por diversos fatores, como a energia do feixe de elétrons, a qualidade das lentes magnéticas e a distância entre a amostra e o detector (Ijaz *et al.*, 2020). Em geral, a MET possui uma resolução espacial da

ordem de poucos nanômetros, o que permite a visualização e caracterização de nanopartículas com grande detalhe.

Existem algumas limitações da MET, como a dificuldade de visualização de certas partículas, como as de sílica (Prabha *et al.*, 2021). Nesses casos, medidas de microscopia eletrônica de varredura (MEV) podem ser mais adequadas. No entanto, a MET continua sendo uma ferramenta valiosa na caracterização de nanopartículas, permitindo a análise detalhada das propriedades estruturais, composicionais e morfológicas dessas partículas (Titus; Samuel; Roopan, 2019).

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

Otimização e caracterização da biossíntese de nanopartículas de ouro com extrato aquoso das folhas de *Anacardium occidentale* e investigação do possível efeito antibacteriano contra *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli*.

3.2 Objetivos específicos

- Desenvolver uma metodologia de síntese de nanopartículas de ouro utilizando solução aquosa de folhas de *A. occidentale* como agente redutor;
- Produzir AuNPs variando as concentrações do extrato de acordo com um planejamento experimental e otimizar uma condição de síntese;
- Síntese de nanopartículas de ouro utilizando citrato de sódio como agente redutor;
- Caracterização físico-químicas das nanopartículas;
- Investigar uma possível interação e atividade antimicrobiana das nanopartículas frente a uma bactéria Gram positiva e Gram negativa.

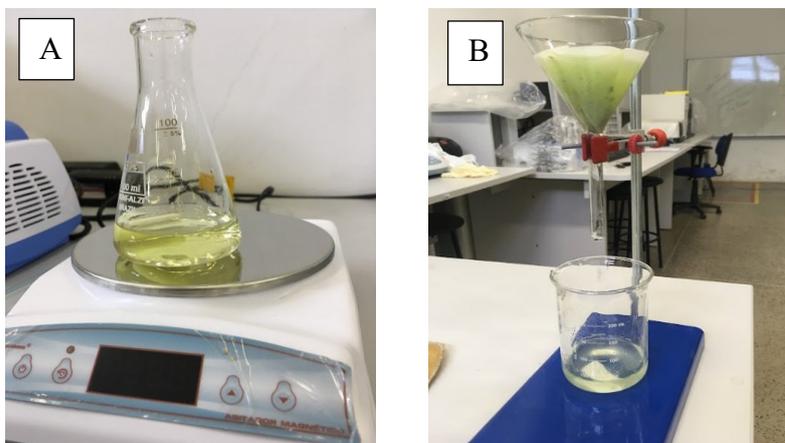
4 PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL

Uma parte dos equipamentos e procedimentos utilizados nesse trabalho foram realizados no Departamento de Química do Programa de Pós-Graduação de Química da Universidade Federal de São Carlos (UFSCar) e análises de imagem foram efetuadas no Laboratório de Central de Microscopia Eletrônica (LCME) da UFSCar e do Laboratório Arquimedes (LabArq), Curso de Engenharia da Computação, *Campus* Mucambinho, da Universidade Federal do Ceará – UFC. Uma parte da síntese das AuNPs e dos testes biológicos foram realizados no Laboratório de Microbiologia do Curso de Ciências Biológicas da Universidade Estadual Vale do Acaraú – UVA. Os reagentes foram comprados da Sigma-Aldrich.

4.1 Otimização de síntese de AuNP com extrato aquoso das folhas de *A. occidentale*

As AuNPs foram produzidas através do processo de oxirredução, empregando uma solução de HAuCl₄ com uma concentração de $2,5 \times 10^{-4}$ mol/L, juntamente com um extrato aquoso das folhas de *A. occidentale*, atuando como agente redutor (Figura 12). A escolha do *A. occidentale* foi baseada na sua abundância de compostos fenólicos, os quais desempenham um papel crucial na redução dos íons metálicos (Viana *et al.*, 2021) Além disso, essa planta apresenta uma notável atividade antibacteriana (Novaes; Novaes, 2021) conferindo funcionalidade às partículas formadas. Todos os protocolos de pesagem de reagentes foram feitos em ambiente climatizado, tarando-se a balança antes de cada medição e utilizando luvas e espátulas. Todas as soluções aquosas foram utilizadas água ultrapura. Todas as vidrarias, assim como as barras magnéticas, foram devidamente limpas duas vezes com água régia (HNO₃ + 3HCl) e enxaguadas cinco vezes com água destilada para remoção de qualquer resíduo orgânico e secos em temperatura ambiente. Para evitar possíveis efeitos relacionados ao armazenamento, as soluções foram preparadas nas datas de uso nos respectivos experimentos.

Figura – 12: [A]: Solução de H_{Au}Cl₄ ($2,5 \times 10^{-4}$ mol/L). [B]: Filtração do extrato aquoso das folhas do *A. occidentale*.



Fonte: autor (2023).

4.2 Coleta das Folhas e Preparação do Extrato

As folhas de *Anacardium occidentale* foram coletadas de cinco árvores diferentes da zona rural do município de Sobral – CE, no mês de julho de 2023 às 10 h da manhã. As amostras foram identificadas e cadastradas no Sistema Nacional de Gestão do Patrimônio Genético e do Conhecimento Tradicional Associado (SisGen) com o número AA2493A. As folhas foram lavadas com água destilada, seguida por cinco ciclos de lavagem e enxague com água ultrapura. Depois secas em temperatura ambiente por quatro a cinco dias, as folhas foram trituradas em um pequeno moinho elétrico (Di Grano Cadence, MDR302), e transferidas para um recipiente garrafa de vidro âmbar e colocadas na geladeira antes do processo de extração.

Figura – 13: [a]: Folhas recém-colhidas. [b]: Folhas secas. [c]: Amostra da folha após processo de moagem.



Fonte: autor (2023).

Para o processo de extração foi utilizado o protocolo da Farmacopeia Brasileira (ANVISA, 2010), onde 300 g de triturado de folhas secas foram colocadas no balão de fundo redondo com adição de 2,5 L de água destilada e submetidas a uma temperatura de 95 °C por duas horas. O extrato aquoso presente no balão de fundo redondo, obtido por decocção das folhas, a solução foi filtrada com papel qualitativo 3µm e com fibra de celulose 0,22 µm e o filtrado foi levado para o freezer -80 °C e após 24 horas levado para ser liofilizado (Liofilizador L101 da Liotop®) e armazenadas em frasco de vidro de cor âmbar, protegido da luz e armazenadas a -18° C, até o momento dos procedimentos e análises.

4.2.1 Protocolo de trabalho e biossíntese das AuNPs

Para verificar o efeito das variáveis sobre a reação, bem como encontrar as condições mais favoráveis para a síntese das nanopartículas, foi proposto um planejamento com três variações de concentração do extrato conforme Tabela 2. Tais variáveis foram estudadas pois podem interferir no tamanho e na concentração das nanopartículas. A concentração de ouro foi fixada em $2,5 \times 10^{-4}$ mol/L por limitar a quantidade de precursores disponíveis no meio reacional, visando à obtenção de um processo de nucleação homogêneo (Cure *et al*, 2018)

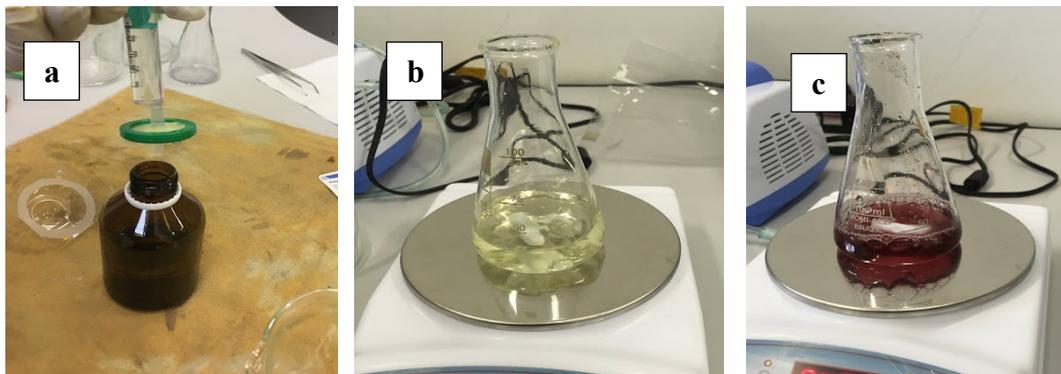
Tabela 2. Planejamento de experimento com variação de massa do agente redutor.

Amostra	Solução de HAuCl₄ (mL)	Extrato/massa adicionada/mL	Tempo
A1	10 mL	E1 = 01mg/mL	10 min.
A2	10 mL	E2 = 05 mg/mL	10 min.
A3	10 mL	E3 = 10 mg/mL	10 min.

Fonte: autor (2023).

Inicialmente para a amostra 1 (A1) foi pesado 01 mg do extrato liofilizado e ressuspenso em 1 mL de água ultrapura e assim sucessivamente com as demais amostras (A2, 5 mg e A3 com 10 mg). Em um Erlenmeyer foram adicionados 10 mL da solução de HAuCl₄ ($2,5 \times 10^{-4}$ mol/L) e deixados sob agitação em um agitador magnético (600 rpm). Na sequência foram adicionados os extratos. Cada síntese teve sua etapa realizada separadamente e obtido as três amostras de AuNPs.

Figura – 14: [a]: Liofilizado ressuspendido. [b]: H_{AuCl}₄ (2,5 x 10⁻⁴ mol/L). [c]: Solução de AuNPs



Fonte: autor (2023).

Após cada etapa de síntese o material foi filtrado com um auxílio de seringas e filtros 0,22 μm para remover particulados indesejados e posteriormente centrifugado a 10.000 rpm por 20 minutos em centrífuga marca Ependorff modelo 5418. O sobrenadante foi descartado e o pellet foi ressuspendido em água ultrapura.

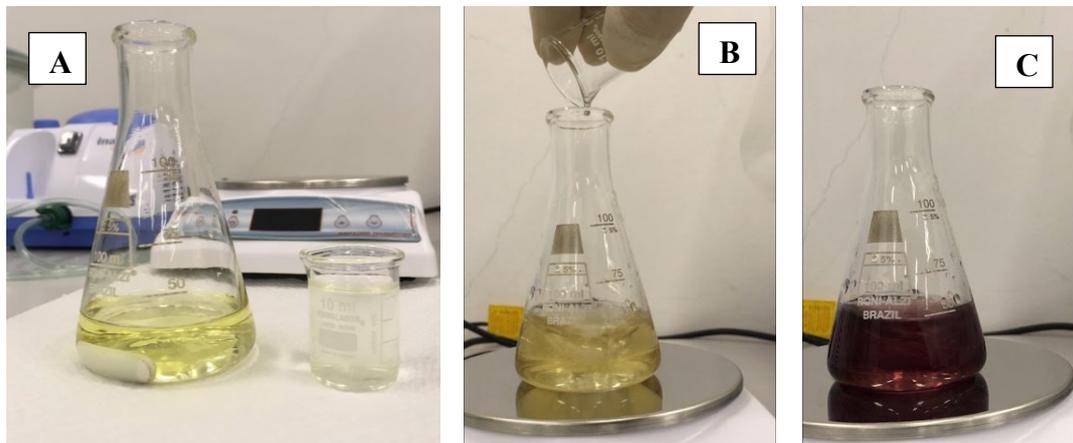
Os dados experimentais foram processados utilizando o software PAST (versão 2.17b, Hammer & Harper, Noruega). As possíveis diferenças estatísticas entre os grupos foram avaliadas pela análise de variância (ANOVA) de um fator, considerando-se estatisticamente significativo $P < 0,05$. Os gráficos foram plotados no programa Origin® 8.5 (Versão Trial).

4.2.2 Síntese das Nanopartículas de Ouro com citrato de sódio

Para fins de comparação, as AuNPs foram sintetizadas utilizando citrato de sódio, um agente redutor tradicionalmente utilizado, e ácido tetracloroáurico (H_{AuCl}₄ Sigma-Aldrich) conforme proposto por Turkevich e colaboradores (1951), com algumas adaptações. Assim como para as AuNPs sintetizadas com extrato aquoso das folhas do cajueiro, todas as vidrarias e materiais utilizados foram previamente lavados três vezes em solução de água régia e posteriormente lavados quatro vezes com água destilada e secos em temperatura ambiente.

Em um Erlenmeyer foi adicionado 30 mL da solução de H_{AuCl}₄ (2,5 x 10⁻⁴ mol/L) sob aquecimento e agitação (600 rpm) até ebulição. Em seguida foi adicionado 3 mL da solução aquosa de citrato de sódio (10⁻³ g/mL) e mantido a agitação e aquecimento por 10 minutos. A mudança da coloração para tom avermelhado indicou a formação das nanopartículas.

Figura – 15: [A]: Solução de HAuCl_4 ($2,5 \times 10^{-4}$ mol/L) e citrato de sódio (1×10^{-3} g/mL). [B]: Adição do citrato de sódio. [C]: AuNP formadas pelo método do citrato.



Fonte: autor (2023).

4.3 Caracterização das Nanopartículas

4.3.1 Espectroscopia UV – Visível

Foram feitas leituras de absorvância das amostras de nanopartículas utilizando um espectrofotômetro JASCO V-630 equipado com lâmpadas do tipo tungstênio-halogênio e deutério. A leitura foi feita de 400 a 800 nm, com intervalo de 1 nm em 1nm, e velocidade de varredura de 600nm/min. Como branco foi utilizado a solução de agente redutor, na concentração utilizada para cada condição de síntese. O resultado foi expresso por meio de gráficos de absorvância por comprimento de onda (nm) obtidos pelo software OriginPro 8.5 (Versão Trial).

4.3.2 Microscopia Eletrônica de Transmissão (MET)

As nanopartículas foram analisadas em um microscópio eletrônico de transmissão (JEM-1011 TEM) operando a 120 kv. $5\mu\text{L}$ das amostras foram gotejadas sobre grades de cobre de 400 mesh, contendo um filme suporte de resina Formvar (*Polivinyll Formal Resin*) e secas a temperatura ambiente. As imagens do MET foram obtidas em diferentes aumentos para se obter

dados gerais da amostra, e imagens mais detalhadas das nanopartículas quanto a forma e tamanho.

4.3.3 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) – EDS

Para essa análise, alíquotas foram centrifugadas (15000 rpm) durante 30 minutos e em seguida foram desidratadas com auxílio de um centrífugo CentriVap® (LABCONCO). Após secas, as amostras foram destinadas às análises utilizando um Microscópio Eletrônico de Varredura (JEOL JSM-6390LV, USA inc.) com área de dispersão de energia espectroscopia de raios -X (Oxford Instruments - EDS).

4.3.4 Distribuição de Tamanho das AuNPs

Com o auxílio do software livre *Image J*, que fornece informações de área de cada nanopartícula, as imagens obtidas do MET foram analisadas para estimar o diâmetro. Os dados foram transferidos para o LibreOffice, e utilizando fórmulas matemáticas o raio ($A = \pi r^2$) e diâmetro ($d = \sqrt{r^2}/2$) foram calculados.

Os dados de diâmetro foram plotados no software OriginPro 8.5 (Versão Trial), e um histograma de distribuição de tamanho foi obtido.

4.3.5 Potencial Zeta (ζ)

2 mL das nanopartículas de ouro foi avaliado em um analisador de partículas Microtac Zetatec System. Os valores são referentes a média de 10 leituras e foram expressos em mV.

4.3.6 Espectroscopia de Infravermelho (FTIR)

O mesmo procedimento de secagem realizado no tópico 4.3.4 foi utilizado nessa etapa. A análise de infravermelho foi feita no modelo Bruker FT-IR Alpha. Todas as bandas foram analisadas pelo software Origin Pro 8.5 (Versão Trial).

4.3.7 Espectrômetro de Massa com Plasma Indutivamente Acoplado (ICP-MS)

As amostras foram destinadas à desidratação. Após secas, as nanopartículas foram destinadas à análise, onde foi utilizado um Espectrômetro de Massa com Plasma Indutivamente Acoplado (ICP-MS) modelo NEXION300D (PerkinElmer). A concentração das nanopartículas de ouro foi determinada e os resultados foram expressos em mg/L.

4.4 Avaliação do Potencial Antimicrobiano

4.4.1 Cepas utilizadas

Foram escolhidas duas cepas de microrganismos, uma Gram negativa (*Escherichia coli* DH5 α) e uma Gram positiva (*Staphylococcus aureus* 1117).

4.4.2 Esterilidade das AuNPs

Alíquotas de nanopartículas de ouro foram incubadas (37°C) em ágar Müeller-Hington (meio sólido) e em caldo BHI (*Brain Heart Infusion* – meio líquido). Após 24 horas, foi realizado teste visual de crescimento bacteriano.

4.4.3 Interação das Bactérias com as AuNPs

A interação a curto prazo das AuNPs com as bactérias foi avaliada, adaptando a metodologia de Joshi (2020). O método de crescimento em placa de ágar foi preparado para cada inóculo de cada microrganismo. Uma alíquota de suspensão bacteriana foi transferida para uma placa de ágar Müeller-Hinton e incubada em estufa bacteriológica (37°C) por 24 horas. Em seguida, algumas colônias foram tocadas com o auxílio de uma alça estéril, e transferidas para um tubo com solução salina estéril (0,9%), até atingir a turbidez semelhante à escala 0,5 de McFarland, ($\pm 1,5 \times 10^8$ UFC/mL).

Foram adicionados 200 μL de suspensão bacteriana e 800 μL de AuNPS em um ependorff estéril. Para controle, 200 μL de suspensão bacteriana foi adicionado a 800 μL de água ultrapura. Com o auxílio de um vórtex, a mistura foi agitada a 500 rpm por dez minutos. Na sequência, 5 μL foi gotejado sobre uma grade de cobre 400 mesh, coberta com um filme suporte de resina Formar (Polivinyll Formal Resin) e secas a temperatura ambiente e analisadas por microscopia eletrônica.

4.4.4 Potencial antibacteriano

Seguindo protocolos e adaptações na metodologia do *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI), documento M07-A9 (2012), a ação das AuNPs contra *S. aureus* e *E. coli* foi avaliada empregando a técnica de microdiluição em caldo. Inóculos de cada microrganismo foram preparados pelo método de crescimento em placa de ágar Müeller-Hinton. Com o auxílio de alça estéril, o inóculo foi transferido para uma placa de ágar nutriente e incubado em estufa bacteriológica (24h a 37 °C). Após 24 horas, quatro a cinco colônias foram tocadas com o auxílio de uma alça de platina e transferidas para salina estéril, com turbidez ajustada visualmente com a da solução padrão de MacFarland 0,5.

O inóculo teve sua concentração ajustada em caldo Müeller-Hinton para de 10^4 UFC/mL. A solução estoque de cada nanopartícula estava na concentração resultante após a síntese (A1, A2, A3, conforme a Tabela 4). Em uma microplaca de 96 poços, 100 μL da mistura de caldo e bactéria foi adicionada nos poços juntamente com 100 μL de cada solução de AuNPs nas devidas concentrações. Para garantir que a possível atividade antimicrobiana se deu devido as nanopartículas, os extratos das folhas do cajueiro foram testados nas mesmas concentrações utilizadas na síntese. Poços contendo apenas meio e bactéria foram destinados ao controle positivo e considerados como crescimento 100%. Poços com meio e nanopartículas foram destinados ao controle de esterilidade delas, e poços contendo nanopartícula e água como branco para a leitura da absorbância.

A placa foi incubada em um agitador (200 rpm) por 24 horas a 37° C. A leitura inicial dos resultados se fez de forma visual, seguida pela leitura da absorbância dos poços a 600 nm por um leitor de placa de ELISA (EZ READ 400 – BIOCHROM). Todo experimento foi realizado em triplicata, e os dados foram expressos em média de crescimento \pm desvio padrão da média (Kalmpourtzidou; Eilander; Talsma, 2020).

4.4.5 Análise da Interação entre AuNPs e as Bactérias

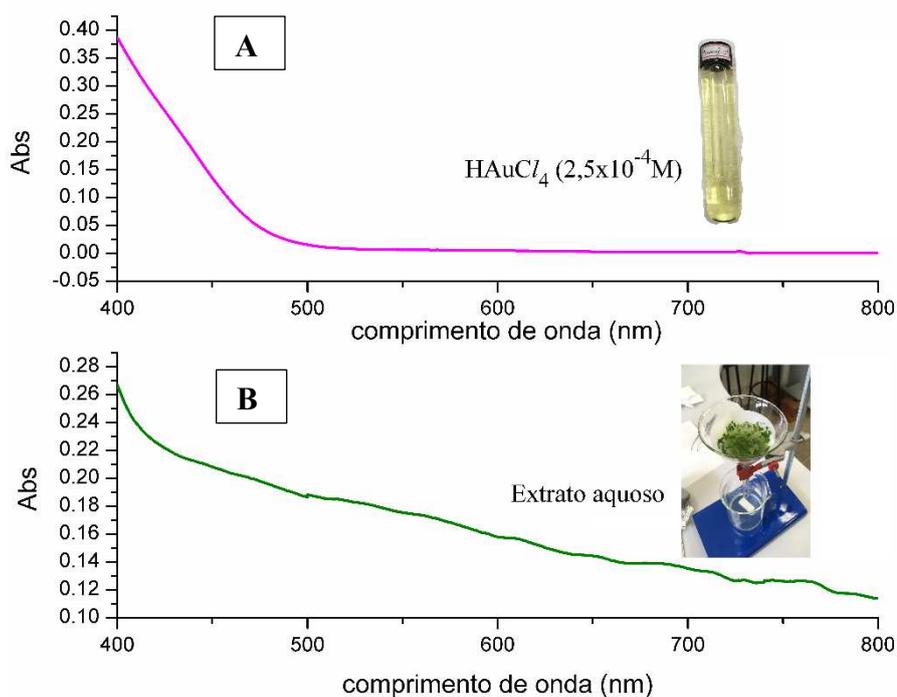
As amostras foram transferidas dos poços para tubos (ependorff®) e lavadas três vezes em tampão fosfato (PBS) para remover o meio de cultura. As lavagens foram realizadas a 6000 rpm durante um minuto. O material foi fixado com glutaraldeído 2,5% em tampão cacodilato de sódio (0,1M), por duas horas em temperatura ambiente. Após fixação, três novas lavagens foram feitas com tampão cacodilato (0,1M) por dez minutos cada banho. Para a pós-fixação, foi adicionando Tetróxido de Ósmio (OsO_4) em cacodilato 0,1M. A mistura foi deixada em capela, no escuro por uma hora. Na sequência foi realizado uma nova série de lavagens: um em tampão cacodilato 0,1 (pH 7,2-7,4) e duas vezes em água destilada, onde cada banho foi de aproximadamente dez minutos. O material foi desidratado com banhos de acetona com concentrações crescentes (30, 50, 70, 90 e 100%) de dez minutos cada. Após a desidratação, a amostra foi infiltrada com acetona 100% e Epon, na proporção de 1:1, por um dia. Posteriormente foi feito a inclusão em epon puro, por doze horas, para finalmente ser emblocado em tubo beam, a 60°C em estufa por vinte quatro horas. Por fim, o material foi cortado com um ultramicrotomo. Os cortes foram colocados sobre uma grade 400 mesh e contrastados. Para *E. coli*, a contrastação se deu com vinte minutos de acetato de uranila 2% e cinco minutos com citrato de chumbo. Já para *S. aureus* cinco minutos com acetato de uranila 2% e três minutos com citrato de chumbo. As grades foram então destinadas à Microscopia Eletrônica de Transmissão, e as imagens foram feitas em diferentes aumentos, a 120kV.

5 RESULTADOS E DISCUSSÕES

5.1 Otimização da Biossíntese

A otimização da fitossíntese se deu com base no planejamento fatorial, e a escolha dos parâmetros de síntese foram determinados com base na absorbância. O Gráfico 1A trata-se do espectro de absorção do ouro na sua forma iônica. Não ocorre absorção no visível, e por isso não será considerado nos gráficos de absorção das nanopartículas. Na mesma imagem mostra os valores de absorbância do extrato aquoso das folhas do cajueiro (Gráfico 1B).

Gráfico – 01: [A]: Absorbância solução de HAuCl_4 ($2,5 \times 10^{-4} \text{ mol/L}$). [B]: Absorbância do extrato de *A. occidentale* na concentração utilizada na síntese da amostra A3.

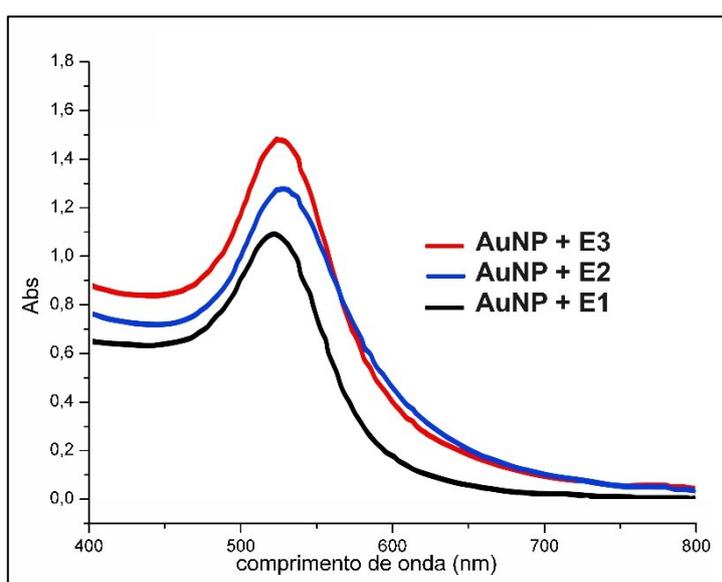


Fonte: autor (2023).

O Gráfico 1B ilustra o espectro de varredura da amostra E3 (10mg/mL) do extrato. As outras amostras (E1 e E2) tiveram resultado semelhante, diferindo apenas um pouco na intensidade de absorção. Em complemento a este gráfico, utilizando os valores de absorbância como variável resposta, a análise estatística revela que apenas a concentração foi significativa para a reação. O desenvolvimento de metodologias de síntese de AuNPs utilizando extratos naturais é de extrema relevância, principalmente no âmbito ambiental (Rónavári *et al.*, 2021).

Se compararmos o material vegetal com o citrato de sódio (um agente redutor tradicionalmente utilizado) observamos que o extrato aquoso foi capaz de levar a formação das AuNPs de forma satisfatória. Em todas as concentrações testadas extrato aquoso das folhas do cajueiro foi capaz de reduzir o sal metálico. A ação redutora de compostos vegetais vem sendo utilizada em diversos estudos que envolvem a síntese de nanopartículas metálicas (Amini, 2019; Soni *et al.*, 2021). Quanto às condições de síntese, a análise estatística mostrou que apenas a concentração do agente redutor foi significativa para o processo, ou seja, a reação se completou em um tempo igual ou inferior a dez minutos, e por isso tempos maiores não modificaram as características das nanopartículas. Com relação à concentração do extrato, foram observadas alterações no padrão do espectro com as alterações de concentração. O Gráfico 2 mostram que quanto maior a concentração de agente redutor, maior intensidade de absorção. O espectro de varredura mostrou ainda que as nanopartículas de ouro sintetizadas pela rota verde tiveram pico de absorção entre 519 e 529 nm. Tais bandas podem ser atribuídas à Ressonância de Plasmônica de Superfície Localizada (LSPR) de AuNPs (Lee; Link, 2021.). Uma vez que as propriedades eletrônicas e ópticas das nanopartículas são determinados por seu tamanho e forma (Wang; Hasanzadeh Kafshgari; Meunier, 2020), a posição do pico SPR está diretamente relacionada a tais características (Fahmy *et al.*, 2019). A solução precursora contendo íons de ouro não apresentou banda característica SPR. Assim, pode concluir-se que a banda de SPR observada é devido apenas à formação de AuNPs (Kasthuri; Veerapandian; Rajendiran, 2009).

Gráfico – 02: UV-Vis das AuNPs com extrato aquoso das folhas de *A. occidentale* com diferentes concentrações (E3, E2 e E1 de extrato).



Fonte: autor (2023).

A Figura 16 ilustra a diferença visual entre as soluções coloidais obtidas pela rota citrato de sódio como agente redutor e a rota verde. As AuNPs sintetizadas com citrato formaram uma solução vermelho vivo, bem intenso, enquanto o obtido com o material vegetal obteve tons mais próximos ao roxo. Quando comparamos a síntese verde com a rota tradicional, observamos que ambas as reações ocorreram em intervalos de tempo semelhantes, no entanto o material vegetal não necessita de energia térmica. Sem aquecimento o citrato de sódio necessita de um tempo extremamente maior para completar a reação, além de dar origem a nanopartículas de maior tamanho e com tendência de formação de aglomerados. Com extrato aquoso das folhas do cajueiro a cor da solução mudou para roxo dentro de quatro minutos, sem necessidade de aquecimento, tempo curto se comparado a outras metodologias que utilizam materiais vegetais, que chegam a levar horas e até dias (Banu *et al.*, 2023). A mudança de cor para tons que variam de vermelho a roxo confirma a formação do coloide de nanopartículas de ouro (Ribeiro *et al.* 2021), e ocorre devido à excitação de vibrações de plásmom de superfície em nanopartículas de ouro, uma propriedade característica (El-Borady *et al.*, 2020).

Figura – 16: Nanopartículas de ouro. [1]: AuNP sintetizada com E1. [2]: AuNP sintetizada com E2. [3] AuNP sintetizada com E3. [4] AuNP sintetizada com de citrato de sódio.



Fonte: autor (2023).

5.2 Potencial Zeta (ζ)

Os resultados das análises de Potencial Zeta demonstraram que as nanopartículas sintetizadas exibem uma estabilidade moderada (Skoog, 2002). As AuNPs produzidas com amostra E1 de extrato exibiram pouca ou nenhuma agregação (-31,2 mV), assim como das

demais nanopartículas sintetizadas com as amostras E2, E3 e citrato de sódio. A Tabela 3 se refere aos valores de potencial Zeta encontrados. Foi observado que o aumento da concentração do material vegetal ocorre redução nos valores do potencial Zeta.

Tabela 3. Estabilidade das nanopartículas com base em valores de potencial Zeta.

<i>AuNPs</i>	<i>Potencial Zeta (mV)</i>
<i>AuNP + E1 (1mg/mL)</i>	- 31,2
<i>AuNP + E2 (5mg/mL)</i>	- 22,08
<i>AuNP + E3 (10mg/mL)</i>	- 17,12
<i>AuNP + citrato</i>	+ 22,3

Fonte: autor (2023).

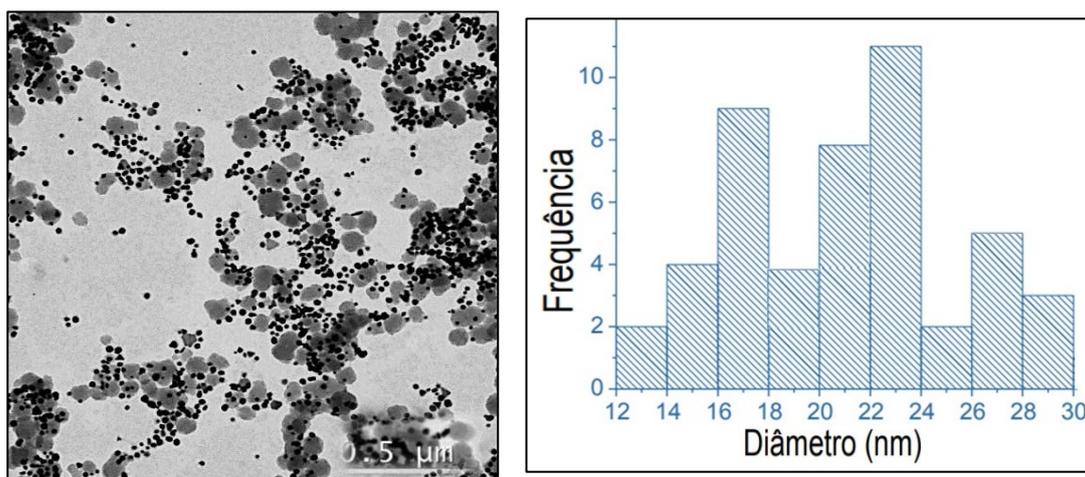
A estabilidade da solução coloidal é diretamente proporcional ao potencial Zeta (PZ). O PZ reflete o potencial de superfície das partículas, o qual é influenciado pelas mudanças na interface com o meio dispersante, em razão da dissociação de grupos funcionais na superfície da partícula ou da adsorção de espécies iônicas presentes no meio aquoso de dispersão (Chandrasekaran; Kim; Chun, 2020). Foi observado que as nanopartículas de ouro produzidas utilizando o extrato aquoso das folhas do cajueiro exibem um valor negativo, e com valor absoluto maior, ou seja, apresentando maior estabilidade, se comparadas às sintetizadas com citrato de sódio. O valor indicou que as moléculas presentes na superfície das AuNPs são compostas principalmente de grupos carregados negativamente e responsável pela moderada estabilidade das nanopartículas. Tal fato pode ser devido a presença de polifenóis, flavonoides e proteínas que são responsáveis pela estabilização das AuNPs (Ahmed *et al.*, 2021). A carga superficial de nanopartículas à base de metal, seja mais negativa (-30) ou mais positiva (+30), demonstrou ser mais estável (Hemlata *et al.*, 2020). Os flavonoides presentes no extrato de folha são agentes redutores fortes, que podem ser responsáveis pela redução do sal de ouro (Han *et al.*, 2022). O grupo carboxílico presente em proteínas pode atuar como um agente tensoativo para fixar à superfície de AuNPs e estabilizá-la através de estabilização eletrostática. Desse modo, verifica-se que folhas do *A. occidentale* tem a capacidade de executar funções duplas de redução e estabilização da AuNP (Beurton, *et al.*, 2020). A estabilidade das nanopartículas é fundamental, principalmente para aplicação em estudos farmacológicos e biomédicos (Sangwan; Seth, 2021).

5.3 Microscopia Eletrônica de Transmissão (MET)

As imagens de Microscopia demonstram a presença das nanopartículas metálicas. As AuNPs formadas com E1 mostraram um tamanho médio de 14 - 24 nm. Com amostra E2 de extrato, o tamanho médio das AuNPs foi de 14 - 20 nm e com E3 de 12 - 26nm.

A Microscopia Eletrônica de Transmissão é utilizada para estabelecer de o tamanho e a forma da disposição de amostras cristalinas (Savitzky *et al.*, 2021). De acordo com Folorunso *et al.* (2019), o estudo por MET investiga o tamanho, estrutura e dispersão das partículas de AuNPs, que eram esféricas, com um tamanho médio de 37,7 nm. Prema *et al.* (2022) relataram que 80% das nanopartículas de ouro sintetizadas usando extrato de chá verde tinham um tamanho de 20 nm.

Figura – 17: Imagens das AuNPs com histograma com distribuição de tamanho das AuNPs + E1 (1 mg/mL).

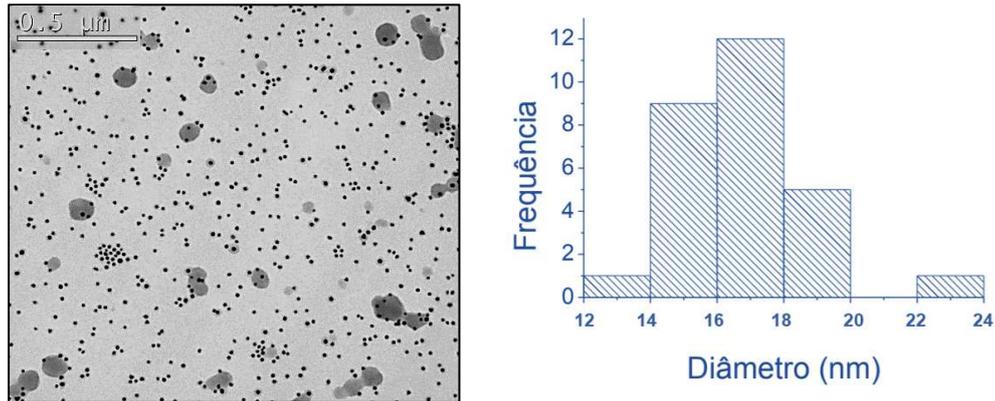


Fonte: autor (2023).

Vários estudos sobre síntese verde apoiam esses achados (Castillo-Henríquez *et al.*, 2020; Kumari; Meena, 2020; Thangamani; Bhuvaneshwari, 2019; Kamaraj *et al.*, 2022; Suriyakala *et al.*, 2022). Resultados que mostram diferentes formas e tamanhos para as mesmas condições experimentais são frequentemente observados (Salem; Fouda, 2021). Embora haja menos variação no tamanho, a morfologia varia amplamente, incluindo formas triangulares, em forma de bastão e hexagonais. Por exemplo, em um estudo que utilizou extrato *Citrus limetta* para sintetizar nanopartículas de ouro, foram obtidas nanopartículas de formato esférico e hexagonal com diâmetro médio de 64 nm (Sivakavinesan *et al.*, 2022). Para se obter

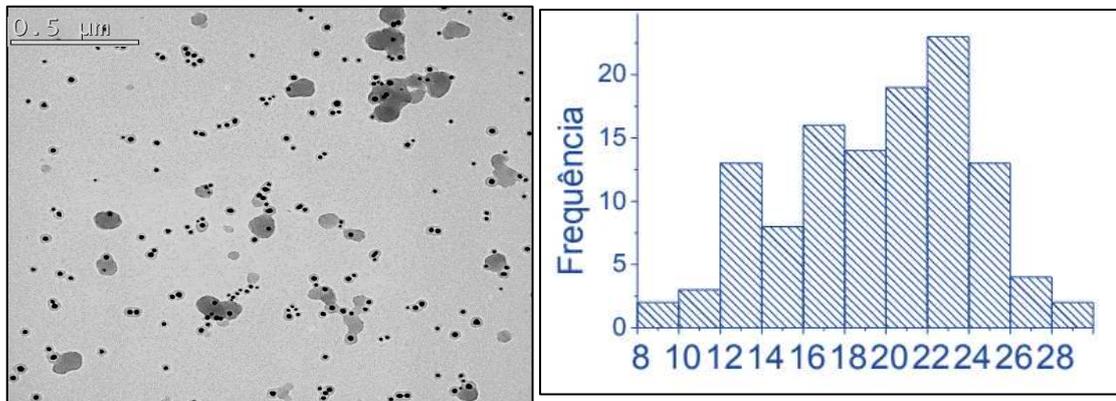
nanopartículas com distribuição de tamanho uniforme, é essencial que todos os núcleos se formem simultaneamente (Heinemann *et al.*, 2021). Quando os núcleos são formados nas mesmas condições, tendem a ter tamanhos muito semelhantes e crescer uniformemente (Taha, 2022).

Figura – 18: Imagens de MET da Amostra 2 (A2) e histograma com distribuição de tamanho das AuNPs + E2 (5mg/mL).



Fonte: autor (2023)

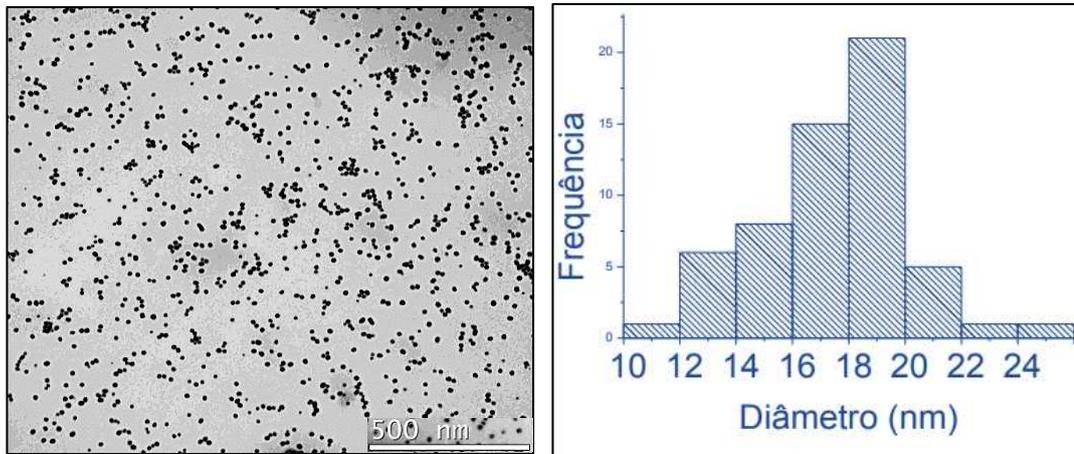
Figura – 19: MET da Amostra 3 (A3) com histograma com distribuição de tamanho das nanopartículas.



Fonte: autor (2023).

Em todas as condições de síntese, o uso do extrato das folhas do cajueiro levou a formação de nanopartículas em formatos esféricos, triangulares, poucos bastonetes, e alguns aglomerados amorfos. Dentre as AuNPs obtidas pela síntese verde, as maiores partículas foram formadas com uma menor concentração de extrato liofilizado, enquanto as menores com E2.

Figura – 20: MET de AuNPs sintetizadas com citrato de sódio com histograma com distribuição de tamanho das nanopartículas.



Fonte: autor (2023).

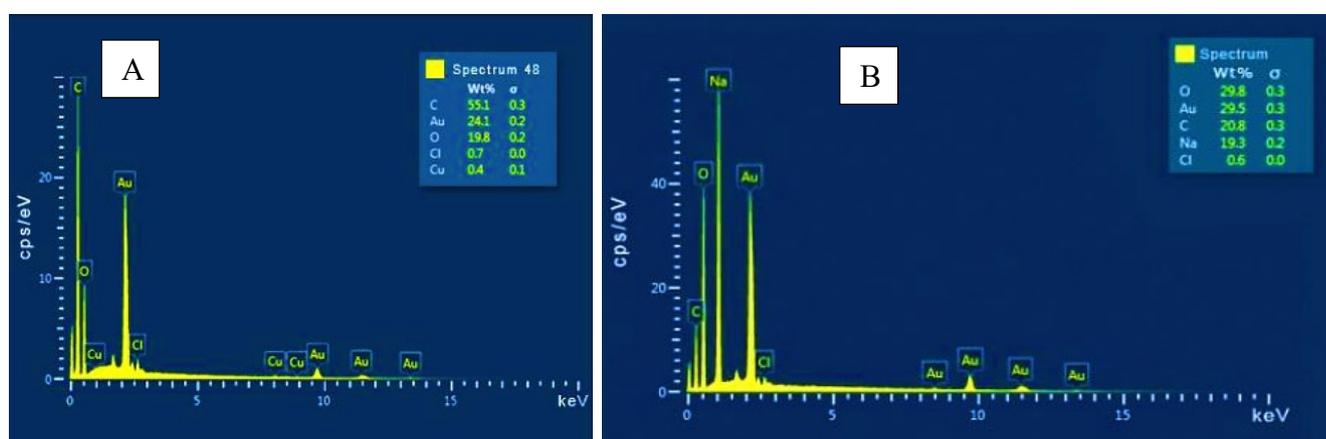
As imagens capturadas por MET revelam que as nanopartículas de ouro produzidas usando citrato de sódio apresentavam uma configuração esférica, distribuição homogênea, ausência de aglomeração e uma discreta flutuação de dimensões. Elas exibiam uma dimensão média de 17 nm, variando entre 12 e 22 nm, com a maioria situando-se na faixa de 16 a 18 nm.

Akintelu e colaboradores, (2021) sintetizaram nanopartículas de ouro usando *Garcinia kola*. Os resultados mostraram que a MET proporcionou uma caracterização detalhada das nanopartículas, com tamanho médio de 28 nm. Além disso, a análise por MET permitiu identificar a presença de compostos orgânicos adsorvidos na superfície das nanopartículas, o que pode ter influência nas suas propriedades. Outro estudo conduzido por Gao e colaboradores (2022), que utilizou extrato de *Citrus sinensis* para sintetizar nanopartículas de ouro. A MET foi empregada para avaliar a estrutura cristalina das nanopartículas, revelando a formação de cristais de ouro com orientação preferencial. Além disso, a análise por MET evidenciou a presença de compostos fenólicos adsorvidos na superfície das nanopartículas, o que pode ter impacto nas suas propriedades antimicrobianas. Um terceiro estudo interessante é o de Ahmeda, Zangeneh e Zangeneh (2020), que investigou a síntese de nanopartículas de ouro utilizando extrato de *Camellia sinensis*. A MET foi utilizada para caracterizar as nanopartículas, revelando sua morfologia esférica e tamanho variando de 20 – 30 nm.

5.4 Espectroscopia de energia dispersiva de raios X (EDS)

As imagens do EDS mostram picos referentes ao Au, além de outros, com menor intensidade. Na Figura 21 também foram observados picos característicos dos elementos carbono, oxigênio, cobre, e cloro, assim como o observado na Figura 21 onde foram observados os elementos carbono, oxigênio, sódio e cloro. Em ambas as AuNPs (extrato e citrato) foram observadas picos por volta de 2,2 keV e outros de menor intensidade do elemento Au.

Figura – 21: [A]: EDS AuNP com extrato de *A. occidentale*. [B]: EDS AuNP com citrato de sódio.



Fonte: autor (2023).

A espectroscopia de energia dispersiva de raios X (EDS) é uma técnica analítica amplamente utilizada na caracterização de materiais, incluindo a análise de nanopartículas de ouro. Diversos estudos científicos têm explorado a síntese de nanopartículas de ouro utilizando extratos vegetais como agentes redutores e estabilizadores, e a EDS tem sido empregada para investigar as características e composição dessas nanopartículas. Um exemplo de estudo que utilizou a EDS na análise de nanopartículas de ouro sintetizadas com extratos vegetais é o trabalho de Kumar, *et al.* (2018). Os pesquisadores sintetizaram nanopartículas de ouro utilizando o extrato de folhas de *Moringa oleifera* como agente redutor. A análise por EDS permitiu a confirmação da presença de ouro nas nanopartículas e contribuiu para a determinação da pureza e composição delas. Outro estudo relevante na área foi conduzido por Iravani, *et al.* (2019). Nesse trabalho, extratos vegetais de várias espécies foram utilizados para sintetizar nanopartículas de ouro e a análise por EDS foi empregada para avaliar a composição química dessas partículas. Os resultados obtidos por EDS revelaram a presença de ouro nas nanopartículas e a presença de outros elementos provenientes dos extratos vegetais, como carbono, oxigênio e nitrogênio. Além disso, o estudo de Ashtari e colaboradores (2023)

investigou a síntese de nanopartículas de ouro utilizando o extrato de folhas de *Suaeda maritima*. A análise por EDS foi realizada para determinar a composição química das nanopartículas e confirmar a presença de ouro. Os resultados indicaram que as nanopartículas eram compostas principalmente por ouro, mas também apresentavam a presença de carbono e oxigênio provenientes do extrato vegetal.

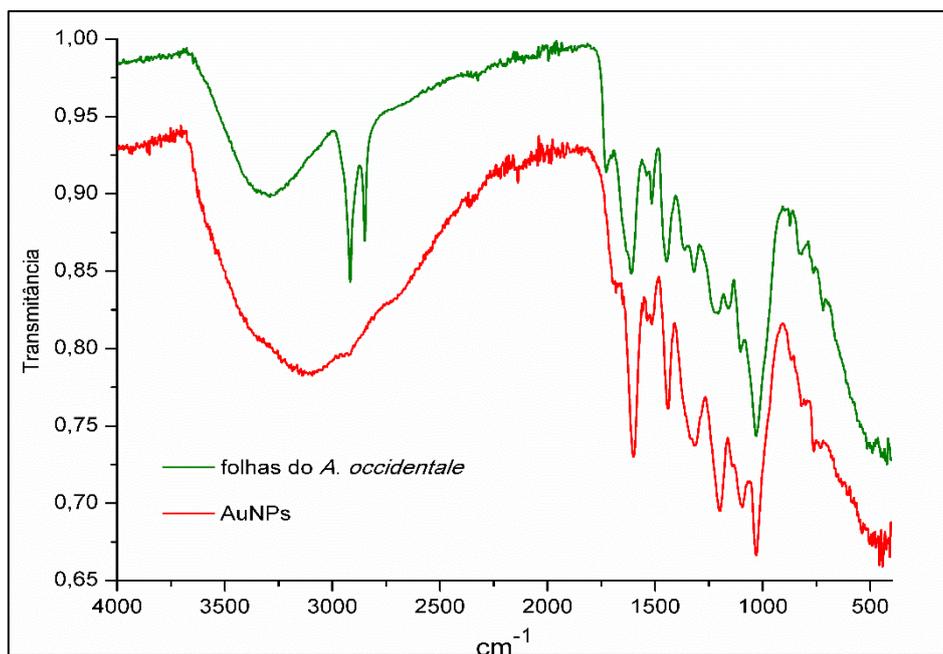
Esses estudos destacam a importância da técnica de EDS na caracterização de nanopartículas de ouro sintetizadas com extratos vegetais. A EDS fornece informações valiosas sobre a composição química das partículas, permitindo uma melhor compreensão de suas propriedades e aplicações potenciais.

5.5 Espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier (FTIR)

Para investigar possíveis interações entre as AuNPs e o extrato vegetal das folhas do cajueiro, foram realizadas análises de espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier (FTIR). O Gráfico 3 apresenta os espectros de FTIR com sobreposição das duas amostras, uma do liofilizado do extrato das folhas de *A. occidentale* e outra das nanopartículas produzidas com o material vegetal. As amostras 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. Uma análise comparativa entre os espectros na região do infravermelho indica a presença das principais bandas, com algumas pequenas distinções oriundas do processo de coordenação.

Nota-se que a banda larga a $3600 - 3750 \text{ cm}^{-1}$ 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 $103-1029 \text{ cm}^{-1}$. Os dois espectros são muito parecidos entre si, especialmente na região correspondente a assinatura molecular. Dessa forma, a região dos espectros de $1820 - 890 \text{ cm}^{-1}$ foi destacada (Gráfico 4). Uma banda foi observada exatamente no mesmo comprimento de onda nos dois espectros das amostras a 1515 cm^{-1} .

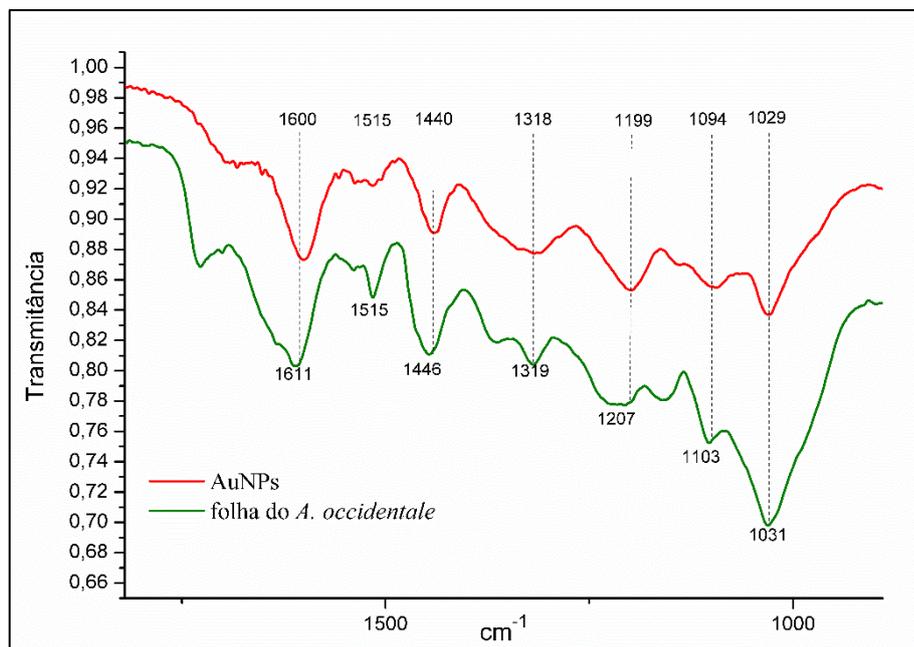
Gráfico – 03: Espectro de Infravermelho do extrato das folhas do *A. occidentale* e das nanopartículas de ouro funcionalizadas com o extrato.



Fonte: autor (2023).

O pico mais intenso ocorreu em 1031 cm^{-1} (amida primária). A banda a 1611 cm^{-1} devido à banda amida primária mostrou uma mudança para 1600 cm^{-1} no espectro IR de AuNPs sugerindo proteínas como molécula de ligação (Droepenu *et al.*, 2021). Vibração de alongamento antissimétrico em cadeias de hidrocarbonetos C–H a 2916 cm^{-1} e simétrico das mesmas cadeias a 2849 cm^{-1} . Uma variedade de metabólitos secundários, como taninos, terpenoides, alcaloides, flavonóis, fenóis, glicosídeos, estão presentes na folha de caju (Taiwo *et al.* 2020). 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 (Sousa, 2022). As bandas de 1726 cm^{-1} (estiramento C=O de ácido carboxílico), 1611 cm^{-1} (amida primária) e 1515 cm^{-1} (amida secundária), tornaram-se, comparativamente, mais fracas no espectro das AuNPs, sugerindo proteínas como agentes redutores de ouro.

Gráfico – 04: Região do espectro FTIR correspondente a assinatura molecular, das bandas correspondentes.



Fonte: autor (2023).

O espectro de FTIR de AuNPs mostra bandas devido às vibrações de C–O–C e C–OH a 1029 cm^{-1} , vibrações C–OH de dobramento a 1440 cm^{-1} , deformação antissimétrica de amida primária de proteínas a 1600 cm^{-1} . Adicionalmente, picos foram observados a 1515 cm^{-1} devido a vibrações de estiramento de –C–C– em anéis aromáticos e 3100 cm^{-1} devido às vibrações de alongamento –OH (Chikezie *et al.*, 2019). Estes dados sugerem a presença de proteínas, amins aromáticas e polifenóis, juntamente com os AuNPs (Sheny *et al.*, 2012). A banda 1031 cm^{-1} no espectro da folha, devido à vibração de estiramento C–N de amins alifáticas foi deslocada para 1029 cm^{-1} e a banda a 1319 cm^{-1} devido a vibrações de estiramento C–N de amins aromáticas deslocadas para 1318 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 cm^{-1} .

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 carbóxilo durante a redução.

5.6 Espectrômetro de Massa com Plasma Indutivamente Acoplado (ICP-MS)

Nas nanopartículas de ouro produzidas com extrato aquoso das folhas do cajueiro, foi observado que conforme o aumento a concentração do agente redutor a concentração de ouro metálico foi aumentada (Tabela 5). A maior concentração de AuNPs (62,2 mg/L) foi obtido na síntese com amostra E3 do extrato liofilizado de *A. occidentale*, seguido de 57,4 mg/L (E2) e 52,2 mg/L (E1). Quando comparado a síntese verde com a redução pelo citrato de sódio, percebe-se uma maior concentração (mg/L) de nanopartículas quando se utiliza o material vegetal. A síntese com citrato de sódio levou a formação de 32,4 mg/L de ouro metálico, cerca de metade da concentração obtida com a síntese verde.

Tabela 4. Concentração de AuNPs (mg/L) por ICP-MS

<i>Amostra</i>	<i>Concentração mg/L</i>
<i>AuNP com E3</i>	62,2
<i>AuNP com E2</i>	57,4
<i>AuNP com E1</i>	52,2
<i>AuNP com citrato</i>	32,4

Fonte: autor (2023).

5.7 Atividade Antibacteriana

5.7.1 Esterilidade das AuNPs

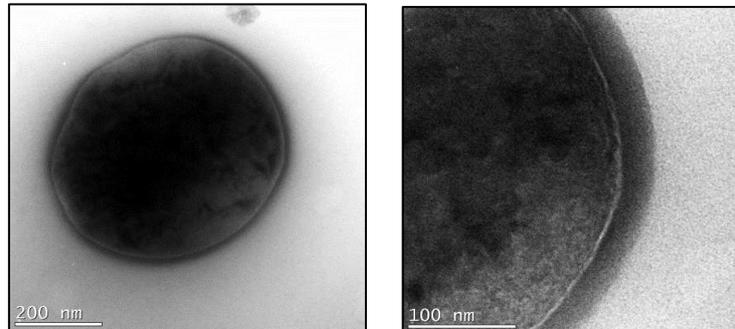
Como esperado, nenhuma amostra de AuNPs e de agente redutor estava contaminada.

5.7.2 Interação Rápida

A observação indica que existe uma boa interação entre as bactérias e as nanopartículas. Em pouco tempo foi observado que as AuNPs tendem a se aproximarem da membrana dos microrganismos. A Figura 22 é referente ao controle da bactéria Gram positiva. Nota-se o formato esférico característico, a organização em cachos, e a sua integridade. O controle da

bactéria Gram negativa está ilustrado adiante na Figura 24, onde percebe-se o formato de bastonete, tamanho médio de 1,5 a 2 μm , e que se encontravam de forma isolada.

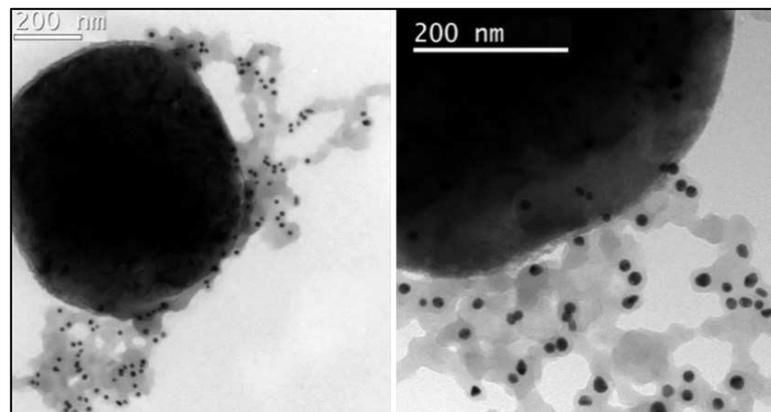
Figura - 22: Controle: imagem de MET de *Staphylococcus aureus* sem processamento



Fonte: autor (2023)

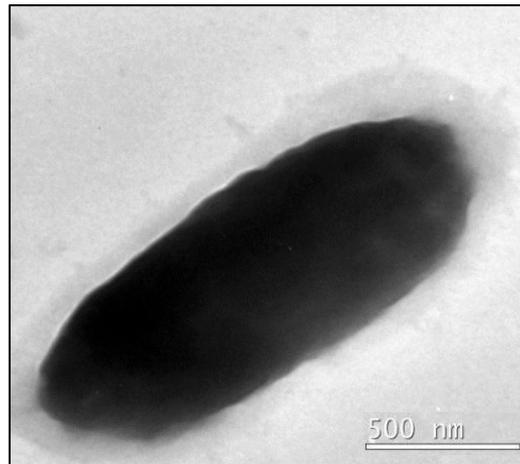
A Figura 23 mostra a interação rápida (10 min, 500rpm) entre AuNPs e *Staphylococcus aureus*. Nota-se uma tendência de aproximação entre a bactéria e as nanopartículas, que permanecem aderidas ou bem próximas. Um comportamento semelhante foi observado frente à bactéria Gram negativa (Figura 25). Em relação à AuNP obtida com citrato, um comportamento semelhante foi observado frente à *S. aureus* e *E. coli*. Já frente a bactéria Gram negativa, as bactérias se apresentaram próximas ao microrganismo, apesar de a interação com a membrana ser aparentemente menor (Figura 25).

Figura – 23: Imagem de MET em diferentes aumentos, para interação entre *S. aureus* e AuNPs.



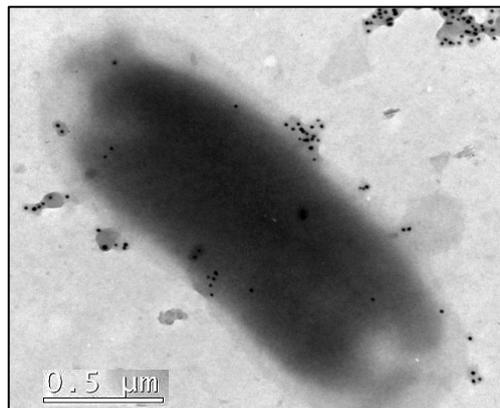
Fonte: autor (2023).

Figura – 24: Controle: imagem de MET de *E. coli*.



Fonte: autor (2023).

Figura – 25: Imagem de MET em diferentes aumentos, para interação entre *E. coli* e AuNPs.



Fonte: autor (2023).

Nanopartículas metálicas, como prata e ouro (López-Lorente; Cárdenas; González-Sánchez, 2019), demonstraram ter uma boa eficiência antifúngica contra a cepa de *C. albicans* e propriedades antibacterianas, especialmente aquelas produzidas por meio de uma química verde. No entanto, o efeito antibacteriano depende do processo de síntese, forma, tamanho e intensidade das AuNPs preparadas usando abordagem verde (Moustafa; Alomari, 2019). Elas podem eliminar uma variedade de patógenos bacterianos interagindo proativamente com eles por meio de dois mecanismos principais: (1) efeito antibacteriano pelo contato direto, que ocorre quando as nanopartículas aderem à superfície da célula e a penetram, e (2) morte mediada por íons (Jalilian *et al.*, 2020).

Prema *et al.* (2022) revelaram que nanopartículas de ouro fabricadas a partir de chá verde como única fonte reduziram significativamente a propagação celular (PC-3) a 10 µg/ml

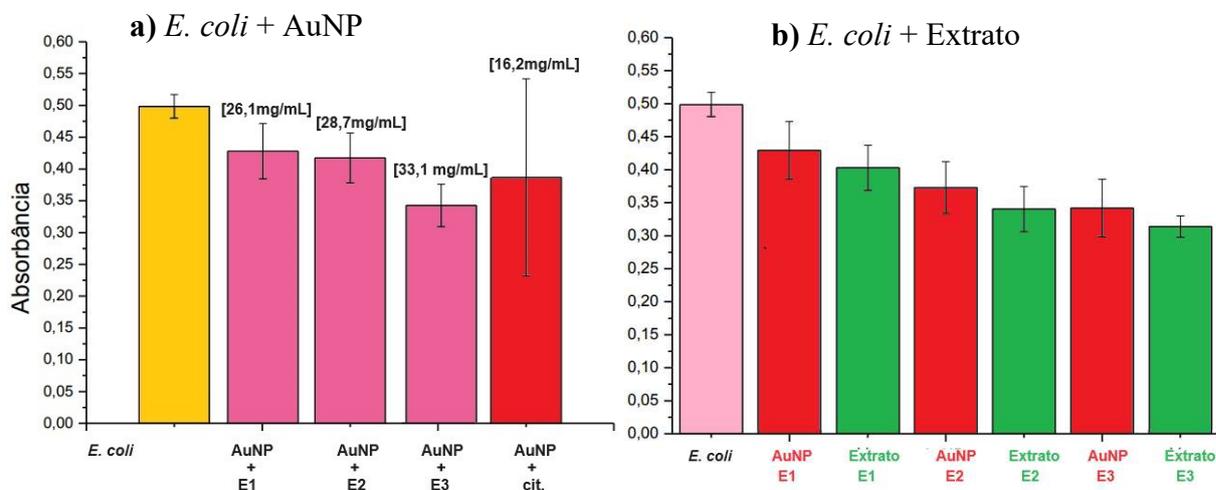
de forma dependente da dosagem ($p < 0,001$) em comparação com as células cancerígenas. Um relatório anterior (Prema *et al.*, 2022) indicou que a morfologia das células cancerígenas foi drasticamente afetada de maneira dependente da dose, e a morte celular foi observada em doses mais elevadas, conforme observado pela falta de reatividade externa, contração celular e deformação. Os resultados dos testes de interação rápida indicaram que as nanopartículas observadas têm uma propensão para se aproximarem da membrana das bactérias. Embora todas tenham demonstrado esse comportamento, os resultados do ensaio bacteriano foram diferentes. As nanopartículas de ouro produzidas com citrato de sódio não conseguiram inibir o crescimento das bactérias *S. aureus* e *E. coli*. Por outro lado, as nanopartículas de ouro sintetizadas utilizando extrato das folhas do cajueiro como agente redutor mostraram uma atividade bacteriana significativa contra as cepas de *S. aureus*, que são microrganismos Gram positivos, e praticamente nenhuma atividade contra *E. coli*, como já foi comprovado em estudos anteriores. Jaloot e colaboradores (2020) investiram a atividade antibacteriana de nanopartículas de ouro sintetizadas com extrato aquoso de *Inonotus obliquus*, e observou maior atividade antibacteriana contra *S. aureus*. Princy e colegas (2023), utilizando *Hibiscus cannabinus*, sintetizou nanopartículas de ouro com grande potencial antimicrobiano frente a *S. aureus*.

As diferentes respostas das AuNPs frente às bactérias Gram positivas e Gram negativas possivelmente se dá devido a sua estrutura celular, fisiologia, metabolismo e a sua interação com as AuNPs carregadas (Yu; Xianyu, 2021).

5.7.3 Concentração Inibitória Mínima

O Gráfico 5a mostra o crescimento de *E. coli* frente as nanopartículas testadas. Nenhuma nanopartícula foi capaz de inibir o crescimento do microrganismo. Com base nos dados obtidos e plotados na Gráfico 5b, observamos que nem mesmo o extrato sozinho foi capaz de reduzir ou inibir o crescimento da bactéria. Assim como constatado no estudo de Sánchez-López *et al.* (2020) e Capeletti *et al.* (2019), esse resultado pode ser indicativo de que as cepas Gram-negativas apresentam uma maior resistência/tolerância contra nanomateriais.

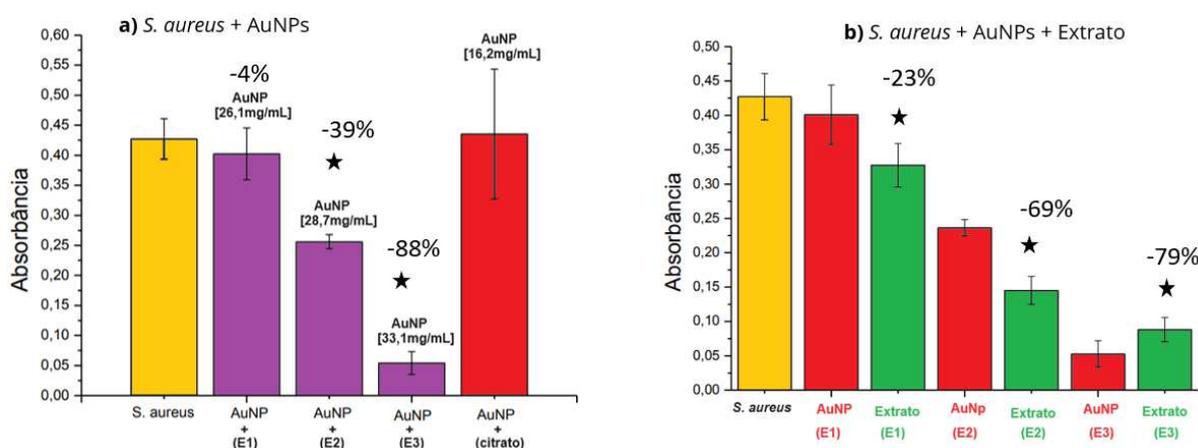
Gráfico – 05: Absorbância referente a taxa de crescimento de *E. coli*. **[a]:** Crescimento de *E. coli* frente a nanopartículas de ouro sintetizadas com extrato em concentrações diferentes. **[b]:** Crescimento de *E. coli* com o extrato.



Fonte: autor (2023).

As nanopartículas apresentaram atividade antibacteriana apenas para *S. aureus*. O Gráfico 6 mostra os valores de absorbância obtidos em vários tratamentos em comparação ao controle positivo (crescimento máximo, 100% de *S. aureus*). As nanopartículas sintetizadas com citrato de sódio não inibiram o crescimento de nenhuma das cepas testadas. Dentre as nanopartículas obtidas pela síntese verde, observou-se que com o aumento na concentração de extrato utilizado, maior foi a inibição do crescimento de *S. aureus*, de modo que quando se utilizou apenas amostra E1 da solução de agente redutor não foi observado inibição considerável (4,05%). Com a amostra E2, a inibição foi de cerca de 39,29%. Já com AuNPs sintetizadas com E3 de extrato, a inibição foi de 88,27% do crescimento da *S. aureus* (Tabela 6). O Gráfico 6b compara a inibição da nanopartícula com a do material vegetal puro, na mesma concentração da utilizada para a síntese das AuNPs. Observa-se que ambas inibem com similaridade de intensidade o crescimento da bactéria, com exceção da condição utilizando a amostra E1 do extrato, onde foi observado que o extrato sozinho, nessa concentração, inibe cerca de 23,78% do crescimento, enquanto a nanopartícula apenas 4,05%.

Gráfico – 06: Absorbância referente a taxa de crescimento de *S. aureus*. [a]: Crescimento de *S. aureus* frente a nanopartículas de ouro sintetizadas com extrato em concentrações diferentes. [b]: Crescimento de *S. aureus* com o extrato. (★ - diferença significativa detectada pelo teste ANOVA ($p < 0,05$)).



Fonte: autor (2023).

Conforme houve aumento na concentração do extrato aumentou a atividade antimicrobiana. No entanto, se observarmos os valores do potencial Zeta, quanto menor o valor, ou seja, menos negativo era a partícula, maior foi a atividade antibacteriana. Como os valores foram negativos, e *S. aureus* possui carga negativa, devido a composição de sua parede, rica em ácidos teicóicos, um menor valor favorece a interação entre as nanopartículas e o microrganismo (Suriyakala *et al.*, 2022). Sathiyaraj e colaboradores (2021) observou que a atividade bacteriana das AuNPs sintetizadas por uma rota verde, aumentou consideravelmente com o aumento da concentração das AuNPs, o que não corroborou presente estudo. O fato de a síntese com amostra E1 de extrato não ter inibido o crescimento de *S. aureus* como as demais pode ter ocorrido ou pela menor concentração do agente redutor, que foi consumido durante a redução do ouro ou devido ao valor mais alto de potencial Zeta, negativo, que pode ter impedido que as partículas tenham se aproximado da bactéria, que também é negativa (Awad *et al.*, 2019).

A Gráfico 6 compara a atividade antibacteriana das nanopartículas com a do agente redutor, na mesma concentração, e mostra que a atividade antibacteriana é a mesma, ou seja, mesmo após reduzir o ouro, o extrato das folhas do *A. occidentale* funcionalizou de modo efetivo a partícula, que continua com alto poder antibacteriano. Uma vez que a atividade bactericida foi diretamente proporcional à concentração do agente redutor, está pode ser atribuída ao material vegetal. Uma vantagem no uso das nanopartículas é que podem penetrar as membranas celulares, aumentando o efeito bactericida e o direcionamento da droga, aumentando assim sua atividade biológica e química (Fuster *et al.*, 2020). Um possível

mecanismo está relacionado a capacidade de as AuNPs gerarem furos nas paredes das células bacterianas (Kamala Nalini; Vijayaraghavan, 2020). AuNPs menores são capazes de penetrar no interior das bactérias com maior facilidade (Shah *et al.*, 2022). Fato este observado nas imagens de Microscopia Eletrônica de Transmissão, onde é evidente que AuNPs causaram danos nas células por distorcer a parede celular bacteriana dando origem a furos e a deformações da membrana celular, perturbando assim as funções bacterianas como a respiração, e permeabilidade, fato este já observado em outros estudos com AuNPs (Nisar *et al.*, 2019; Mandhata; Sahoo; Padhy, 2022; Wahab *et al.*, 2023). Mutakin e colaboradores (2022) demonstrou atividade antibacteriana do extrato de folhas de *Annona muricata* preparado com etanol e metanol contra *S. aureus*, já o extrato aquoso não apresentou atividade. O mesmo estudo apresentou potenciação da estreptomicina mais o extrato etanólico de *A. muricata* contra cepas multirresistentes de *Escherichia coli* e *S. aureus*. O estudo de Rao; Inwati e Singh (2017), demonstrou potencial atividade antimicrobiana de AuNPs obtidas pelo método de síntese verde contra as cepas de *S. aureus*. Prado e colaboradores (2022), usando a técnica da microdiluição contra cepas multirresistentes das *S. aureus*, o autor observou que o capim-cidreira possui atividade antimicrobiana contra bactérias Gram positivas

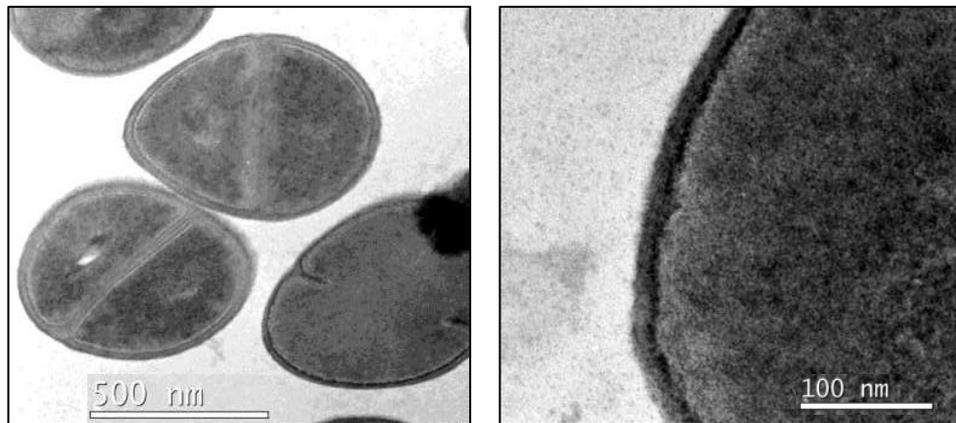
Embora, com malha grossa como peptidoglicano da parede celular nas bactérias Gram-positivas, as imagens do MET mostram uma acentuada destruição da membrana celular bacteriana, quando tratados com AuNPs, fato este já observado em outros estudos (Ghassemi *et al.*, 2021). As AuNPs podem inicialmente ficar ancorada na parede celular bacteriana, interagindo assim com a camada de peptidoglicano causando a quebra de ligações e entrando no interior da célula fazendo perfurações no exterior (Sarker *et al.*, 2022; Khan *et al.*, 2019). Pode também ser possível que as nanopartículas de ouro se ligar ao DNA de bactérias e inibem o desenrolamento e transcrição de DNA, portanto, promover a morte das bactérias (Arafa; El-Kased; Elmazar, 2018).

Devido ao seu tamanho e grande área de superfície, as AuNPs de produzir efeitos eletrônicos e estes efeitos podem aumentar a força de ligação das nanopartículas com as bactérias. Assim, as nanopartículas de ouro se ligam facilmente à membrana da célula e têm a capacidade de penetrar no interior das bactérias, facilitando assim o contato com extrato vegetal (Mikhailova, 2021). Especulamos que os seguintes mecanismos podem ser responsáveis pela atividade antibacteriana das AuNPs. Sua ação está relacionada à concentração de extrato utilizado, pois a ação inibitória não depende só do tamanho e da área de superfície, mas também do agente de proteção que estabiliza e funcionaliza a AuNPs, como já observado por Acay (2021).

5.7.4 Análise da Interação entre AuNPs e as Bactérias

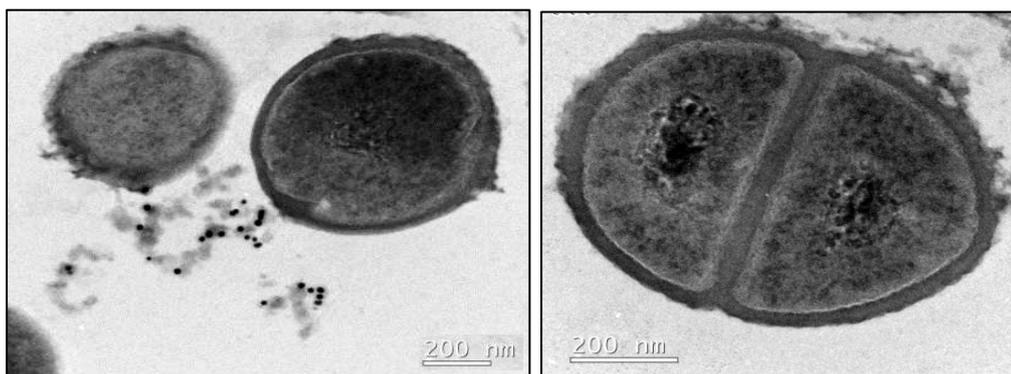
Com o objetivo de avaliar possíveis danos na estrutura bacteriana, foram feitas imagens de MET em *S. aureus*, após tratamento com AuNPs por 24 horas. Para fins comparativos, uma amostra contendo apenas *S. aureus* foi obtido ilustrada na Figura 26. Observa-se a membrana intacta, sem qualquer tipo de alteração. Após a incubação com AuNPs nota-se algumas alterações estruturais. A Figura 27 mostra que as AuNPs foram capazes de gerar danos na membrana da célula, e em alguns casos houve perda de conteúdo citoplasmático.

Figura – 26: Imagem de MET de *S. aureus* após processamento.



Fonte: autor (2023).

Figura – 27: Imagem de MET de AuNP com *S. aureus*.



Fonte: autor (2023).

Os mecanismos de ação das nanopartículas de ouro sobre células bacterianas devem-se ao seu tamanho em nanoescala, podendo penetrar nas membranas celulares bacterianas, potencialmente desestabilizando-as e causando o vazamento de componentes celulares. Quando

expostas à luz ou a outros estímulos, essas nanopartículas podem gerar espécies reativas de oxigênio (EROs), danificando proteínas, lipídios e ácidos nucleicos no interior das células bacterianas (Oliveira *et al.*, 2023). Em particular, as nanopartículas de ouro danificam proteínas interferindo com pontes dissulfeto existentes ou grupos tióis nos vários sistemas biomoleculares dentro das células (Gupta *et al.* 2019). Algumas nanopartículas de ouro inibem o crescimento bacteriano, interferindo com a replicação do DNA ou processos metabólicos, enquanto outras interrompem a respiração celular, reduzindo a produção de ATP (Godoy-Gallardo *et al.*, 2021). Eles podem induzir danos ao DNA, mutações genéticas e desregular a expressão gênica. Dependendo de seu revestimento, nanopartículas de ouro podem se acumular em componentes celulares específicos, causando danos localizados e induzindo estresse oxidativo. Além disso, podem interagir com proteínas bacterianas, alterando sua estrutura e função (Hernández-Díaz *et al.*, 2021).

6 CONCLUSÕES

No presente trabalho, AuNPs foram sintetizadas a partir de HAuCl_4 utilizando o extrato aquoso das folhas do *Anacardium occidentale*. As nanopartículas sintetizadas com E1 mostraram um diâmetro médio de 14 - 24 nm, com amostra E2 de extrato, o tamanho médio foi de 14 - 20 nm e com E3 de 12 - 26nm., medido por MET, com pico de absorção de 529 nm no UV-Vis. O potencial Zeta foi de aproximadamente -30 mV indicando boa estabilidade coloidal. As biomoléculas presentes no extrato de *A. occidentale* foram responsáveis pela biorredução e possivelmente pelo recobrimento e estabilização das AuNPs evidenciado pelo FTIR. O processo de síntese apresentou uma alta reprodutibilidade e está de acordo com os princípios da química verde, apresentando-se como uma alternativa sustentável, ecologicamente aceita e de custo baixo. A formação das nanopartículas foi dependente de parâmetros do processo, como concentração do extrato. Entre as concentrações do extrato de 10 mg/mL, observou-se pelas máximas de absorbância, que a formação de AuNPs foi mais eficiente. A atividade antimicrobiana das AuNPs foi considerável contra *S. aureus*, diminuindo sua viabilidade celular, enquanto as AuNPs na concentração testada praticamente não apresentaram atividade antimicrobiana contra *E. coli*.

REFERÊNCIAS

- ABADEER, N. S., & MURPHY, C. J. Recent progress in cancer thermal therapy using gold nanoparticles. **The Journal of Physical Chemistry C**, 120(9), 4691-4716, 2016.
- ABDALLA, Sundos SI *et al.* Antibacterial and anti-biofilm biosynthesised silver and gold nanoparticles for medical applications: Mechanism of action, toxicity and current status. **Current drug delivery**, v. 17, n. 2, p. 88-100, 2020.
- ABID, Namra *et al.* Synthesis of nanomaterials using various top-down and bottom-up approaches, influencing factors, advantages, and disadvantages: A review. **Advances in Colloid and Interface Science**, v. 300, p. 102597, 2022.
- ABOYEWA, Jumoke A. *et al.* Green synthesis of metallic nanoparticles using some selected medicinal plants from southern africa and their biological applications. **Plants**, v. 10, n. 9, p. 1929, 2021 a.
- ABOYEWA, Jumoke A. *et al.* Gold nanoparticles synthesized using extracts of cyclopia intermedia, commonly known as honeybush, amplify the cytotoxic effects of doxorubicin. **Nanomaterials**, v. 11, n. 1, p. 132, 2021 b.
- ALI, Shujat *et al.* The avenue of fruit wastes to worth for synthesis of silver and gold nanoparticles and their antimicrobial application against foodborne pathogens: A review. **Food Chemistry**, v. 359, p. 129912, 2021.
- ALJARBA, Nada H. *et al.* Anticancer and microbial activities of gold nanoparticles: A mechanistic review. **Journal of King Saud University-Science**, v. 34, n. 4, p. 101907, 2022.
- ALSHAMERI, Ansam Wadia; OWAIS, Mohammad. Antibacterial and cytotoxic potency of the plant-mediated synthesis of metallic nanoparticles Ag NPs and ZnO NPs: A Review. **OpenNano**, p. 100077, 2022.
- ACAY, Hilal. Utilization of Morchella esculenta-mediated green synthesis golden nanoparticles in biomedicine applications. **Preparative Biochemistry & Biotechnology**, v. 51, n. 2, p. 127-136, 2021.
- ADHIKARI, Sangeeta; SARKAR, Debasish. Structural and Functional Prototypes. In: **Ceramic Processing: Industrial Practices**. CRC Press New York, p. 321-332, 2019.
- ADIGA, D. J. *et al.* An overview of canopy management in cashew (*Anacardium occidentale* L.). **Journal of horticultural sciences**, v. 15, n. 2, p. 127-135, 2020.
- 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.
- AHMAD, Tausif *et al.* Effect of reaction time on green synthesis of gold nanoparticles by using aqueous extract of *Elaise guineensis* (oil palm leaves). **Procedia engineering**, v. 148, p. 467-472, 2016.
- AHMAD, Tausif *et al.* A critical review on phytosynthesis of gold nanoparticles: Issues, challenges and future perspectives. **Journal of Cleaner Production**, v. 309, p. 127460, 2021.

AHMED, Hiwa M. *et al.* Applications of nanomaterials in agrifood and pharmaceutical industry. **Journal of Nanomaterials**, v. 2021, p. 1-10, 2021.

AKINTELU, Sunday Adewale; YAO, Bo; FOLORUNSO, Aderonke Similoluwa. Bioremediation and pharmacological applications of gold nanoparticles synthesized from plant materials. **Heliyon**, v. 7, n. 3, 2021.

ALDABIËB, Jamal; EDBEËB, Mohamed. The effects of concentration based on the absorbance form the ultraviolet–visible (UV-VIS) spectroscopy analysis. **International Journal of Science Letters**, v. 2, n. 1, p. 1-11, 2020.

ALEKSANDROWICZ, Adrianna *et al.* Whatever makes them stick–Adhesins of avian pathogenic Escherichia coli. **Veterinary microbiology**, v. 257, p. 109095, 2021.

AL-KHATTAF, Fatimah S. Gold and silver nanoparticles: Green synthesis, microbes, mechanism, factors, plant disease management and environmental risks. **Saudi Journal of Biological Sciences**, v. 28, n. 6, p. 3624-3631, 2021.

ALIZADEH, Sakineh; NAZARI, Zahra. A review on gold nanoparticles aggregation and its applications. **J. Chem. Rev.**, v. 2, n. 4, p. 228-242, 2020.

ALMANGHADIM, Hossein Ghahramani *et al.* Application of nanoparticles in cancer therapy with an emphasis on cell cycle. **Cell Biology International**, v. 45, n. 10, p. 1989-1998, 2021.

AMEEN, Fuad *et al.* Phytosynthesis of silver nanoparticles using *Mangifera indica* flower extract as bioreductant and their broad-spectrum antibacterial activity. **Bioorganic Chemistry**, v. 88, p. 102970, 2019.

AMINU, Habibu *et al.* A review of research in soil fertility management and plant nutrition of cashew (*Anacardium occidentale* L.) in Nigeria. **World J. Adv. Res. Rev.**, v. 11, n. 03, p. 160-167, 2021.

AMINI, Seyed Mohammad. Preparation of antimicrobial metallic nanoparticles with bioactive compounds. **Materials Science and Engineering: C**, v. 103, p. 109809, 2019.

ANVISA. AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. **Farmacopeia Brasileira**, volume 1. 5^a Ed. Brasília, 2010.

ANSELMO, Aaron C.; MITRAGOTRI, Samir. Nanoparticles in the clinic: An update. **Bioengineering & translational medicine**, v. 4, n. 3, p. e10143, 2019.

ARAFÄ, Mona G.; EL-KASED, Reham F.; ELMAZAR, Mohamed M. Thermoresponsive gels containing gold nanoparticles as smart antibacterial and wound healing agents. **Scientific reports**, v. 8, n. 1, p. 13674, 2018.

ASHTARI, Atefeh *et al.* Gold nanoparticles, silver nanoparticles, and silver-gold nanocomposites using *Suaeda maritima*: phytochemical analyses, biosynthesis, characterization, and biological activity. **Results in Chemistry**, p. 100983, 2023.

AWAD, Manal A. *et al.* Green synthesis of gold nanoparticles: Preparation, characterization, cytotoxicity, and anti-bacterial activities. **Materials Letters**, v. 256, p. 126608, 2019.

BAALOU DJ, Oussama *et al.* Simultaneous removal of antibiotics and inactivation of antibiotic-resistant bacteria by photocatalysis: A review. **Journal of Water Process Engineering**, v. 42, p. 102089, 2021.

BABU, Venkatadri *et al.* Antibacterial, Antioxidant, Larvicidal and Anticancer Activities of Silver Nanoparticles Synthesized Using Extracts from Fruits of Lagerstroemia speciosa and Flowers of Couroupita guianensis. **Molecules**, v. 27, n. 22, p. 7792, 2022.

BAGHERI, Elnaz *et al.* Sensors design based on hybrid gold-silica nanostructures. **Biosensors and Bioelectronics**, v. 153, p. 112054, 2020.

BALFOURIER, Alice *et al.* Gold-based therapy: From past to present. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 117, n. 37, p. 22639-22648, 2020.

BALA, Anu; RANI, Gita. A review on phytosynthesis, affecting factors and characterization techniques of silver nanoparticles designed by green approach. **International Nano Letters**, v. 10, n. 3, p. 159-176, 2020.

BAO, Zeqing; LAN, Christopher Q. Advances in biosynthesis of noble metal nanoparticles mediated by photosynthetic organisms—A review. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 184, p. 110519, 2019.

BARATHIKANNAN, Kaliyan *et al.* Plant-based metabolites and their uses in nanomaterials synthesis: an overview. **Secondary Metabolites Based Green Synthesis of Nanomaterials and Their Applications**, p. 1-22, 2023.

BAWAZEER, Saud *et al.* Green synthesis of silver nanoparticles using Tropaeolum majus: Phytochemical screening and antibacterial studies. **Green Processing and Synthesis**, v. 10, n. 1, p. 85-94, 2021.

BELARDJA, M. S. *et al.* The influence of the addition of tungsten trioxide nanoparticle size on structure, thermal, and electroactivity properties of hybrid material-reinforced PANI. **Colloid and Polymer Science**, v. 298, n. 11, p. 1455-1463, 2020.

BERINI, Francesca *et al.* Nanoantibiotics to fight multidrug resistant infections by Gram-positive bacteria: hope or reality?. **Biotechnology Advances**, v. 57, p. 107948, 2022.

BENCARDINO, Daniela; AMAGLIANI, Giulia; BRANDI, Giorgio. Carriage of Staphylococcus aureus among food handlers: An ongoing challenge in public health. **Food control**, v. 130, p. 108362, 2021.

BANU, Ruqya *et al.* Biogenic Synthesis of Carboxymethyl Cashew Gum Modified Gold Nanoparticles and its Sensitive and Selective Colorimetric Detection of Hg²⁺ Ions and Catalytic Reduction of Methyl Red. **Journal of Fluorescence**, v. 33, n. 1, p. 209-221, 2023.

BEURTON, Jordan *et al.* Design of surface ligands for blood compatible gold nanoparticles: Effect of charge and binding energy. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 580, p. 119244, 2020.

BACHHETI, Rakesh Kumar *et al.* Algae-, fungi-, and yeast-mediated biological synthesis of nanoparticles and their various biomedical applications. In: **Handbook of greener synthesis of nanomaterials and compounds**. Elsevier, p. 701-734, 2021.

BERTA, Lavinia *et al.* A review on plant-mediated synthesis of bimetallic nanoparticles, characterisation and their biological applications. **Materials**, v. 14, n. 24, p. 7677, 2021.

BÔTELHO, Evillyn Xavier *et al.* Prevalência e perfil de resistência aos antimicrobianos de *Staphylococcus aureus* em hospitais do Brasil: uma revisão integrativa da literatura. **Research, Society and Development**, v. 11, n. 6, p. e2711628744-e2711628744, 2022.

BOTTEON, C. E. A. *et al.* Biosynthesis and characterization of gold nanoparticles using Brazilian red propolis and evaluation of its antimicrobial and anticancer activities. **Scientific Reports**, v. 11, n. 1, p. 1974, 2021.

BONTEN, Marc *et al.* Epidemiology of *Escherichia coli* bacteremia: a systematic literature review. **Clinical Infectious Diseases**, v. 72, n. 7, p. 1211-1219, 2021.

BORO, Sangita *et al.* Phytochemical Analysis and Identification of Bio-active compounds in Ethanolic leaf extract of *Amaranthus spinosus*. **Research Journal of Pharmacy and Technology**, v. 16, n. 8, p. 3685-3690, 2023.

BLOCH, Khalida *et al.* Natural compounds from *Plumbago zeylanica* as complementary and alternative medicine. In: **Handbook of Oxidative Stress in Cancer: Therapeutic Aspects**. Singapore: Springer Singapore, p. 1-28. 2022.

BRIAUD, Paul; CARROLL, Ronan K. Extracellular vesicle biogenesis and functions in gram-positive bacteria. **Infection and immunity**, v. 88, n. 12, p. 10.1128/iai.00433-20, 2020.

CAMARGOS, Camilla HM; REZENDE, Camila A. Antisolvent versus ultrasonication: Bottom-up and top-down approaches to produce lignin nanoparticles (LNPs) with tailored properties. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 193, p. 647-660, 2021.

CAPELETTI, Larissa Brentano *et al.* Gram-negative bacteria targeting mediated by carbohydrate-carbohydrate interactions induced by surface-modified nanoparticles. **Advanced Functional Materials**, v. 29, n. 48, p. 1904216, 2019.

CARVALHO, Patrícia M. *et al.* Application of light scattering techniques to nanoparticle characterization and development. **Frontiers in chemistry**, v. 6, p. 237, 2018.

CASTILLO-HENRÍQUEZ, Luis *et al.* Green synthesis of gold and silver nanoparticles from plant extracts and their possible applications as antimicrobial agents in the agricultural area. **Nanomaterials**, v. 10, n. 9, p. 1763, 2020.

CHAIKITTISILP, Watcharop; YAMAUCHI, Yusuke; ARIGA, Katsuhiko. Material evolution with nanotechnology, nanoarchitectonics, and materials informatics: what will be the next paradigm shift in nanoporous materials?. **Advanced Materials**, v. 34, n. 7, p. 2107212, 2022.

CHAKRAVARTY, Malobika; VORA, Amisha. Nanotechnology-based antiviral therapeutics. **Drug Delivery and Translational Research**, v. 11, p. 748-787, 2021.

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

CHANDRASEKARAN, Murugesan; KIM, Ki Deok; CHUN, Se Chul. Antibacterial activity of chitosan nanoparticles: A review. **Processes**, v. 8, n. 9, p. 1173, 2020.

CHEN, Ying-Ying *et al.* The nutritional and bio-active constituents, functional activities, and industrial applications of cashew (*Anacardium occidentale*): A review. **Food Frontiers**, 2023.

CHRISTAKI, Eirini; MARCOU, Markella; TOFARIDES, Andreas. Antimicrobial resistance in bacteria: mechanisms, evolution, and persistence. **Journal of molecular evolution**, v. 88, p. 26-40, 2020.

CHIKEZIE, Paul C. *et al.* Comparative FT-IR analysis of chloroform fractions of leaf extracts of *Anacardium occidentale*, *Psidium guajava* and *Terminalia catappa*. **Journal of Basic Pharmacology and Toxicology**, v. 3, n. 1, p. 1-6, 2019.

CHOPRA, Hitesh *et al.* Green metallic nanoparticles: biosynthesis to applications. **Frontiers in Bioengineering and Biotechnology**, v. 10, p. 548, 2022.

CHUTOPRAPAT, Romchat; KOPONGPANICH, Peerawas; CHAN, Lai Wah. A mini-review on solid lipid nanoparticles and nanostructured lipid carriers: topical delivery of phytochemicals for the treatment of acne vulgaris. **Molecules**, v. 27, n. 11, p. 3460, 2022.

CLARANCE, Prince *et al.* Green synthesis and characterization of gold nanoparticles using endophytic fungi *Fusarium solani* and its in-vitro anticancer and biomedical applications. **Saudi Journal of Biological Sciences**, v. 27, n. 2, p. 706-712, 2020.

COOK, Alexander B.; CLEMONS, Tristan D. Bottom-up versus top-down strategies for morphology control in polymer-based biomedical materials. **Advanced NanoBiomed Research**, v. 2, n. 1, p. 2100087, 2022.

COSTA, Emylle Anne *et al.* APLICAÇÃO DE NANOPARTÍCULAS PARA FINS ANTIMICROBIANOS. **Anuário Pesquisa e Extensão Unoesc Xanxerê**, v. 7, p. e30090-e30090, 2022.

COSTA, Adrielle Rodrigues *et al.* Phytochemical profile of *Anacardium occidentale* L.(cashew tree) and the cytotoxic and toxicological evaluation of its bark and leaf extracts. **South African Journal of Botany**, v. 135, p. 355-364, 2020.

CRIST, Rachael M. *et al.* Challenges in the development of nanoparticle-based imaging agents: Characterization and biology. **Wiley Interdisciplinary Reviews: Nanomedicine and Nanobiotechnology**, v. 13, n. 1, p. e1665, 2021.

CURE, Jérémy *et al.* Controlled growth and grafting of high-density Au nanoparticles on zinc oxide thin films by photo-deposition. **Langmuir**, v. 34, n. 5, p. 1932-1940, 2018.

CUSSOLIM, Phylipe Adrian *et al.* Mecanismos de resistência do *Staphylococcus aureus* a antibióticos. **Revista faculdades do saber**, v. 6, n. 12, p. 831-843, 2021.

CUI, Yan *et al.* The molecular mechanism of action of bactericidal gold nanoparticles on *Escherichia coli*. **Biomaterials**, v. 33, n. 7, p. 2327-2333, 2012.

CYLKE, Callaghan; SI, Fangwei; BANERJEE, Shiladitya. Effects of antibiotics on bacterial cell morphology and their physiological origins. **Biochemical Society Transactions**, v. 50, n. 5, p. 1269-1279, 2022.

DA SILVA, Adrielle Antonia *et al.* Infecção por *Staphylococcus Aureus* em pacientes hemodialíticos: uma revisão integrativa. **Revista Saúde e Desenvolvimento**, v. 14, n. 19, 2020.

DAVIES, Thomas E. *et al.* Experimental methods in chemical engineering: Scanning electron microscopy and X-ray ultra-microscopy—SEM and XuM. **The Canadian Journal of Chemical Engineering**, v. 100, n. 11, p. 3145-3159, 2022.

DANG-BAO, Trung; FAVIER, Isabelle; GÓMEZ, Montserrat. Metal nanoparticles in polyols: bottom-up and top-down syntheses and catalytic applications. **Nanoparticles in Catalysis: Advances in Synthesis and Applications**, p. 99-122, 2021.

DASH, Shib Shankar; SEN, Ipsita Kumar; DASH, Sandeep Kumar. A review on the plant extract mediated green syntheses of gold nanoparticles and its anti-microbial, anti-cancer and catalytic applications. **International Nano Letters**, v. 12, n. 1, p. 47-66, 2022.

DAWSON, Kenneth A.; YAN, Yan. Current understanding of biological identity at the nanoscale and future prospects. **Nature nanotechnology**, v. 16, n. 3, p. 229-242, 2021.

DA CUNHA, Higo Primo; BAIENSE, Alex Sandro Rodrigues. USO DE VANCOMICINA NO TRATAMENTO DE INFECÇÕES CAUSADAS POR STAPHYLOCOCCUS AUREUS RESISTENTE À METICILINA (MRSA). **Revista Ibero-Americana de Humanidades, Ciências e Educação**, v. 9, n. 4, p. 9242-9258, 2023.

DE ALMEIDA, Samira Lopes *et al.* Potencial biotecnológico do caju (*Anacardium occidentale* L.) na produção de prebióticos e probióticos: uma revisão. **Revista Perspectiva**, v. 46, n. 6, p. 61-68, 2022.

DE ARAÚJO, Januse Míllia Dantas *et al.* Estudo etnofarmacológico de *Anacardium occidentale*: uma breve revisão. **Research, Society and Development**, v. 9, n. 8, p. e487985802-e487985802, 2020.

DE OLIVEIRA, Márcia Farsura *et al.* Revendo o tratamento para pneumonia causada por *Staphylococcus aureus* resistente à meticilina. **Research, Society and Development**, v. 11, n. 1, p. e8411124338-e8411124338, 2022.

DEHGHAN, Hamideh *et al.* Gold Nanoparticles and Wound Healing in Rodents: A Systematic Study. **Current Nanoscience**, v. 19, n. 6, p. 840-849, 2023.

DE JONGE, Niels *et al.* Resolution and aberration correction in liquid cell transmission electron microscopy. **Nature Reviews Materials**, v. 4, n. 1, p. 61-78, 2019.

DENAMUR, Erick *et al.* The population genetics of pathogenic *Escherichia coli*. **Nature Reviews Microbiology**, v. 19, n. 1, p. 37-54, 2021.

DESSALE, Mesfin; MENGISTU, Getachew; MENGIST, Hylemariam Mihiretie. Nanotechnology: a promising approach for cancer diagnosis, therapeutics and theragnosis. **International Journal of Nanomedicine**, p. 3735-3749, 2022.

DHEYAB, Mohammed Ali *et al.* Monodisperse gold nanoparticles: A review on synthesis and their application in modern medicine. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 23, n. 13, p. 7400, 2022.

DOLAI, Jayanta; MANDAL, Kuheli; JANA, Nikhil R. Nanoparticle size effects in biomedical applications. **ACS Applied Nano Materials**, v. 4, n. 7, p. 6471-6496, 2021.

DOMÍNGUEZ, Delfina C.; CHACÓN, Luz María; WALLACE, D.'Janique. Anthropogenic activities and the problem of antibiotic resistance in Latin America: a water issue. **Water**, v. 13, n. 19, p. 2693, 2021.

DOS SANTOS, Gabrielle Fernanda *et al.* *Escherichia coli* O157: H7 strains in bovine carcasses and the impact on the animal production chain. **Brazilian Journal of Microbiology**, p. 1-9, 2023.

DURDAĞI, Sevil Porikli *et al.* Morphological characterization and phase determination of kidney stones using X-Ray diffractometer and scanning electron microscopy. **Chinese Journal of Physics**, v. 83, p. 379-388, 2023.

DREXLER, K. Eric. Molecular engineering: An approach to the development of general capabilities for molecular manipulation. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 78, n. 9, p. 5275-5278, 1981.

DROEPENU, Eric Kwabena *et al.* Biosynthesis, characterization, and antibacterial activity of ZnO nanoaggregates using aqueous extract from *Anacardium occidentale* leaf: comparative study of different precursors. **Beni-Suef University Journal of Basic and Applied Sciences**, v. 10, p. 1-10, 2021.

EDDABRA, Rkia *et al.* Mutations associated with rifampicin resistance in *Mycobacterium tuberculosis* Isolates from Moroccan patients: systematic review. **Interdisciplinary Perspectives on Infectious Diseases**, v. 2020, 2020.

EHRlich, P. Zur **Theorie und Praxis der Histologischen Färbung: Einführung in die Anfärbungsmethoden für die Mikroskopische Technik**. Berlin: August Hirschwald, 1906.

EL-BURM, Arch Hend Mamdouh Saad. **Using Nanotechnology in Construction Materials to Raise Energy Efficiency as an Approach to Sustainability**. 2023. Tese de Doutorado. Department of Architecture, Faculty of Engineering, Alexandria University.

EL-BORADY, Ola M. *et al.* Green synthesis of gold nanoparticles using Parsley leaves extract and their applications as an alternative catalytic, antioxidant, anticancer, and antibacterial agents. **Advanced Powder Technology**, v. 31, n. 10, p. 4390-4400, 2020.

ESCALANTE, Cristian & Sierra, ESCALANTE. **Fundamentals of transmission electron microscopy, the technique with the best resolution in the world**. 2019.

FAHMY, Heba Mohamed *et al.* Coated silver nanoparticles: Synthesis, cytotoxicity, and optical properties. **RSC advances**, v. 9, n. 35, p. 20118-20136, 2019.

FARADAY, Michael. X. The Bakerian Lecture.—Experimental relations of gold (and other metals) to light. **Philosophical transactions of the Royal Society of London**, n. 147, p. 145-181, 1857.

FATIMA, Huma *et al.* Recent strategies for inhibiting multidrug-resistant and β -lactamase producing bacteria: A review. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 205, p. 111901, 2021.

FEYISA, Seifu Gizaw *et al.* Resistance of Mycobacterium tuberculosis strains to Rifampicin: A systematic review and meta-analysis. **Heliyon**, v. 5, n. 1, 2019.

FEYNMAN, Richard P. There's Plenty of Room at the Bottom. **Engineering and Science**, 23 (5). pp. 22-36. ISSN 0013-7812, 1960.

FINDIK, Fehim. Nanomaterials and their applications. **Periodicals of Engineering and Natural Sciences**, v. 9, n. 3, p. 62-75, 2021.

FISHER, Jed F.; MOBASHERY, Shahriar. Constructing and deconstructing the bacterial cell wall. **Protein science**, v. 29, n. 3, p. 629-646, 2020.

FONG, I. W. Antimicrobial Resistance: A Crisis in the Making. **New Antimicrobials: For the Present and the Future**, p. 1-21, 2023.

FONSECA, Fábio Garske da. **Síntese verde, caracterização e atividade catalítica de nanopartículas de ouro produzidas por extrato de semente de Eugenia uniflora L.** .87f.: il. 2022. Dissertação (Mestrado em Ciência e Engenharia de Materiais) – Universidade Federal do Pampa, Campus Bagé, Bagé, 2022.

FOLORUNSO, Aderonke *et al.* Biosynthesis, characterization and antimicrobial activity of gold nanoparticles from leaf extracts of *Annona muricata*. **Journal of Nanostructure in Chemistry**, v. 9, p. 111-117, 2019.

FUENTES-CERVANTES, Ana *et al.* The Potential of ICP-MS as a Complementary Tool in Nanoparticle–Protein Corona Analysis. **Nanomaterials**, v. 13, n. 6, p. 1132, 2023.

FUSTER, M. G. *et al.* Antibacterial effect of chitosan–gold nanoparticles and computational modeling of the interaction between chitosan and a lipid bilayer model. **Nanomaterials**, v. 10, n. 12, p. 2340, 2020.

FLORES, Kenneth *et al.* Environmental applications and recent innovations in single particle inductively coupled plasma mass spectrometry (SP-ICP-MS). **Applied Spectroscopy Reviews**, v. 56, n. 1, p. 1-26, 2021.

FRANKEN, Linda E. *et al.* A technical introduction to transmission electron microscopy for soft-matter: Imaging, possibilities, choices, and technical developments. **Small**, v. 16, n. 14, p. 1906198, 2020.

FREITAS R.F. *et al.* Discovery of novel Trypanosoma cruzi glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase inhibitors, **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v. 17, p. 2476-2482, 2009.

GABANYI, Ilana *et al.* Bacterial sensing via neuronal Nod2 regulates appetite and body temperature. **Science**, v. 376, n. 6590, p. eabj3986, 2022.

GALSTYAN, Vardan *et al.* Metal oxide nanostructures in food applications: Quality control and packaging. **Chemosensors**, v. 6, n. 2, p. 16, 2018.

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.

GAO, Ling *et al.* Ultrasound-assisted green synthesis of gold nanoparticles using citrus peel extract and their enhanced anti-inflammatory activity. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 83, p. 105940, 2022.

GAUTAM, Isha; GRADY, Tony; FERNANDO, Harshica. Degradation of the dye methyl orange using cow and goat milk iron nanoparticles. **Green Chemistry Letters and Reviews**, v. 16, n. 1, p. 2174818, 2023.

GEBRE, Shushay Hagos; SENDEKU, Marshet Getaye. New frontiers in the biosynthesis of metal oxide nanoparticles and their environmental applications: an overview. **SN Applied Sciences**, v. 1, p. 1-28, 2019.

GENTILE, Guendalina *et al.* A brief review of scanning electron microscopy with energy-dispersive X-ray use in forensic medicine. **The American Journal of Forensic Medicine and Pathology**, v. 41, n. 4, p. 280-286, 2020.

GHASSEMI, Nader *et al.* Solid-state NMR investigations of extracellular matrixes and cell walls of algae, bacteria, fungi, and plants. **Chemical reviews**, v. 122, n. 10, p. 10036-10086, 2021.

GODOY-GALLARDO, Maria *et al.* Antibacterial approaches in tissue engineering using metal ions and nanoparticles: From mechanisms to applications. **Bioactive Materials**, v. 6, n. 12, p. 4470-4490, 2021.

GONÇALVES, Ana Paula Alexandre Augusto; PEREIRA, Paloma de Souza; GUERRA, Maria Silvia Bergo. Cymbopogon citratus: potencialização de antibióticos associados ao óleo essencial. **Revista Saúde em Foco**, n. 11, p. 507-515, 2019

GONG, J., Li, W., & Li, R. Infrared spectra of polypropylene nonwoven fabric by FTIR spectroscopy and its relation with filtration efficiency. **Fibers and Polymers**, 21(8), 1753-1761, 2020.

- GOPMANDAL, Partha P.; DUVAL, Jérôme FL. Electrostatics and electrophoresis of engineered nanoparticles and particulate environmental contaminants: beyond zeta potential-based formulation. **Current Opinion in Colloid & Interface Science**, p. 101605, 2022.
- GUPTA, Akash *et al.* Combatting antibiotic-resistant bacteria using nanomaterials. **Chemical Society Reviews**, v. 48, n. 2, p. 415-427, 2019.
- HAMEL, Mouna; ROLAIN, Jean-Marc; BARON, Sophie Alexandra. The history of colistin resistance mechanisms in bacteria: Progress and challenges. **Microorganisms**, v. 9, n. 2, p. 442, 2021.
- HAMEED, Saima *et al.* Shape-dependent significant physical mutilation and antibacterial mechanisms of gold nanoparticles against foodborne bacterial pathogens (*Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* and *Staphylococcus aureus*) at lower concentrations. **Materials Science and Engineering: C**, v. 108, p. 110338, 2020.
- HAMMAMI, Ines *et al.* Gold nanoparticles: Synthesis properties and applications. **Journal of King Saud University-Science**, v. 33, n. 7, p. 101560, 2021.
- HAN, Bolin *et al.* Radix *Pueraria* Flavonoids Assisted Green Synthesis of Reduced Gold Nanoparticles: Application for Electrochemical Nonenzymatic Detection of Cholesterol in Food Samples. **ACS omega**, v. 7, n. 47, p. 43045-43054, 2022.
- HANO, Christophe; ABBASI, Bilal Haider. Plant-based green synthesis of nanoparticles: Production, characterization and applications. **Biomolecules**, v. 12, n. 1, p. 31, 2021.
- HARISH, Vancha *et al.* Nanoparticle and nanostructure synthesis and controlled growth methods. **Nanomaterials**, v. 12, n. 18, p. 3226, 2022.
- HATIPOĞLU, Abdulkерim. Rapid green synthesis of gold nanoparticles: Synthesis, characterization, and antimicrobial activities. **Prog. Nutr**, v. 23, n. 3, p. e2021242, 2021.
- HASSAN, Homa *et al.* Gold nanomaterials—The golden approach from synthesis to applications. **Materials Science for Energy Technologies**, 2022.
- HEMLATA *et al.* Biosynthesis of silver nanoparticles using *Cucumis prophetarum* aqueous leaf extract and their antibacterial and antiproliferative activity against cancer cell lines. **ACS omega**, v. 5, n. 10, p. 5520-5528, 2020.
- HEINEMANN, Mônica G. *et al.* Biogenic synthesis of gold and silver nanoparticles used in environmental applications: A review. **Trends in Environmental Analytical Chemistry**, v. 30, p. e00129, 2021.
- HERNÁNDEZ-DÍAZ, José A. *et al.* Plant-mediated synthesis of nanoparticles and their antimicrobial activity against phytopathogens. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 101, n. 4, p. 1270-1287, 2021.
- 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.

HOSSAIN, Nayem *et al.* Advances and significances of nanoparticles in semiconductor applications—A review. **Results in Engineering**, p. 101347, 2023.

HU, Q., Li, H., & Zhou, H. A facile, green and scale-up preparation of colloidal silver nanoparticles by microwave-assisted method. **Materials Letters**, 209, 45-48, 2017.

HUO, Can *et al.* Eco-friendly approach for biosynthesis of silver nanoparticles using Citrus maxima peel extract and their characterization, catalytic, antioxidant and antimicrobial characteristics. **Materials Research Express**, v. 6, n. 1, p. 015010, 2018.

HUSEN, Azamal *et al.* Plant-mediated fabrication of gold nanoparticles and their applications. **Nanomaterials and plant potential**, p. 71-110, 2019.

HUSSAIN, Shabbir; AMJAD, Muhammad. A review on gold nanoparticles (GNPs) and their advancement in cancer therapy. **International Journal of Nanomaterials, Nanotechnology and Nanomedicine**, v. 7, n. 1, p. 019-025, 2021.

HUANG, K. *et al.* Green synthesis of silver nanoparticles using eucalyptus leaf extract and its antibacterial activity against Staphylococcus aureus. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, v. 31, n. 2, p. 1-9, 2020.

HUANG, X., Neretina, S., & El-Sayed, M. A. Gold nanorods: from synthesis and properties to biological and biomedical applications. **Advanced Materials**, 21(48), 4880-4910, 2009.

HUECKEL, Theodore *et al.* Nanoparticle Brushes: Macromolecular Ligands for Materials Synthesis. **Accounts of Chemical Research**, v. 56, n. 14, p. 1931-1941, 2023.

IKUMAPAYI, O. M. *et al.* Microfabrication and nanotechnology in manufacturing system—An overview. **Materials Today: Proceedings**, v. 44, p. 1154-1162, 2021.

Instituto de Salud del Estado de México. **Zoonosis y vectores**. Available at: <http://salud.edomexico.gob.mx/html/article.php?sid=335>.

IJAZ, Irfan *et al.* Detail review on chemical, physical and green synthesis, classification, characterizations and applications of nanoparticles. **Green Chemistry Letters and Reviews**, v. 13, n. 3, p. 223-245, 2020.

IRAVANI, Siavash; VARMA, Rajender S. Plants and plant-based polymers as scaffolds for tissue engineering. **Green Chemistry**, v. 21, n. 18, p. 4839-4867, 2019.

ISHAK, NAI Md; KAMARUDIN, S. K.; TIMMIATI, S. N. Green synthesis of metal and metal oxide nanoparticles via plant extracts: an overview. **Materials Research Express**, v. 6, n. 11, p. 112004, 2019.

ISHIDA, Tamao *et al.* Importance of size and contact structure of gold nanoparticles for the genesis of unique catalytic processes. **Chemical reviews**, v. 120, n. 2, p. 464-525, 2019.

JALILIAN, Fereshteh *et al.* Green synthesized silver nanoparticle from *Allium ampeloprasum* aqueous extract: Characterization, antioxidant activities, antibacterial and cytotoxicity effects. **Advanced Powder Technology**, v. 31, n. 3, p. 1323-1332, 2020.

JALOOT, Ahmed Saadoon *et al.* Mycosynthesizing and characterizing silver nanoparticles from the mushroom *Inonotus hispidus* (Hymenochaetaceae), and their antibacterial and antifungal activities. **Environmental nanotechnology, monitoring & management**, v. 14, p. 100313, 2020.

JASWAL, Tamanna; GUPTA, Jasmine. A review on the toxicity of silver nanoparticles on human health. **Materials Today: Proceedings**, v. 81, p. 859-863, 2023.

JIANG, Zhiwen *et al.* Progress in laser ablation and biological synthesis processes: “Top-Down” and “Bottom-Up” approaches for the green synthesis of Au/Ag nanoparticles. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 23, n. 23, p. 14658, 2022.

JOHNSON, Jayapriya; SHANMUGAM, Rajeshkumar; LAKSHMI, Thangavelu. A review on plant-mediated selenium nanoparticles and its applications. **J Popul Ther Clin Pharmacol**, v. 28, n. 2, p. e29-e40, 2022.

JOHN, Anjali *et al.* Electrochemical sensors using conducting polymer/noble metal nanoparticle nanocomposites for the detection of various analytes: A review. **Journal of Nanostructure in Chemistry**, v. 11, p. 1-31, 2021.

JOSHI, Abhayraj S.; SINGH, Priyanka; MIJAKOVIC, Ivan. Interactions of gold and silver nanoparticles with bacterial biofilms: Molecular interactions behind inhibition and resistance. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 21, n. 20, p. 7658, 2020.

KAINAT, Sumaya *et al.* Determination and comparison of phytochemicals, phenolics, and flavonoids in *Solanum lycopersicum* using FTIR spectroscopy. **Food Analytical Methods**, v. 15, n. 11, p. 2931-2939, 2022.

KALMPOURTZIDOU, Alik; EILANDER, Ans; TALSMA, Elise F. Global vegetable intake and supply compared to recommendations: a systematic review. **Nutrients**, v. 12, n. 6, p. 1558, 2020.

KAMALA NALINI, S. P.; VIJAYARAGHAVAN, K. Green synthesis of silver and gold nanoparticles using Aloe vera gel and determining its antimicrobial properties on nanoparticle impregnated cotton fabric. **Journal of Nanotechnology Research**, v. 2, n. 3, p. 42-50, 2020.

KAMARAJ, Chinnaperumal *et al.* Green synthesis of gold nanoparticles using *Gracilaria crassa* leaf extract and their ecotoxicological potential: Issues to be considered. **Environmental Research**, v. 213, p. 113711, 2022.

KAMBLE, Shashikant *et al.* Revisiting zeta potential, the key feature of interfacial phenomena, with applications and recent advancements. **ChemistrySelect**, v. 7, n. 1, p. e202103084, 2022.

KANNAN, Karthik *et al.* Nanostructured metal oxides and its hybrids for photocatalytic and biomedical applications. **Advances in Colloid and Interface Science**, v. 281, p. 102178, 2020.

KAZEMZADEH, Yousef *et al.* Review on application of nanoparticles for EOR purposes: A critical review of the opportunities and challenges. **Chinese Journal of Chemical Engineering**, v. 27, n. 2, p. 237-246, 2019.

KHAN, S. *et al.* Surface modification induced enhancement in optical properties of silver nanoparticles. **Optical Materials**, v. 77, p. 35-41, 2018a

KHAN, Z., Al-Thabaiti, S. A., Obaid, A. Y., Asiri, A. M., & Al-Youbi, A. O. Organic capping agents impact on surface plasmon resonance: A systematic study on citrate and cetyltrimethylammonium bromide coated silver nanoparticles. **Journal of Molecular Liquids**, 249, 106-111, 2018b.

KHAN, Tariq *et al.* Plant-based gold nanoparticles; a comprehensive review of the decade-long research on synthesis, mechanistic aspects and diverse applications. **Advances in colloid and interface science**, v. 272, p. 102017, 2019.

KHAN, Farhan Mohammad; GUPTA, Rajiv. Escherichia coli (E. coli) as an Indicator of Fecal Contamination in Groundwater: A Review. **Sustainable Development of Water and Environment: Proceedings of the ICSDWE2020**, p. 225-235, 2020.

KHATAMI, Mehrdad; ALIJANI, Hajar Q.; SHARIFI, Iraj. Biosynthesis of bimetallic and core-shell nanoparticles: their biomedical applications—a review. **IET nanobiotechnology**, v. 12, n. 7, p. 879-887, 2018.

KHAYRUZAMRI, Maisarah Azad; SAMSUDIN, Wan Nur Aqilah Wan Mohd; HASHIM, Siti Ernienyanti. Phytochemicals and Antioxidant Activity of Anacardium occidentale L. **Journal of Science and Mathematics Letters**, v. 11, n. 1, p. 59-63, 2023.

KONG, Xiang-Ping; ZHANG, Bao-Hua; WANG, Juan. Multiple roles of mesoporous silica in safe pesticide application by nanotechnology: A review. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 69, n. 24, p. 6735-6754, 2021.

KUSTIAWAN, Paula Mariana *et al.* Bioactivity of Heterotrigona itama propolis as anti-inflammatory: A review. **Biointerface Research in Applied Chemistry**, v. 13, n. 4, p. 326, 2023.

KUMAR, J. Aravind *et al.* A focus to green synthesis of metal/metal based oxide nanoparticles: Various mechanisms and applications towards ecological approach. **Journal of Cleaner Production**, v. 324, p. 129198, 2021.

KUMAR, Pandian Senthil *et al.* High-yield synthesis and optical response of gold nanostars. **Nanotechnology**, v. 19, n. 1, p. 015606, 2007.

KUMAR, Santosh *et al.* Biodegradable hybrid nanocomposites of chitosan/gelatin and silver nanoparticles for active food packaging applications. **Food packaging and shelf life**, v. 16, p. 178-184, 2018.

KUMARI, Yogita *et al.* Gold nanoparticles: New routes across old boundaries. **Advances in colloid and interface science**, v. 274, p. 102037, 2019.

KUMARI, Priyanka; MEENA, Abha. Green synthesis of gold nanoparticles from *Lawsoniainermis* and its catalytic activities following the Langmuir-Hinshelwood mechanism. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v. 606, p. 125447, 2020.

LAYCOCK, Adam *et al.* Determination of metallic nanoparticles in biological samples by single particle ICP-MS: a systematic review from sample collection to analysis. **Environmental Science: Nano**, v. 9, n. 2, p. 420-453, 2022.

LEE, Stephen A.; LINK, Stephan. Chemical interface damping of surface plasmon resonances. **Accounts of Chemical Research**, v. 54, n. 8, p. 1950-1960, 2021.

LEE, Andie S. *et al.* Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. **Nature reviews Disease primers**, v. 4, n. 1, p. 1-23, 2018.

LEE, Isaiah Paolo A. *et al.* Bacterial cooperation through horizontal gene transfer. **Trends in Ecology & Evolution**, v. 37, n. 3, p. 223-232, 2022.

LI, Weiyang; ZHANG, Guosheng. Detection and various environmental factors of antibiotic resistance gene horizontal transfer. **Environmental Research**, v. 212, p. 113267, 2022.

LITHGOW, Trevor; STUBENRAUCH, Christopher J.; STUMPF, Michael PH. Surveying membrane landscapes: a new look at the bacterial cell surface. **Nature Reviews Microbiology**, p. 1-17, 2023.

LIU, Rui *et al.* Advances of nanoparticles as drug delivery systems for disease diagnosis and treatment. **Chinese chemical letters**, v. 34, n. 2, p. 107518, 2023.

LIU, Jin *et al.* Antioxidant, cytotoxicity, anti-human esophageal squamous cell carcinoma, anti-human Caucasian esophageal carcinoma, anti-adenocarcinoma of the gastroesophageal junction, and anti-distal esophageal adenocarcinoma properties of gold nanoparticles green synthesized by *Rhus coriaria* L. fruit aqueous extract. **Journal of Experimental Nanoscience**, v. 15, n. 1, p. 202-216, 2020.

LIU, Bin *et al.* Structure and genetics of *Escherichia coli* O antigens. **FEMS microbiology reviews**, v. 44, n. 6, p. 655-683, 2020.

LÓPEZ-LORENTE, Ángela Inmaculada; CÁRDENAS, Soledad; GONZÁLEZ-SÁNCHEZ, Zaira Isabel. Effect of synthesis, purification and growth determination methods on the antibacterial and antifungal activity of gold nanoparticles. **Materials Science and Engineering: C**, v. 103, p. 109805, 2019.

LU, J. R.; KESSLER, M. R. **Adsorption and Aggregation of Surfactants in Solution**. Boca Raton, FL: CRC Press, 2006.

LUO, Li-Wei *et al.* Evaluating method and potential risks of chlorine-resistant bacteria (CRB): a review. **Water Research**, v. 188, p. 116474, 2021.

LUNARDI, Claire N. *et al.* Experimental methods in chemical engineering: Zeta potential. **The Canadian Journal of Chemical Engineering**, v. 99, n. 3, p. 627-639, 2021.

MAESAROH, Kiki *et al.* The Effect of Different Synthesis with Chemical and Biological Methods on Properties of Silver Oxide Nanoparticles. **Trends in Sciences**, v. 20, n. 3, p. 4350-4350, 2023.

MANCUSO, Giuseppe *et al.* Bacterial antibiotic resistance: The most critical pathogens. **Pathogens**, v. 10, n. 10, p. 1310, 2021.

MANDHATA, Chinmayee Priyadarsani; SAHOO, Chita Ranjan; PADHY, Rabindra Nath. Biomedical applications of biosynthesized gold nanoparticles from cyanobacteria: An overview. **Biological Trace Element Research**, v. 200, n. 12, p. 5307-5327, 2022.

MALAIKOZHUNDAN, Balasubramanian *et al.* Toxicity Aspects of Nanomaterials. In: **Handbook of Green and Sustainable Nanotechnology: Fundamentals, Developments and Applications**. Cham: Springer International Publishing, p. 2535-2551, 2023.

MALIK, Shiza *et al.* Cytotoxicity study of gold nanoparticle synthesis using Aloe vera, honey, and *Gymnema sylvestre* leaf extract. **ACS omega**, v. 8, n. 7, p. 6325-6336, 2023.

MARTÍNEZ, Guillermo *et al.* Environmental impact of nanoparticles' application as an emerging technology: A review. **Materials**, v. 14, n. 1, p. 166, 2020.

MARIYCHUK, Ruslan *et al.* Green synthesis and characterization of gold triangular nanoprisms using extract of *Juniperus communis* L. **Applied Nanoscience**, v. 10, n. 8, p. 2835-2841, 2020.

MAŤÁTKOVÁ, Olga *et al.* Antimicrobial properties and applications of metal nanoparticles biosynthesized by green methods. **Biotechnology advances**, v. 58, p. 107905, 2022.

MAYEGOWDA, Shilpa Borehalli *et al.* Eco-friendly synthesized nanoparticles as antimicrobial agents: an updated review. **Frontiers in Cellular and Infection Microbiology**, v. 13, 2023.

MEERMANN, Björn; NISCHWITZ, Volker. ICP-MS for the analysis at the nanoscale—a tutorial review. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, v. 33, n. 9, p. 1432-1468, 2018.

MEHRAVANI, Behnaz; RIBEIRO, Ana Isabel; ZILLE, Andrea. Gold nanoparticles synthesis and antimicrobial effect on fibrous materials. **Nanomaterials**, v. 11, n. 5, p. 1067, 2021.

MESAS, Cristina *et al.* Plant-Mediated Inorganic Nanoparticles for Anti-Tumor Therapy in Colorectal Cancer: A Systematic Review. **Applied Sciences**, v. 13, n. 18, p. 10156, 2023.

MIKHAILOVA, Ekaterina O. Gold nanoparticles: biosynthesis and potential of biomedical application. **Journal of Functional Biomaterials**, v. 12, n. 4, p. 70, 2021.

MOBED, Ahmad; HASANZADEH, Mohammad; SEIDI, Farzad. Anti-bacterial activity of gold nanocomposites as a new nanomaterial weapon to combat photogenic agents: Recent advances and challenges. **RSC advances**, v. 11, n. 55, p. 34688-34698, 2021.

MOHAJERANI, Abbas *et al.* Nanoparticles in construction materials and other applications, and implications of nanoparticle use. **Materials**, v. 12, n. 19, p. 3052, 2019.

MOHAMMADI-JAM, Shiva; WATERS, Kristian E.; GREENWOOD, Richard W. A review of zeta potential measurements using electroacoustics. **Advances in Colloid and Interface Science**, p. 102778, 2022.

MOHAMMED, Azad; ABDULLAH, Avin. Scanning electron microscopy (SEM): A review. In: **Proceedings of the 2018 International Conference on Hydraulics and Pneumatics—HERVEX, Băile Govora, Romania**. 2018.

MORALEZ, Jenifer *et al.* Quantitative analysis of horizontal gene transfer in complex systems. **Current Opinion in Microbiology**, v. 62, p. 103-109, 2021.

MONTAÑO, Manuel D. *et al.* Opportunities for examining the natural nanogeochemical environment using recent advances in nanoparticle analysis. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, v. 34, n. 9, p. 1768-1772, 2019.

MOUSTAFA, Nagy E.; ALOMARI, Abdulaziz Ali. Green synthesis and bactericidal activities of isotropic and anisotropic spherical gold nanoparticles produced using Peganum harmala L leaf and seed extracts. **Biotechnology and Applied Biochemistry**, v. 66, n. 4, p. 664-672, 2019.

MUDDAPUR, Uday M. *et al.* Plant-based synthesis of gold nanoparticles and theranostic applications: a review. **Molecules**, v. 27, n. 4, p. 1391, 2022.

MUGHAL, Shahzad Sharif. Diagnosis and treatment of diseases by using metallic nanoparticles-A review. **Authorea Preprints**, 2022.

MASRI, Mahmoud A. *et al.* A sustainable, high-performance process for the economic production of waste-free microbial oils that can replace plant-based equivalents. **Energy & Environmental Science**, v. 12, n. 9, p. 2717-2732, 2019.

MUTHUSAMY, Amutha; POTTAIL, Lalitha. RAPID GREEN SYNTHESIS OF GOLD AND SILVER NANOPARTICLES USING ETHANOL EXTRACT OF KEDROSTIS FOETIDISSIMA (JACQ.) COGN. AND ITS ANTICANCER EFFICACY AGAINST A549 HUMAN LUNG CANCER CELL LINES. **Indian Drugs**, v. 58, n. 3, 2021.

MUSTAPHA, Tijjani *et al.* A review on plants and microorganisms mediated synthesis of silver nanoparticles, role of plants metabolites and applications. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, v. 19, n. 2, p. 674, 2022.

NADAF, Sameer J. *et al.* Green synthesis of gold and silver nanoparticles: Updates on research, patents, and future prospects. **OpenNano**, p. 100076, 2022.

- NAOMI-MATSUOKA, Andrea *et al.* Resistencia a la colistina en cepas de *Klebsiella pneumoniae* multidrogresistente del período 2015-2018 en un instituto materno perinatal de Lima, Perú. **Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Pública**, v. 37, p. 716-720, 2021.
- NAOREM, Romen Singh *et al.* Characterization of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* through genomics approach. **3 Biotech**, v. 10, p. 1-19, 2020.
- NAKA, TOURE *et al.* Antioxidant and antibacterial activities of cashew (*Anacardium occidentale* L.) apple juice concentrated from western three regions of Côte d'Ivoire. **Journal of Applied Biosciences**, v. 141, p. 14343-14352, 2019.
- NAYAK, Sneha *et al.* Plant-mediated gold and silver nanoparticles as detectors of heavy metal contamination. **Food and Chemical Toxicology**, p. 113271, 2022.
- NAYSMITH, Ashleigh; MIAN, Naeem S.; RANA, Sohel. Development of conductive textile fabric using Plackett–Burman optimized green synthesized silver nanoparticles and in situ polymerized polypyrrole. **Green Chemistry Letters and Reviews**, v. 16, n. 1, p. 2158690, 2023.
- NISAR, Parveen *et al.* Antimicrobial activities of biologically synthesized metal nanoparticles: an insight into the mechanism of action. **JBIC Journal of Biological Inorganic Chemistry**, v. 24, p. 929-941, 2019.
- NISHANTHI, R. *et al.* Green synthesis and characterization of bioinspired silver, gold and platinum nanoparticles and evaluation of their synergistic antibacterial activity after combining with different classes of antibiotics. **Materials Science and Engineering: C**, v. 96, p. 693-707, 2019.
- NGUYEN, Thi Hong Anh *et al.* Novel biogenic silver and gold nanoparticles for multifunctional applications: Green synthesis, catalytic and antibacterial activity, and colorimetric detection of Fe (III) ions. **Chemosphere**, v. 287, p. 132271, 2022.
- NOVAES, Thiago Emanuel Rodrigues; NOVAES, Ana Selia Rodrigues. Análise dos potenciais medicinais do cajueiro (*Anacardium occidentale* Linn): uma breve revisão. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 1, p. e41810111838-e41810111838, 2021.
- NOURI, Alireza; WEN, Cuie. Noble metal alloys for load-bearing implant applications. In: **Structural Biomaterials**. Woodhead Publishing, 2021. p. 127-156.
- OSONGA, Francis J. *et al.* Size and shape-dependent antimicrobial activities of silver and gold nanoparticles: A model study as potential fungicides. **Molecules**, v. 25, n. 11, p. 2682, 2020.
- OLIVEIRA, Marco *et al.* The Magic Cocktail: Ampicillin and Biosynthesized Gold Nanoparticles Synergism against *Staphylococcus aureus*. **Applied Sciences**, v. 13, n. 19, p. 10934, 2023.
- PADILHA, Janine Agra *et al.* Therapeutic effects of *Anacardium occidentale*: an integrative review. **Acta Brasiliensis**, v. 4, n. 3, p. 178-186, 2020.

- PRADEEP, Matam *et al.* Uncovering the phytochemical basis and the mechanism of plant extract-mediated eco-friendly synthesis of silver nanoparticles using ultra-performance liquid chromatography coupled with a photodiode array and high-resolution mass spectrometry. **ACS Sustainable Chemistry & Engineering**, v. 10, n. 1, p. 562-571, 2021.
- PAKRIEVA, Ekaterina *et al.* Effect of gold electronic state on the catalytic performance of nano gold catalysts in n-octanol oxidation. **Nanomaterials**, v. 10, n. 5, p. 880, 2020.
- PAIVA-SANTOS, Ana Cláudia *et al.* Plant-mediated green synthesis of metal-based nanoparticles for dermatopharmaceutical and cosmetic applications. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 597, p. 120311, 2021.
- Pan American Health Organization. *Latin American Countries Advance in the Surveillance of Antimicrobial Consumption*; Pan American Health Organization: Washington, DC, USA, 2021; disponível em: <https://www.paho.org/en/news/21-4-2021-latin-american-countries-advance-surveillance-antimicrobial-consumption> (acessado em 20 de julho de 2023).
- PANDEY, M. K. *et al.* Facile biosynthesis of silver nanoparticles from *Allium ampeloprasum* L. (rakkyo) and their antimicrobial potential. **3 Biotech**, v. 9, n. 3, p. 1-8, 2019.
- PANJA, Amica *et al.* Silver Nanoparticles—A Review. **Eurasian Journal of Medicine and Oncology**, v. 5, n. 2, p. 95, 2021.
- PARVEKAR, Prashik *et al.* The minimum inhibitory concentration (MIC) and minimum bactericidal concentration (MBC) of silver nanoparticles against *Staphylococcus aureus*. **Biomaterial investigations in dentistry**, v. 7, n. 1, p. 105-109, 2020.
- PATIL, Rahul B.; CHOUGALE, Ashok D. Analytical methods for the identification and characterization of silver nanoparticles: A brief review. **Materials Today: Proceedings**, v. 47, p. 5520-5532, 2021.
- PEPI, Milva; FOCARDI, Silvano. Antibiotic-resistant bacteria in aquaculture and climate change: A challenge for health in the Mediterranean area. **International journal of environmental research and public health**, v. 18, n. 11, p. 5723, 2021.
- PEREIRA, Cirlane Gonçalves *et al.* Uma revisão narrativa do conhecimento, atitudes e percepções dos 38274 estudantes do ensino médio e universitário sobre a resistência do uso irracional dos antibióticos Knowledge about the resistance of irrational use of: a Narrative review of the knowledge, attitudes and perceptions of. **Brazilian Journal of Development**, v. 8, n. 5, p. 38261-38274, 2022.
- PICCINOTTI, Davide. **Chalcogenide Platforms for Photonic Met-amaterials**. University of Southampton Research Repository, Southampton, p.171, November 2018.
- PITOUT, Johann DD *et al.* *Escherichia coli* ST1193: following in the footsteps of *E. coli* ST131. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 66, n. 7, p. e00511-22, 2022.
- PIRKO, Yaroslav *et al.* Eco-friendly synthesis of gold nanoparticles using *Camellia sinensis* phytoextracts. **Lett. Appl. NanoBioSci**, v. 10, p. 2515-2524, 2021.
- PYRZYNSKA, Krystyna; SENTKOWSKA, Aleksandra. Biosynthesis of selenium nanoparticles using plant extracts. **Journal of Nanostructure in Chemistry**, p. 1-14, 2021.

PULINGAM, Thiruchelvi *et al.* Antimicrobial resistance: Prevalence, economic burden, mechanisms of resistance and strategies to overcome. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 170, p. 106103, 2022.

PRABHA, S. *et al.* Plant-derived silica nanoparticles and composites for biosensors, bioimaging, drug delivery and supercapacitors: a review. **Environmental chemistry letters**, v. 19, n. 2, p. 1667-1691, 2021.

PRADO, Guilherme Mendes *et al.* Cymbopogon sp. from ethnobotany to antimicrobial: an integrative review. **Research, Society and Development**, v. 11, n. 9, p. e19211931587-e19211931587, 2022.

PREMA, P. *et al.* Green tea extract mediated biogenic synthesis of gold nanoparticles with potent anti-proliferative effect against PC-3 human prostate cancer cells. **Materials Letters**, v. 306, p. 130882, 2022.

PRINCY, S. Smonia Joe *et al.* Hibiscus cannabinus seeds assisted spherical silver nanoparticles and its antibacterial and photocatalytic applications. **Chemical Physics Impact**, v. 6, p. 100192, 2023.

PROCIANOY, Renato Soibelman; SILVEIRA, Rita C. Os desafios no manejo da sepsé neonatal. **Jornal de Pediatria**, v. 96, p. 80-86, 2020.

QIAO, Yuqian *et al.* Microwave assisted antibacterial action of Garcinia nanoparticles on Gram-negative bacteria. **Nature Communications**, v. 13, n. 1, p. 2461, 2022.

RAJ, Sibi *et al.* Specific targeting cancer cells with nanoparticles and drug delivery in cancer therapy. In: **Seminars in cancer biology**. Academic Press, 2021.

RAJAN, Anish; RAJAN, Angel Rose; PHILIP, Daizy. Elettaria cardamomum seed mediated rapid synthesis of gold nanoparticles and its biological activities. **OpenNano**, v. 2, p. 1-8, 2017.

RAUTA, Pradipta Ranjan; MOHANTA, Yugal Kishore; NAYAK, Debasis (Ed.). **Nanotechnology in biology and medicine: Research advancements & future perspectives**. CRC Press, 2019.

RENNICK, Joshua J.; JOHNSTON, Angus PR; PARTON, Robert G. Key principles and methods for studying the endocytosis of biological and nanoparticle therapeutics. **Nature nanotechnology**, v. 16, n. 3, p. 266-276, 2021.

RIBEIRO, Adyelle Dantas *et al.* Potencial antimicrobiano do Anacardium occidentale Lin. contra patógenos orais. **Research, Society and Development**, v. 9, n. 8, p. e883986459-e883986459, 2020.

RIBEIRO, Nara Calaçá *et al.* Potential antioxidant and antibacterial bioactivity of leaf and stem bark extracts in wild cashew (*Anacardium occidentale* L.) populations from coastal Piauí, northeastern Brazil. **Feddes Repertorium**, v. 132, n. 2, p. 141-157, 2021.

RODRIGUES, Antônio Rony da Silva Pereira. Potencial antioxidante, antimicrobiano, anti-inflamatória e antifúngica da *Anacardium occidentale* (Linn): Revisão de literatura. **Revista Colombiana de Ciencias Químico-Farmacéuticas**, v. 52, n. 1, 2023.

RÓNAVÁRI, Andrea *et al.* Green silver and gold nanoparticles: Biological synthesis approaches and potentials for biomedical applications. **Molecules**, v. 26, n. 4, p. 844, 2021.

ROMPALSKI, Przemysław *et al.* Determination of mercury content in hard coal and fly ash using X-ray diffraction and scanning electron microscopy coupled with chemical analysis. **Arabian Journal of Chemistry**, v. 12, n. 8, p. 3927-3942, 2019.

RUHAL, Rohit; KATARIA, Rashmi. Biofilm patterns in gram-positive and gram-negative bacteria. **Microbiological Research**, v. 251, p. 126829, 2021.

SALEH, Tawfik A. Nanomaterials: Classification, properties, and environmental toxicities. **Environmental Technology & Innovation**, v. 20, p. 101067, 2020.

SALEH, Tawfik A. Protocols for synthesis of nanomaterials, polymers, and green materials as adsorbents for water treatment technologies. **Environmental Technology & Innovation**, v. 24, p. 101821, 2021.

SALEHI, Bahare *et al.* Anacardium plants: chemical, nutritional composition and biotechnological applications. **Biomolecules**, v. 9, n. 9, p. 465, 2019.

SALEM, Salem S.; FOUUDA, Amr. Green synthesis of metallic nanoparticles and their prospective biotechnological applications: an overview. **Biological trace element research**, v. 199, p. 344-370, 2021.

SAMUEL, Melvin S. *et al.* A review on green synthesis of nanoparticles and their diverse biomedical and environmental applications. **Catalysts**, v. 12, n. 5, p. 459, 2022.

SAHU, Tarun *et al.* Nanotechnology based drug delivery system: Current strategies and emerging therapeutic potential for medical science. **Journal of Drug Delivery Science and Technology**, v. 63, p. 102487, 2021.

SANATI, Alireza *et al.* A review on recent advancements in electrochemical biosensing using carbonaceous nanomaterials. **Microchimica Acta**, v. 186, p. 1-22, 2019.

SÁNCHEZ-LÓPEZ, Elena *et al.* Metal-based nanoparticles as antimicrobial agents: an overview. **Nanomaterials**, v. 10, n. 2, p. 292, 2020.

SANGWAN, Sonia; SETH, Raman. Synthesis, characterization and stability of gold nanoparticles (AuNPs) in different buffer systems. **Journal of Cluster Science**, p. 1-16, 2021.

SANJIVKUMAR, Muthusamy; SILAMBARASAN, Tamil Selvan. Exploration on Green Synthesis of Nanoparticles from Plants and Microorganisms and Their Biological Applications. In: **Modern Nanotechnology: Volume 2: Green Synthesis, Sustainable Energy and Impacts**. Cham: Springer Nature Switzerland, p. 149-173, 2023.

SANTHOSH, Poornima Budime; GENOVA, Julia; CHAMATI, Hassan. Green synthesis of gold nanoparticles: An eco-friendly approach. **Chemistry**, v. 4, n. 2, p. 345-369, 2022.

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.

SARAVANAKUMAR, Kandasamy *et al.* Impact of industrial effluents on the environment and human health and their remediation using MOFs-based hybrid membrane filtration techniques. **Chemosphere**, v. 307, p. 135593, 2022.

SARFRAZ, Nafeesa; KHAN, Ibrahim. Plasmonic gold nanoparticles (AuNPs): properties, synthesis and their advanced energy, environmental and biomedical applications. **Chemistry–An Asian Journal**, v. 16, n. 7, p. 720-742, 2021.

SARKER, Satya Ranjan *et al.* Functionalized concave cube gold nanoparticles as potent antimicrobial agents against pathogenic bacteria. **ACS Applied Bio Materials**, v. 5, n. 2, p. 492-503, 2022.

SARGAZI, Saman *et al.* Application of green gold nanoparticles in cancer therapy and diagnosis. **Nanomaterials**, v. 12, n. 7, p. 1102, 2022.

SATHIYARAJ, Sivaji *et al.* Biosynthesis, characterization, and antibacterial activity of gold nanoparticles. **Journal of Infection and Public Health**, v. 14, n. 12, p. 1842-1847, 2021.

SATYRA, Geovanna Larissa Freitas *et al.* Colonização das fossas nasais de estudantes de enfermagem por *Staphylococcus aureus* e perfil de resistência aos antimicrobianos. **Revista Recien-Revista Científica de Enfermagem**, v. 11, n. 35, p. 323-333, 2021.

SAVITZKY, Benjamin H. *et al.* py4DSTEM: A software package for four-dimensional scanning transmission electron microscopy data analysis. **Microscopy and Microanalysis**, v. 27, n. 4, p. 712-743, 2021.

SERWECIŃSKA, Liliana. Antimicrobials and antibiotic-resistant bacteria: a risk to the environment and to public health. **Water**, v. 12, n. 12, p. 3313, 2020.

SHAFEY, Asmaa Mohamed El. Green synthesis of metal and metal oxide nanoparticles from plant leaf extracts and their applications: A review. **Green Processing and Synthesis**, v. 9, n. 1, p. 304-339, 2020.

SHARMA, Rakesh Kumar *et al.* Silver nanomaterials: synthesis and (electro/photo) catalytic applications. **Chemical Society Reviews**, v. 50, n. 20, p. 11293-11380, 2021.

SHARMA *et al.* Use of oil-in-water pickering emulsion stabilized by nanoparticles in combination with polymer flood for enhanced oil recovery. **Petroleum Science and Technology**, 33(17-18), 1595-1604, 2015.

SHARMA, Nitin Kumar *et al.* Green route synthesis and characterization techniques of silver nanoparticles and their biological adeptness. **ACS omega**, v. 7, n. 31, p. 27004-27020, 2022.

SHRESTHA, Sweta; WANG, Bo; DUTTA, Prabir. Nanoparticle processing: Understanding and controlling aggregation. **Advances in colloid and interface science**, v. 279, p. 102162, 2020.

- SHAIKH, Wasim Akram *et al.* A review of the phytochemical mediated synthesis of AgNP (silver nanoparticle): The wonder particle of the past decade. **Applied Nanoscience**, v. 11, n. 11, p. 2625-2660, 2021.
- SHAH, Syed Shaheen *et al.* Present status and future prospects of jute in nanotechnology: A review. **The Chemical Record**, v. 21, n. 7, p. 1631-1665, 2021.
- SHAH, Sumaira *et al.* Engineering novel gold nanoparticles using Sageretia thea leaf extract and evaluation of their biological activities. **Journal of Nanostructure in Chemistry**, v. 12, n. 1, p. 129-140, 2022.
- 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.
- SHEKHAR, Lipi; MERCHANT, Nazakat. Neonatal meningitis: giant enemy of the little brain. **Paediatrics and Child Health**, v. 32, n. 1, p. 13-17, 2022.
- SHUME, Workneh M.; MURTHY, HC Ananda; ZEREFFA, Enyew Amare. A review on synthesis and characterization of Ag₂O nanoparticles for photocatalytic applications. **Journal of Chemistry**, v. 2020, p. 1-15, 2020.
- SHNOUDEH, Abeer Jabra *et al.* Synthesis, characterization, and applications of metal nanoparticles. In: **Biomaterials and bionanotechnology**. Academic Press, 2019. p. 527-612.
- SILVA, Sara; ALMEIDA, António J.; VALE, Nuno. Combination of cell-penetrating peptides with nanoparticles for therapeutic application: a review. **Biomolecules**, v. 9, n. 1, p. 22, 2019.
- SINGH, Anirudh *et al.* Green synthesis of metallic nanoparticles as effective alternatives to treat antibiotics resistant bacterial infections: A review. **Biotechnology Reports**, v. 25, p. e00427, 2020.
- SIVAKAVINESAN, M. *et al.* Citrus limetta Risso peel mediated green synthesis of gold nanoparticles and its antioxidant and catalytic activity. **Journal of King Saud University-Science**, v. 34, n. 7, p. 102235, 2022.
- SKOOG, D. A. *et al.* **Fundamentals of Analytical Chemistry**. 8th ed. Belmont: Brooks/Cole, 2002.
- SOARES, Vyvian Dias Miranda *et al.* Pharmacological activities of the phenolic constituents from Anacardium occidentale (Anacardiaceae): A review. **Rev Bras Plantas Med/Braz J Med Plants**, v. 24, p. 134-144, 2022.
- SORBIUN, Mina *et al.* Green synthesis of zinc oxide and copper oxide nanoparticles using aqueous extract of oak fruit hull (jaft) and comparing their photocatalytic degradation of basic violet 3. **International Journal of Environmental Research**, v. 12, p. 29-37, 2018.

SONI, Vatika *et al.* Sustainable and green trends in using plant extracts for the synthesis of biogenic metal nanoparticles toward environmental and pharmaceutical advances: A review. **Environmental Research**, v. 202, p. 111622, 2021.

SOUSA, Francisco Alisson Vieira de. **Caracterização de compostos fenólicos na fibra de caju usando ressonância magnética nuclear (Anacardium occidentale L)**. 2022. 34 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Química) - Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2022.

SRIVASTAVA, Shilpi *et al.* Green nanotechnology: an overview. **Green Nanoparticles: The Future of Nanobiotechnology**, p. 1-13, 2022a.

SRIVASTAVA, Shilpi *et al.* Biological Synthesis of Nanoparticles: Angiosperms: Monocotyledons. **Green Nanoparticles: The Future of Nanobiotechnology**, p. 217-230, 2022b.

SULEMAN, Muhammad *et al.* 2. Antioxidants, its role in preventing free radicals and infectious diseases in human body. **Pure and Applied Biology (PAB)**, v. 8, n. 1, p. 380-388, 2019.

SUN, Chunshui *et al.* The widespread use of nanomaterials: the effects on the function and diversity of environmental microbial communities. **Microorganisms**, v. 10, n. 10, p. 2080, 2022.

SURIYAKALA, Gunasekaran *et al.* Green synthesis of gold nanoparticles using *Jatropha integerrima* Jacq. flower extract and their antibacterial activity. **Journal of King Saud University-Science**, v. 34, n. 3, p. 101830, 2022.

SZCZYGLEWSKA, Paulina; FELICZAK-GUZIK, Agnieszka; NOWAK, Izabela. Nanotechnology—General Aspects: A Chemical Reduction Approach to the Synthesis of Nanoparticles. **Molecules**, v. 28, n. 13, p. 4932, 2023.

TAHA, Rania H. Green synthesis of silver and gold nanoparticles and their potential applications as therapeutics in cancer therapy; a review. **Inorganic Chemistry Communications**, v. 143, p. 109610, 2022.

TANG, Min *et al.* Recent progresses on structural reconstruction of nanosized metal catalysts via controlled-atmosphere transmission electron microscopy: a review. **ACS Catalysis**, v. 10, n. 24, p. 14419-14450, 2020.

THANGAMANI, N.; BHUVANESHWARI, N. Green synthesis of gold nanoparticles using *Simarouba glauca* leaf extract and their biological activity of micro-organism. **Chemical Physics Letters**, v. 732, p. 136587, 2019.

TANIGUCHI, Norio. On the basic concept of nano-technology'. In: **Proc. Intl. Conf. Prod. Eng. Tokyo, Part II, 1974**. Japan Society of Precision Engineering, 1974.

TAVARES, Tânia D. *et al.* Activity of specialized biomolecules against gram-positive and gram-negative bacteria. **Antibiotics**, v. 9, n. 6, p. 314, 2020.

TAIWO, Bamigboye J. *et al.* Pentagalloylglucose, isolated from the leaf extract of *Anacardium occidentale* L., could elicit rapid and selective cytotoxicity in cancer cells. **BMC Complementary Medicine and Therapies**, v. 20, n. 1, p. 1-9, 2020.

TIAN, Xiangwei *et al.* Simultaneous multi-element and multi-isotope detection in single-particle ICP-MS analysis: Principles and applications. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, p. 116746, 2022.

TITUS, Deena; SAMUEL, E. James Jebaseelan; ROOPAN, Selvaraj Mohana. Nanoparticle characterization techniques. In: **Green synthesis, characterization and applications of nanoparticles**. Elsevier, 2019.

TOLEDO, Ana Cristina Oltramari *et al.* **Desenvolvimento, caracterização e avaliação das atividades biológicas de nanopartículas de prata e de ouro, obtidas por síntese verde, a partir do extrato aquoso das sementes de *Pterodon emarginatus* Vogel (Fabaceae) associadas à gentamicina e ao ácido hialurônico**. 2021. Tese (Doutorado em Ciências Farmacêuticas), Universidade Estadual de Ponta Grossa, Ponta Grossa, 2021.

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.

VELIDANDI, Aditya *et al.* A review on synthesis, applications, toxicity, risk assessment and limitations of plant extracts synthesized silver nanoparticles. **NanoWorld J**, v. 6, n. 3, p. 35-60, 2020.

VIANA, Alciomar Veras *et al.* Síntese verde e caracterização de nanopartículas de prata em curcumina e extrato de cajueiro (*Anacardium occidentale*). **Research, Society and Development**, v. 10, n. 6, p. e11310615512-e11310615512, 2021.

VIJAYARAM, Seerengaraj *et al.* Applications of Green Synthesized Metal Nanoparticles—A Review. **Biological Trace Element Research**, p. 1-27, 2023.

WAHAB, Shahid *et al.* Metallic Nanoparticles: A Promising Arsenal against Antimicrobial Resistance—Unraveling Mechanisms and Enhancing Medication Efficacy. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 24, n. 19, p. 14897, 2023.

WAHAB, Abdul Wahid *et al.* Bio-synthesis of gold nanoparticles through bioreduction using the aqueous extract of *Muntingia calabura* L. leaf. **Oriental Journal of Chemistry**, v. 34, n. 1, p. 401, 2018.

WANG, Chen-yu *et al.* Advances in antimicrobial organic and inorganic nanocompounds in biomedicine. **Advanced Therapeutics**, v. 3, n. 8, p. 2000024, 2020.

WANG, Lu; HASANZADEH KAFSHGARI, Morteza; MEUNIER, Michel. Optical properties and applications of plasmonic-metal nanoparticles. **Advanced Functional Materials**, v. 30, n. 51, p. 2005400, 2020.

WANG, Z. *et al.* **Atomic force microscopy in characterizing nanoparticles and their interactions**. **Small**, v. 14, n. 20, p. 1-17, 2018.

WANG, Lu; HASANZADEH KAFSHGARI, Morteza; MEUNIER, Michel. Optical properties and applications of plasmonic-metal nanoparticles. **Advanced Functional Materials**, v. 30, n. 51, p. 2005400, 2020.

WEI, Lai *et al.* Gut microbiota dysbiosis in functional gastrointestinal disorders: Underpinning the symptoms and pathophysiology. **JGH open**, v. 5, n. 9, p. 976-987, 2021.

WITZLER, Markus *et al.* Validation of gold and silver nanoparticle analysis in fruit juices by single-particle ICP-MS without sample pretreatment. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 64, n. 20, p. 4165-4170, 2016.

XAKIMOVNA, Nurmatova Guzal. DISCUSSION OF NANO-PREFIXED TERMS. In: **INTERNATIONAL SCIENTIFIC CONFERENCES WITH HIGHER EDUCATIONAL INSTITUTIONS** p. 44-47, 2023.

XAVIER, Cássio Rocha *et al.* ASPECTOS PRODUTIVOS DA CAJUCULTURA E APROVEITAMENTO INTEGRAL DE DERIVADOS DE CAJU NO PROCESSAMENTO AGROINDUSTRIAL. **RECIMA21-Revista Científica Multidisciplinar-ISSN 2675-6218**, v. 3, n. 8, p. e381792-e381792, 2022.

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.

XU, X. *et al.* Dual-responsive mesoporous silica nanoparticles mediated controlled release of doxorubicin triggered by near-infrared light and pH stimulus. **Journal of Materials Chemistry**, v. 22, n. 45, p. 2405-2413, 2012.

YAQOOB, Sundas Bahar *et al.* Gold, silver, and palladium nanoparticles: a chemical tool for biomedical applications. **Frontiers in Chemistry**, v. 8, p. 376, 2020.

YANG, Dongsoo *et al.* Metabolic engineering of Escherichia coli for natural product biosynthesis. **Trends in Biotechnology**, v. 38, n. 7, p. 745-765, 2020.

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.

YIN, Jiaming *et al.* Multifunctional Nanoparticles and Nanopesticides in Agricultural Application. **Nanomaterials**, v. 13, n. 7, p. 1255, 2023.

YU, Ting; XIANYU, Yunlei. Array-based biosensors for bacteria detection: from the perspective of recognition. **Small**, v. 17, n. 21, p. 2006230, 2021.

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

ZHANG, D., WANG, X., & YAO, J. Recent advances in X-ray diffraction techniques for characterizing nanomaterials. **Materials Today Physics**, v. 4, p. 22-32, 2018.

ZHANG, Y. *et al.* Probing the mechanical properties of nanoparticles with atomic force microscopy: A review. **Nanoscale Research Letters**, v. 16, n. 1, p. 1-16, 2021.

ZHANG, Chao *et al.* Recent progress of in situ transmission electron microscopy for energy materials. **Advanced Materials**, v. 32, n. 18, p. 1904094, 2020.

ZHANG, Xue-Di *et al.* **Recent Progress in the Diagnosis of *Staphylococcus* in Clinical Settings**. 2022.

ZHAO, D. *et al.* Synthesis and characterization of green-synthesized silver nanoparticles using *Zanthoxylum bungeanum* Maxim. fruit extract and their applications. **RSC Advances**, v. 8, n. 50, p. 28348-28355, 2018.

ZIAI, Yasamin *et al.* Smart plasmonic hydrogels based on gold and silver nanoparticles for biosensing application. **Current Opinion in Biomedical Engineering**, p. 100413, 2022.