



UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS
DEPARTAMENTO DE BIOQUÍMICA E BIOLOGIA MOLECULAR
GRADUAÇÃO BACHARELADO EM BIOTECNOLOGIA

ELAYNE FREITAS DE CARVALHO

NANOCOMPÓSITOS DE κ -CARRAGENANA EXTRAÍDA DE *Hypnea musciformis*
PARA SENSORIAMENTO QUÍMICO E AVALIAÇÃO DA CAPACIDADE
ANTITUMORAL

FORTALEZA

2026

ELAYNE FREITAS DE CARVALHO

NANOCOMPÓSITOS DE κ -CARRAGENANA EXTRAÍDA DE *Hypnea musciformis*
PARA SENSORIAMENTO QUÍMICO E AVALIAÇÃO DA CAPACIDADE
ANTITUMORAL

Trabalho de conclusão de curso apresentado ao curso de Graduação em Biotecnologia do Centro de Ciências da Universidade Federal do Ceará como requisito parcial à obtenção do título de Bacharel em Biotecnologia.

Orientador: Prof. Samuel Veloso Carneiro
Coorientadora: Marjory Lima Holanda Araújo

FORTALEZA

2026

ELAYNE FREITAS DE CARVALHO

NANOCOMPÓSITOS DE κ -CARRAGENANA EXTRAÍDA DE *Hypnea musciformis*
PARA SENSORIAMENTO QUÍMICO E AVALIAÇÃO DA CAPACIDADE
ANTITUMORAL

Trabalho de conclusão de curso apresentado ao
curso de Graduação em Biotecnologia do
Centro de Ciências da Universidade Federal do
Ceará como requisito parcial à obtenção do
título de Bacharel em Biotecnologia.

Aprovada em 30/06/2026

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Samuel Veloso Carneiro (Orientador)
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Prof.^a Dra. Marjory Lima Holanda Araújo (Coorientadora)
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Me. Francisco Eduardo Holanda Lima
Universidade Federal do Ceará (UFC)

A Deus, aos meus pais Júlio
e Elclene, à minha irmã Júlia
e ao meu parceiro Samir.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus por ser tão misericordioso comigo e por lembrar que o Espírito Santo nunca me abandonará. Agradeço por Ele me mostrar nos momentos mais difíceis que o amor dEle é o bastante para mim.

Agradeço aos meus pais, Júlio e Elclene, pela educação, pelo carinho e ensinamentos que auxiliaram na minha formação não só como cidadã mas também como ser humano. Agradeço por sempre acreditarem em mim e por sempre buscarem o melhor para meu desenvolvimento dadas as minhas limitações.

Agradeço aos meus irmãos Júlia, Jamile e Ravi por serem meus amigos e me ajudarem em momentos muito difíceis. Agradeço especialmente à Júlia por ter me incentivado a continuar nessa caminhada e por relembrar o quanto eu sou capaz (sei que você também vai longe, irmã).

Gostaria de agradecer a minha avó Sônia por ser uma das pessoas que mais me incentivou nesta caminhada e que nunca deixou de acreditar na minha capacidade. Agradeço-lhe por me ensinar que alegria mora dentro da gente e que não há nada neste mundo que não tenha solução, exceto a morte.

Agradeço a minha prima Eugênia por ser minha irmã mais velha que não tive. Agradeço-lhe pelos momentos felizes, pelos momentos de estudo em vídeo-chamada, pelas risadas e pelos conselhos.

Agradeço, especialmente, ao meu pai, minha mãe, minha avó Sônia, minha tia Jô e minha tia Lillian por terem me proporcionado participar do NÚCLEO24, congresso de biotecnologia o qual foi muito importante para minha jornada acadêmica.

Agradeço ao Samir por todo companheirismo, cuidado, amor e incentivo que me proporcionou chegar até aqui. Agradeço-lhe também todo o apoio durante as fases mais difíceis na graduação e na minha vida. Ele é um grande exemplo para mim e é um prazer dividir uma vida com ele.

Agradeço a toda minha família para que ninguém fique com ciúmes, pois saibam que cada palavra de amor, de incentivo e de acolhimento foi essencial para minha caminhada.

Agradeço aos grandes amigos que o curso proporcionou, Ellen, Patrick, Matheus, Joyce e Sara, pelos momentos que vivemos na UFC, pelas risadas, pelos almoços em grupo, pelos estudos em grupo e pelo apoio que um deu ao outro até o fim desse primeiro marco acadêmico de cada um.

Agradeço aos meus grandes amigos Pierre, Jônatas e Giovanna pelos momentos

incríveis, pelo apoio, pelos conselhos e por sempre lembrarem quem eu realmente sou.

Agradeço ao Allysson pela amizade incrível que construímos, pelos conselhos, pelas tardes maravilhosas de estudo bíblico e os amigos que conheci nesse clube do livro maravilhoso.

Agradeço a minha melhor amiga Lia por sempre acreditar em mim, por estar comigo em todos os momentos desde a nossa infância, por ser um dos maiores presentes que eu pude receber quando criança.

Agradeço a meus amigos do ensino médio, Arino, Rute, Jonatas, Frota e João Victor por permanecerem na minha vida e por todos os momentos maravilhosos que vivemos juntos, além de todo apoio que vocês me proporcionaram.

Agradeço a todos os amigos maravilhosos que a graduação e que a vida me proporcionaram. Vocês são muito importantes para mim.

Ao meu orientador, Samuel, por todo o apoio, confiança, direcionamento e conselhos durante todo o período em que fui sua aluna de graduação e aluna de iniciação científica, além do período em que fui monitora de FFQ. Agradeço-lhe por ser uma inspiração de pesquisador e de pessoa para mim, pois quem o conhece sabe o quão é resiliente, forte, justo e gentil.

Agradeço à Vivian por minha formação na iniciação científica, por me ensinar sobre os pontos quânticos de carbono, por confiar em mim em todos os momentos durante minha trajetória no laboratório e por ser uma grande amiga que o laboratório me proporcionou.

Agradeço aos meus queridos colegas de laboratório, Vivian, Eduardo, Juliana, Felipe, Stephani, Pedro, Carlos, Beatriz, Allysson e Vandersson por todos os ensinamentos, risadas, conselhos e apoios na minha trajetória de iniciação científica.

Agradeço também ao Grupo de Química de Materiais Avançados (GQMat) da UFC, pela oportunidade de ser membro e por toda minha jornada na iniciação científica. Agradeço em especial aos professores coordenadores do GQMat, Samuel, Pierre e Tiago, pela confiança, pelos ensinamentos e pelas oportunidades dadas durante minha trajetória no laboratório.

Agradeço à professora Márjory por todos os ensinamentos enquanto fui sua aluna de graduação, por todo carinho e também pelo apoio que o Laboratório de Biotecnologia de Algas e Bioprocessos (BioAP) me proporcionou. Agradeço também aos colegas e membros do BioAP, Ewerton, Lucas e Lívia, por todo apoio durante a realização deste trabalho.

Agradeço ao professor Adriano pela contribuição essencial no trabalho no que diz respeito ao acesso a algumas caracterizações que foram feitas no Laboratório de Tecnologia da Biomassa (LTB) da EMBRAPA Agroindústria Tropical. Agradeço também pela paciência

e pelos ensinamentos que me proporcionou.

Agradeço à Rosa e ao professor Jeanlex pelo acolhimento no Laboratório de Física Biológica (LFB), pelos ensinamentos que tive durante o breve tempo que passei no LFB e por concederem as células de linhagem de câncer para o trabalho. Agradeço também ao Afonso por me ensinar um pouco sobre passagem de células e pelos demais ensinamentos.

Agradeço a professora Fábiana pela recepção e pela concessão da estrutura do Laboratório de Pesquisa em Biomateriais e Bioprodutos (LPB) para a realização do teste de citotoxicidade.

Agradeço em especial aos membros do LPB, Pierre, Pamela e Ana Carolina, por toda ajuda, ensinamentos e realização do teste de citotoxicidade.

Agradeço de forma ainda mais especial à Ana Carolina (Carol), que me ajudou durante toda a graduação por meio de conselhos valiosos e de momentos incríveis que vou carregar para sempre no meu coração.

Agradeço à UFC pelas oportunidades de bolsa, extensões universitárias, refeições no refeitório universitário e programações de enriquecimento acadêmico.

Agradeço à FUNCAP pelo fomento das atividades de iniciação científica dos últimos dois anos.

Agradeço a minha psicóloga, Sabrina por todo o acompanhamento e confiança na minha trajetória, pois sem o seu trabalho o meu também não seria possível.

Gratidão a todos.

“As palavras são, na minha nada humilde opinião, nossa inesgotável fonte de magia. Capazes de formar grandes sofrimentos e também de remediá-los.” — (Alvo Dumbledore, em *Harry Potter e as Relíquias da Morte*)

RESUMO

Nanopartículas de ouro (AuNPs) são nanomateriais com propriedades únicas, como a ressonância de *plasmons* de superfície (SPR), que exibem uma banda plasmônica de absorção entre 520 e 540 nm quando são esféricas, o que a confere uma emissão na cor vermelha no espectro visível. Esta propriedade é bastante explorada em aplicações biológicas, como na entrega de fármacos, mas também podem ser utilizadas no sensoriamento químico de contaminantes emergentes, como o cromo hexavalente [Cr(VI)]. No entanto, as AuNPs produzidas com borohidreto de sódio (BH-AuNPs) apresentam baixa estabilidade, o que compromete a especificidade de interação com o Cr(VI), além de ser tóxico. O objetivo geral deste trabalho é propor uma rota de síntese verde de AuNPs mediante o uso de κ -carragenana semirrefinada e extraída de *Hypnea musciformis*, uma macroalga vermelha abundante na costa da região Nordeste do Brasil, com o intuito de melhorar, também, a estabilidade do nanomaterial. Foram feitas duas sínteses de AuNPs, a primeira com o redutor químico forte, que foi realizada utilizando ácido cloroáurico e borohidreto de sódio a temperatura ambiente e a segunda foi realizada apenas com a κ -carragenana em duas etapas sob aquecimento, mantendo a concentração de ouro em $250 \mu\text{mol L}^{-1}$. Além disso, a caracterização dessas nanopartículas foi feita por técnicas espectroscópicas e estruturais, buscando também avaliar sua interação com o íon alvo. A morfologia de ambas as AuNPs foram elucidadas por microscopia de força atômica (AFM), ao passo que foram determinados tamanho e carga, respectivamente, pelas técnicas de espalhamento de luz dinâmico (DLS) e potencial *zeta* (ZP). Os testes cinéticos mostraram que a interação entre BH-AuNPs e o dicromato de potássio ($\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$) é melhor percebida em um tempo de 20 minutos de reação, todavia isso indica mais um colapso do sistema do que uma interação específica, além disso, mesmo após 90 minutos, não houve mudanças relevantes na banda plasmônica da κ -AuNP quando submetida a mesma concentração de $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$. Apesar disso, as κ -AuNPs apresentaram potencial citotoxicidade em células de osteossarcoma humano (linhagem MG-63) a partir da concentração de $250 \mu\text{g mL}^{-1}$ após 48h, reduzindo a viabilidade celular de forma estatisticamente significativa.

Palavras-chave: Nanopartículas; alga; síntese verde; cromo; banda plasmônica.

ABSTRACT

Gold nanoparticles (AuNPs) are nanomaterials with unique properties, such as surface plasmon resonance (SPR), exhibiting a plasmonic absorption band between 520 and 540 nm when spherical, resulting in red emission in the visible spectrum. This property is widely used in biological applications, such as drug delivery, but it can also be employed in the chemical sensing of emerging contaminants, such as hexavalent chromium [Cr(VI)]. However, AuNPs produced with sodium borohydride (BH-AuNPs) exhibit low stability, which compromises the specificity of interaction with Cr(VI), in addition to being toxic. The overall objective of this work is to propose a green synthetic route for AuNPs using semi-refined κ -carrageenan extracted from *Hypnea musciformis*, a red macroalga abundant on the coast of Northeast Brazil, with the aim of also improving the stability of the nanomaterial. Two syntheses of AuNPs were performed: the first using a strong chemical reducing agent, which was carried out using chloroauric acid and sodium borohydride at room temperature; and the second using only κ -carrageenan in two steps under heating, maintaining the gold concentration at 250 $\mu\text{mol L}^{-1}$. Furthermore, the characterization of these nanoparticles was performed using spectroscopic and structural techniques, also seeking to evaluate their interaction with the target ion. The morphology of both AuNPs was elucidated by atomic force microscopy (AFM), while size and charge were determined by dynamic light scattering (DLS) and zeta potential (ZP) techniques, respectively. Kinetic tests showed that the interaction between BH-AuNPs and potassium dichromate ($\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$) is best observed after a reaction time of 20 minutes; however, this indicates more of a system collapse than a specific interaction. Furthermore, even after 90 minutes, there were no relevant changes in the plasmonic band of κ -AuNP when subjected to the same concentration of $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$. Despite this, the κ -AuNPs showed potential cytotoxicity in human osteosarcoma cells (MG-63 cell line) from a concentration of 250 $\mu\text{g mL}^{-1}$ after 48h, reducing cell viability in a statistically significant way.

Keywords: Nanoparticles; algae; green synthesis; chromium; plasmonic band.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Geometrias de AuNPs produzidas por diferentes rotas sintéticas.....	17
Figura 2 – Número de documentos publicados por ano na base de dados <i>Scopus</i> no intervalo de 2006 a 2026: (a) contendo as palavras <i>gold nanoparticles</i> e <i>green synthesis</i> ; (b) por área temática.....	19
Figura 3 – Estrutura dos principais tipos de carragenana.....	22
Figura 4 – Configuração das placas de L929 e MG-63 (24 e 48 h) em que as colunas e as linhas que têm C1 a C11 são, respectivamente, as replicatas e as concentrações de κ -AuNP do tratamento em que as células foram submetidas. As colunas e as linhas que têm B1 a B11 são, respectivamente, as replicatas e as concentrações de κ -AuNP na ausência de células, seguindo a mesma lógica e concentração inicial ($C1 = B1 = 500 \mu\text{g mL}^{-1}$) do tratamento. A última coluna representa o controle negativo, o qual tem apenas células sem tratamento.....	30
Figura 5 – Espectro de absorvância da suspensão de BH-AuNPs e imagem da amostra sob luz visível.....	31
Figura 6 – Caracterização morfológica das BH-AuNPs: (a) imagem de AFM com perfil de altura topográfica; (b) gráfico de altura.....	32
Figura 7 – Espectros de absorvância das suspensões de κ -AuNPs produzidas com, respectivamente, 0,5% (linha preta), 1,0% (linha vermelha) e 1,5% (linha azul) de κ -carragenana; imagens das amostras sob luz visível (canto inferior esquerdo).....	34
Figura 8 – Caracterização morfológica das κ -AuNPs: (a) mapa de topologia 2D das nanopartículas; (b) mapa de fase em 3D; (c) gráfico de altura.....	35
Figura 9 – Espectros de FTIR: (a) bandas características observadas em κ -AuNP; (b) bandas características observadas em κ -carragenana (linha azul) em comparação ao espectro de κ -AuNP (linha vermelha).....	39
Figura 10 – Espectros de absorvância (5 replicatas): (a) dicromato de potássio a 100 ppm de concentração; (b) BH-AuNP com a adição de diferentes concentrações de dicromato.....	40
Figura 11 – (a) Espectro de absorvância da amostra de BH-AuNP com dicromato de potássio a 100 ppm de concentração ao longo do tempo (5 replicatas) e imagem da mudança de cor com a adição de dicromato de potássio (100 ppm); (b) espectro de absorvância anterior em um intervalo menor (400 a 700 nm).....	41

Figura 12 – Espectro de absorbância de amostra de κ -AuNP com dicromato de potássio a 100 ppm de concentração (3 replicatas) ao longo do tempo (demais linhas); espectro de absorbância de κ -AuNP (linha verde água).....	43
Figura 13 – Viabilidade celular da linhagem L929 após tratamento com κ -AuNP. Efeito de diferentes concentrações do κ -AuNP (0 a 500 $\mu\text{g mL}^{-1}$) na viabilidade de células L929 após (a) 24 horas e (b) 48 horas de incubação. Os resultados estão expressos em porcentagem (%) em relação ao grupo controle (concentração zero). Os asteriscos indicam diferença estatística significativa em comparação ao grupo controle (* $P < 0,05$, ** $P < 0,01$, *** $P < 0,001$, **** $P < 0,0001$), obtida por análise de variância de uma via (One-way ANOVA) seguida pelo teste de comparações múltiplas de Dunnett.....	45
Figura 14 – Viabilidade celular da linhagem MG-63 após tratamento com κ -AuNP. Efeito de diferentes concentrações do κ -AuNP (0 a 500 $\mu\text{g mL}^{-1}$) na viabilidade de células MG-63 após (a) 24 horas e (b) 48 horas de incubação. Os resultados estão expressos em porcentagem (%) em relação ao grupo controle (concentração zero). Os asteriscos indicam diferença estatística significativa em comparação ao grupo controle (* $P < 0,05$, ** $P < 0,01$, *** $P < 0,001$, **** $P < 0,0001$), obtida por análise de variância de uma via (One-way ANOVA) seguida pelo teste de comparações múltiplas de Dunnett.....	47

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	14
2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA.....	15
2.1 Definições, histórico e evolução dos nanomateriais.....	15
2.2 Fundamentos e propriedades das nanopartículas de ouro (AuNPs).....	16
2.3 Estratégias de síntese: da redução química convencional à biorredução sustentável.....	19
2.4 A κ -carragenana como agente de dupla ação: redução e funcionalização.....	21
2.5 Monitoramento de cromo hexavalente e os desafios da seletividade em nanosensores.....	23
2.6 Versatilidade de AuNPs e métodos de estabilização para aplicações biomédicas.....	24
3 OBJETIVOS.....	26
3.1 Objetivo Geral.....	26
3.2 Objetivos Específicos.....	26
4 MATERIAL E MÉTODOS.....	27
4.1 Síntese de AuNPs com borohidreto de sódio.....	27
4.2 Obtenção de κ -carragenana de <i>Hypnea musciformis</i>	27
4.3 Síntese verde de κ -AuNPs.....	27
4.4 Purificação das AuNPs.....	28
4.5 Técnicas de caracterização.....	28
4.6 Ensaio de Citotoxicidade.....	28
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	30
5.1 Caracterizações ópticas e estruturais das BH-AuNPs.....	30
5.2 Caracterizações ópticas e estruturais das κ -AuNPs.....	33
5.3 Interação da BH-AuNP com contaminantes emergentes.....	39
5.4 Interação da κ -AuNP com contaminantes emergentes.....	42
5.5 Avaliação da capacidade antitumoral das κ -AuNPs em células MG63.....	43
6 CONCLUSÃO.....	48
7 PERSPECTIVAS.....	48
REFERÊNCIAS.....	50

1 INTRODUÇÃO

Nanomateriais são materiais que possuem pelo menos uma das suas dimensões dentro da escala nanométrica (COMISSÃO EUROPEIA, 2022), como nanotubos de carbono, pontos quânticos de carbono, grafeno, nanopartículas de prata, entre outras nanoestruturas que são muito estudadas e trabalhadas em diversas aplicações (SUHAS *et al.*, 2025). Nesse campo, as nanopartículas de ouro (AuNPs) possuem propriedades ópticas de excelência que podem ser utilizadas em aplicações que vão do sensoriamento químico (SHRIVAS; SHANKAR; DEWANGAN, 2015) à biomedicina (SUHAS *et al.*, 2025).

As nanopartículas de ouro têm suas propriedades elucidadas e estudadas na literatura, apresentando uma diversidade de tamanhos, geometrias e rotas de síntese. Essas características possuem grande importância para a determinação das suas propriedades e, por conseguinte, para as aplicações destes nanomateriais, sendo a última que, geralmente, determina as demais. A redução química é uma das rotas sintéticas mais exploradas do ponto de vista histórico até o momento presente, com métodos bem estabelecidos, como o de Turkevich (TURKEVICH; STEVENSON; HILLIER, 1951), baseado na redução de íons de ouro à ouro metálico, além de sínteses que utilizam recursos naturais como agentes redutores (IELO *et al.*, 2021).

A carragenana é um polissacarídeo sulfatado de algas muito utilizado na indústria alimentícia como agente gelificante e espessante (PACHECO-QUITO; RUIZ-CARO; VEIGA, 2020). A κ -carragenana é uma dos tipos desse polímero, diferenciando-a das outras ocorrências pelo número de grupamentos éster-sulfato na estrutura dos dímeros que a constituem (JIANG *et al.*, 2021). O presente trabalho propõe a utilização deste polissacarídeo extraído de *Hypnea musciformis* e semirrefinado para a biorredução do ouro e para estabilização durante e após a síntese das AuNPs. Além da proposição de uma rota sintética verde que explora a dupla ação deste biopolímero de maneira sustentável, ocorre a valorização da macroalga vermelha *Hypnea musciformis* que é abundante na costa da região Nordeste para uma diferente aplicação.

As sínteses de duas nanopartículas, uma verde e outra tradicional com borohidreto de sódio (NaBH_4), foram produzidas a fim de compará-las e observar as mudanças estruturais e ópticas que a κ -carragenana ocasionou, avaliando o seu impacto na química de superfície quando aplicada para sensoriamento químico de cromo hexavalente $[\text{Cr}(\text{VI})]$. Ademais, foi avaliada a capacidade citotóxica das AuNPs produzidas com κ -carragenana frente a duas linhagens de células, uma linhagem saudável e uma linhagem cancerígena, as

quais são respectivamente L929 (fibroblastos de camundongo) e MG-63 (osteossarcoma humano), a fim de investigar possível atividade antitumoral destas AuNPs.

2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1 Definições, histórico e evolução dos nanomateriais

Segundo a Recomendação 2022/C 229/01 da Comissão Europeia, nanomateriais são materiais naturais, fabricados ou incidentais que são compostos por partículas sólidas que podem estar distribuídas de forma isolada, agregada ou aglomerada desde que seja possível identificá-las e que satisfaçam uma ou mais das premissas estabelecidas pela comissão em questão, uma das quais é de que pelo menos 50% das nanopartículas em sua distribuição numérica possuam pelo menos uma dimensão na escala nanométrica, ou seja, em um intervalo de 1 a 100 nm.

A nanotecnologia tem se consolidado como uma das vertentes mais promissoras e robustas da ciência de materiais, apresentando um histórico que remonta a pré-história com as pinturas rupestres no período paleolítico (26.000 a 10.500 a.C.) e vai até a descoberta do grafeno no início dos anos 2000. Nanoestruturas eram obtidas a partir de minérios brutos para a obtenção de pigmentos no paleolítico como o óxido de manganês que conferia a cor preta e era obtido a partir de técnicas de moagem e fricção que, a posteriori, passou a ser chamada de técnica de *top-down* (CHALMIN et al., 2006), sendo um dos primeiros povos a manipularem nanomateriais.

No Egito Antigo, cerca de 2000 a.C., houve a primeira síntese empírica de nanopartículas utilizando galena (contém sulfeto de chumbo, PbS), cal (composto por óxido de cálcio, CaO) e água para a produção de uma tinta de cabelo. Uma pasta era preparada com estes ingredientes e aplicada no cabelo, os íons chumbo (Pb^{2+}) reagiam com o enxofre (S) presente na molécula de queratina formando o crescimento e deposição de nanopartículas pretas, tingindo o cabelo (WALTER et al., 2006). Centenas de anos depois, no Império Romano (século IV d.C.), artesãos produziam vidros coloridos com a adição de poeira de ouro e de prata em vidro de silicato soda-cal fundido, os metais eram moídos até alcançarem dimensões diminutas, ou seja, formando nanopartículas e apresentando cores diferentes, como vermelho no caso do ouro (BARBER; FREESTONE, 1990).

Os vitrais das catedrais na Idade Média (século XIV) possuíam cores obtidas, também, pela formação de nanopartículas de prata (Ag) e de cobre (Cu). A adição de uma lama contendo argila, sais de prata e sais de cobre na superfície do vidro, forneciam os íons

precursores que migraram para o interior do vidro quando este era posto no forno e sofriam o processo de redução ao passo que formavam os primeiros núcleos de metais, ou seja, as nanopartículas (PADOVANI et al., 2004).

O primeiro trabalho seguindo o rigor científico em que houve a formação de nanopartículas, foi a obtenção de ouro coloidal por Michael Faraday, em 1857, descrito no seu trabalho intitulado por “*Experimental relations of gold (and other metals) to light*” publicado na renomada revista *Philosophical Transactions of Royal Society of London*. A síntese foi realizada mediante redução química utilizando cloroaurato de sódio (NaAuCl_4) e dissulfeto de carbono (CS_2) e constatando pela primeira vez na história o porquê da mudança de cor acontecer.

Em 1959, após mais de um século do marco experimental de Faraday, o físico Richard Feynman sugeriu de forma inédita a possibilidade teórica de manipular e controlar a matéria a nível atômico e molecular em sua palestra intitulada “*There’s Plenty of Room at the Bottom*” (FEYNMAN, 1959). Apesar da importância de suas colocações, o impacto real de seu discurso foi percebido anos depois na década de 80 com a invenção do microscópio de tunelamento (STM), em que permitia a movimentação de átomos individuais como previu Feynman (TOUMEY, 2009), exemplificando uma das aplicações de sua previsões feitas a respeito da nanotecnologia. Após esse período, outras nanoestruturas foram descobertas, como os nanotubos de carbono (CNTs) em 1991 (IIJIMA, 1991), os pontos quânticos de carbono (CQDs) em 2004 (XU et al., 2004) e o grafeno em 2004 (NOVOSELOV, 2004), os quais são utilizados em diversas aplicações.

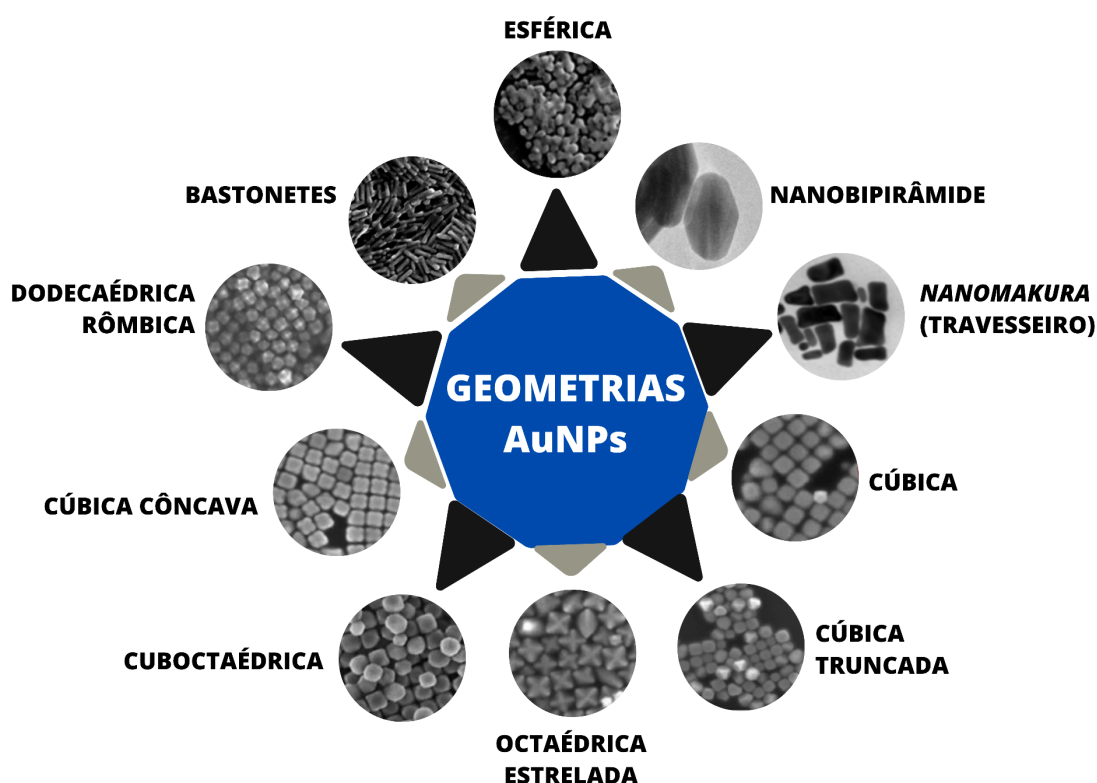
2.2 Fundamentos e propriedades das nanopartículas de ouro (AuNPs)

Nanopartículas de ouro (AuNPs) são estruturas nanométricas metálicas, geralmente, fotossensíveis de tamanhos que variam de acordo com a metodologia de síntese e que, devido às suas dimensões diminutas, apresentam propriedades quânticas únicas, como o confinamento quântico e a ressonância de *plasmons* de superfície (SPR). Esta última é um fenômeno caracterizado pela oscilação coerente dos elétrons de condução presentes na superfície do metal que estabelece ressonância com a radiação eletromagnética incidente, promovendo uma banda de absorção no espectro visível e ultravioleta, o qual ocorre quando nanopartículas metálicas são expostas à luz. Importante ressaltar que o tamanho das AuNPs influencia diretamente nas propriedades supracitadas (DARUICH DE SOUZA; RIBEIRO NOGUEIRA; ROSTELATO, 2019).

A SPR resulta da resposta dos elétrons de condução que estão confinados na estrutura nanométrica de ouro quando interagem com a luz eletromagnética incidente. Isso aliado à alta proporção de átomos de superfície em relação ao volume e demais efeitos quânticos, promove a alteração de características físicas, químicas, térmicas e ópticas em relação a sua forma macroscópica, o que explica mudanças como de cor na luz visível de amarelo para vermelho e alteração do material de condutor para semiconductor. Além disso, a SPR potencializa a conversão de luz em calor, que é muito utilizado em aplicações biomédicas (IELO et al., 2021).

As propriedades ópticas, térmicas e elétricas dependem não só do tamanho das AuNPs mas também de sua geometria, as quais podem assumir diversos formatos como nanobipirâmide (RAZACK; KIM; KANG, 2025), *nanomakura* (DAS et al., 2024), cúbica, cúbica truncada, octaédrica estrelada, cuboctaédrica, cúbica côncava, dodecaédrica rômica (SINGH et al., 2021), esférica e em forma bastonetes (AHMAD, 2024) (Figura 1).

Figura 1 - Geometrias de AuNPs produzidas por diferentes rotas sintéticas.

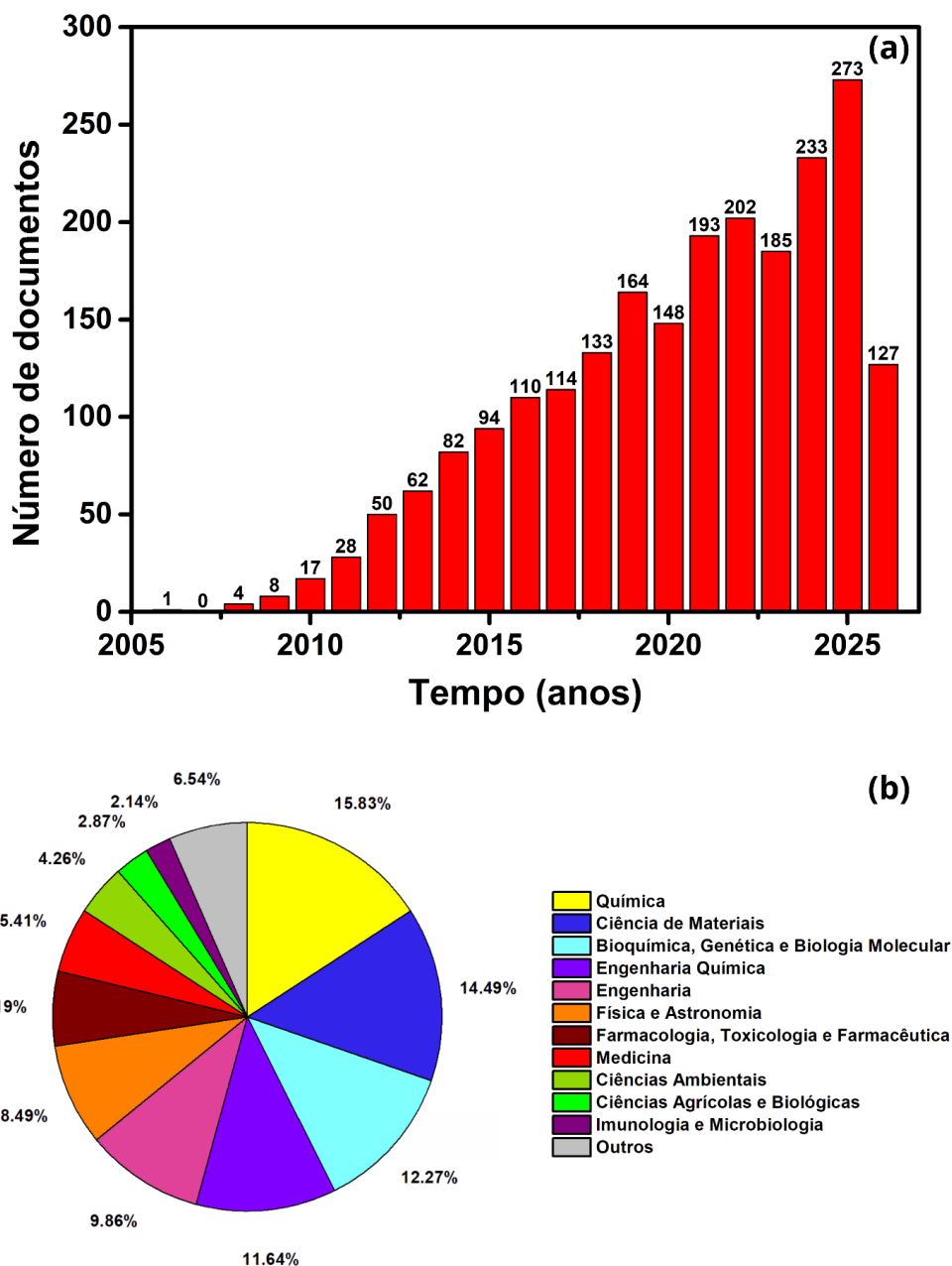


Fonte: Elaborada pelo autor com imagens de artigos de referência (RAZACK; KIM; KANG, 2025; DAS et al., 2024; SINGH et al., 2021; AHMAD, 2024)

A posição da banda de SPR varia de acordo com o tamanho e forma das AuNPs, sendo aquelas com cantos agudos (pontas) e arestas, por exemplo, as octaédricas e octaédricas estreladas, as que possuem um deslocamento de banda de SPR para o vermelho (612 a 623 nm) em comparação às formas mais arredondadas e compactas como o cubo (~ 583 nm), cuboctaedro (~ 562 nm), dodecaedro rômboico (~562 nm) (SINGH et al., 2021). Esse fenômeno acontece devido ao comportamento dos elétrons de superfície das nanoestruturas em resposta a um campo eletromagnético externo, que depende do metal que as formam, do meio em que estão inseridas e da sua geometria, podendo ser comparado a um sistema oscilatório elétrico e mecânico que possui massa e força restauradora. Em nanopartículas com arestas e pontas agudas ocorre uma concentração de cargas nas pontas e um aumento na distância efetiva das cargas, que, por conseguinte, diminui a força restauradora, levando aos deslocamentos para o vermelho (*redshift*), além de concentrar o campo elétrico nessas extremidades, o que aumenta a absorção de energia luminosa e a conversão de calor de forma localizada (efeito fototérmico) em comparação a forma mais arredondadas de AuNPs (MAIER, 2007).

Os estudos que incluem as palavras “*gold nanoparticles*” e “*green synthesis*” depositados na base de dados *Scopus* cresceram em uma tendência linear entre os anos 2006 a 2025, considerando que 2026 ainda está em curso (Figura 2a). Além disso, os trabalhos publicados neste intervalo de tempo com as palavras supracitadas estão bem distribuídos em diferentes áreas temáticas, em que a ciência de materiais está como segundo eixo temático com maior número de publicações dentro deste espaço amostral (Figura 2b). Isso evidencia o crescimento do interesse por essas áreas seja pela importância da nanotecnologia, sobretudo das nanopartículas de ouro, no cenário atual da ciência de materiais dada a relevância e a excelência de suas propriedades seja pela necessidade da proposição de sínteses mais sustentáveis no ponto de vista da preservação do meio ambiente.

Figura 2 - Número de documentos publicados por ano na base de dados *Scopus* no intervalo de 2006 a 2026: (a) contendo as palavras *gold nanoparticles* e *green synthesis*; (b) por área temática.



Fonte: Elaborado pelo autor.

2.3 Estratégias de síntese: da redução química convencional à biorredução sustentável

As metodologias de síntese de AuNPs variam de acordo com a necessidade das aplicações desejadas. O tamanho, a uniformidade da distribuição do tamanho e a composição de superfície são parâmetros fundamentais das AuNPs que são influenciados de forma direta pela natureza da síntese e pelos precursores utilizados. Isso determina a interação destes nanomateriais com a luz e com a matéria, tendo em vista que a SPR é um fenômeno de superfície, a qual é a chave para as aplicações do nanomaterial (IELO et al.,

2021). Método de Turkevich, Método de Brust, crescimento mediado por sementes e maturação digestiva são algumas das metodologias de síntese que envolvem em certo nível a redução química, a qual é promovida muitas vezes pelo NaBH_4 (AMINA; GUO, 2020).

A síntese a quente com o citrato de sódio (Método de Turkevich) e a síntese a temperatura ambiente com borohidreto de sódio são rotas sintéticas por redução química bastante consolidadas na literatura, em que esta última possui um protocolo simples e rápido, promovendo a formação de AuNPs em poucos minutos devido o grande potencial de redução do borohidreto de sódio, como observado em WAN et al. (2021). Diferentemente da síntese com o citrato de sódio, o borohidreto de sódio não realiza uma estabilização permanente e robusta, pois promove a formação de uma fina camada iônica com os íons borato que é desestruturada por pequenas perturbações no sistema, como variação de pH e força iônica (AMINA; GUO, 2020).

As sínteses por redução química são extremamente exploradas na literatura e apresentam uma alta versatilidade, seja pela mudança dos precursores seja pela variação em número e em complexidade dos processos necessários para a formação de AuNPs. Essa rota sintética ocorre, principalmente, em três etapas: nucleação, crescimento e estabilização (DARUICH DE SOUZA; RIBEIRO NOGUEIRA; ROSTELATO, 2019).

O ouro é proveniente, muitas vezes, do ácido cloroáurico que dispõe deste metal na sua forma iônica (Au^{3+}) e, inicialmente, é reduzido a ouro metálico (Au^0) na fase de nucleação mediante um precursor com potencial redutor maior, aumentando a concentração de ouro na solução até uma concentração crítica a partir da qual os átomos de ouro começam a se agrupar formando sítios de nucleação ou pequenas sementes (LAMER; DINEGAR, 1950). O crescimento desses sítios se dá pela deposição de mais Au^0 na superfície dessas nanoestruturas ao passo que mais Au^{3+} é reduzido na suspensão, possibilitando que as AuNPs cheguem em um tamanho a partir do qual as propriedades comecem a se manifestar, podendo serem observadas pela cor vermelho rubi intensa que surge indicando a formação do ouro coloidal (LINK; EL-SAYED, 1999). A interrupção do crescimento é necessária para evitar a agregação e, por conseguinte, a precipitação do material, o que levaria a perda das suas propriedades óticas, que pode ser observada pelo aparecimento de uma coloração cinza acompanhada de um precipitado escuro (DREADEN et al., 2012).

A estabilização é indispensável tanto para a interrupção do crescimento quanto para evitar a agregação pós síntese e este processo pode ser realizado mediante o capeamento ou funcionalização das AuNPs de forma a gerar uma repulsão entre estas

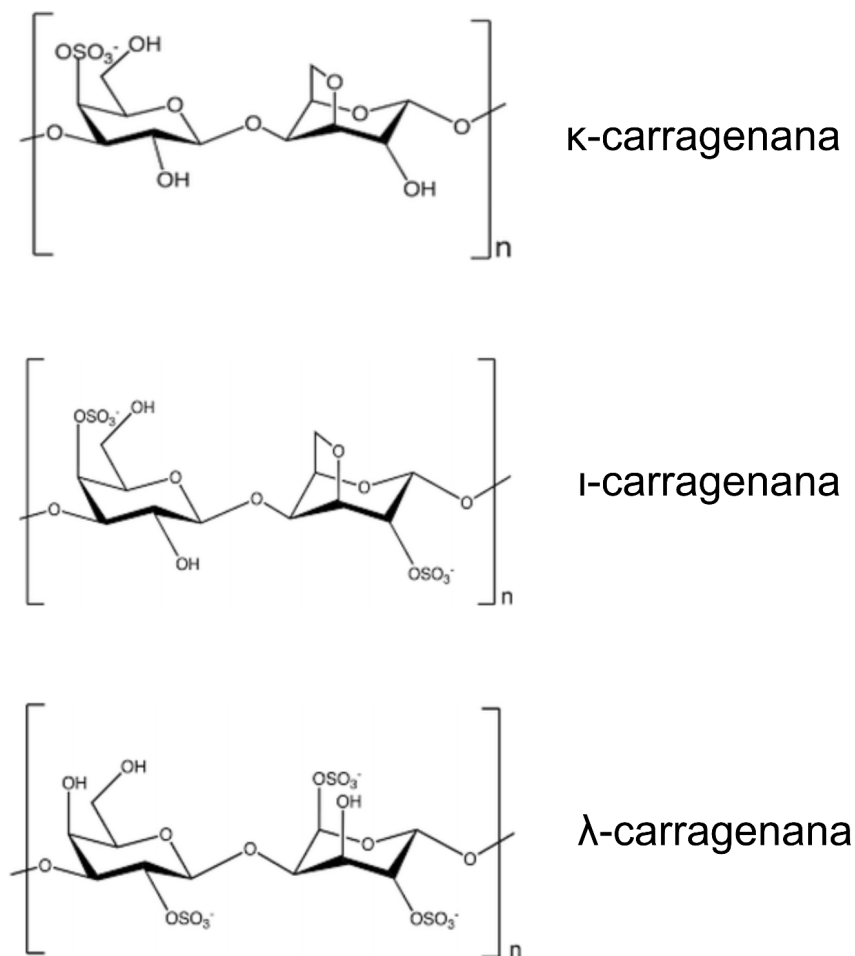
devido aos grupos funcionais depositados na superfície (IELO et al., 2021). A utilização de polímeros para este fim é bastante consolidada nos estudos científicos, por exemplo, o polietilenoglicol 200 (PEG200) (LIMA *et al.*, 2025). Os polímeros servem como agente estabilizante, formando uma espécie de capa na superfície das nanopartículas como relatado em De Almeida et al. (2022) com o uso da κ -carragenana, um biopolímero advindo de algas. Assim, o uso de biopolímeros se mostra interessante sobretudo no ponto de vista da estabilização, mas também no que tange à sustentabilidade do processo de síntese.

O uso de extratos naturais para síntese verde de AuNPs vem crescendo, dada a viabilidade deste tipo de rota sintética para diversas aplicações e a relevância em aspectos ecológicos. A presença de proteínas, flavonoides, alcaloides, fenois, ácidos carboxílicos entre outros compostos em extratos de plantas, por exemplo, promovem a redução do ouro catiônico em ouro metálico dando início a formação das AuNPs. Além de função de redução química, esses compostos podem funcionalizar as AuNPs, o que faz das sínteses verde vantajosas no aspecto de dupla ação dos extratos supracitados (IELO et al., 2021).

2.4 A κ -carragenana como agente de dupla ação: redução e funcionalização.

A carragenana (CG) é um nome generalista de uma família de polissacarídeos aniônicos sulfatados de cadeia linear, de alto peso molecular e solúveis em água extraídos de algas marinhas vermelhas (*Rhodophyceae*) (PACHECO-QUITO; RUIZ-CARO; VEIGA, 2020), por exemplo a *Hypnea musciformis* que é uma alga vermelha abundante na costa da região Nordeste do Brasil, da qual se é possível extrair κ -carragenana (RODRIGUES et al., 2025). Os tipos de carragenana se diferenciam, dentre outros fatores, pela quantidade de sulfato nos dímeros constituintes (Figura 3). Os dímeros galactose 4-sulfato e 3,6-anidrogactose que formam κ -carragenana possuem um grupo éster-sulfato. Os monômeros galactose 4-sulfato e 3,6-anidrogactose 2-sulfato que formam a ι -carragenana possuem dois grupos éster-sulfato. Por fim, os monômeros galactose 2-sulfato e D-galactose 2,6-dissulfato que formam a λ -carragenana, possuem três grupos éster-sulfato. Essas unidades se unem por ligações alternadas α -1,3 e β -1,4-glicosídicas (JIANG et al., 2021).

Figura 3 - Estrutura dos principais tipos de carragenana.



Fonte: Adaptado de Jabeen *et al.*, 2025.

A solubilidade das CGs ocorre em água quente e varia de acordo com temperatura, pH e presença de solutos. A capacidade de gelificação é uma das propriedades mais exploradas destes polissacarídeos sulfatados para aplicações farmacêuticas e comerciais. A κ-carragenana e a ι-carragenana são capazes de formar géis com propriedades diferentes, a primeira forma géis mais rígidos e quebradiços aos passo que a segunda forma géis mais macios, elásticos e adesivos. A gelificação é mediada por íons metálicos, como K⁺ e Ca²⁺ eficientes para κ-carragenana e ι-carragenana respectivamente, ocorrendo com o resfriamento das suspensões de CGs que tem uma parte da sua estrutura linear convertida em dupla ou tripla hélice, as quais se ligam e estabilizam com os respectivos íons formando uma rede gelatinosa tridimensional firme (PACHECO-QUITO; RUIZ-CARO; VEIGA, 2020).

Apesar de serem vastamente exploradas pelas suas capacidades gelificante e espessante, as CGs se mostram promissoras para a produção de AuNPs, tendo em vista a

presença de grupos hidroxila e éster-sulfato que apresentam capacidade de redução, o que é necessário para a redução do ouro. Além disso, as moléculas de CG podem auxiliar na estabilização promovendo o capeamento das AuNPs. A função dupla de redução e funcionalização é relatada na literatura, principalmente, com κ -carragenana comercial ou extraída de algas marinhas, como *Gracilaria canaliculata* (NUNES et al., 2025), pois trata-se de uma rota sintética mais sustentável e viável economicamente se comparadas a sínteses tradicionais que levariam dois ou mais reagentes para garantir a redução e a estabilização do nanomaterial. O uso da κ -carragenana de *Hypnea musciformis* se apresenta, então, como uma alternativa ao uso de agentes redutores convencionais dada a importância local desta macroalga vermelha, o que promove a valorização dos recursos naturais locais e a sustentabilidade do processo de síntese sendo superior dada a dupla ação do polissacarídeo sulfatado.

2.5 Monitoramento de cromo hexavalente e os desafios da seletividade em nanosensores

A SPR é explorada em diversas aplicações, dentre as quais muitas estão relacionadas à medicina, como transporte de agentes terapêuticos, terapias fotodinâmicas, detectores de biomarcadores (DARUICH DE SOUZA; RIBEIRO NOGUEIRA; ROSTELATO, 2019) e nanocarreadores antitumorais (GUO *et al.*, 2022). Essa propriedade das AuNPs pode também ser aproveitada para o desenvolvimento de sensores colorimétricos, explorando a capacidade de alterações na sua superfície, causando mudanças no espectro de absorbância e na cor (QIN, L. *et al.*, 2018).

O sensoriamento químico colorimétrico se mostra relevante dada a necessidade do monitoramento da presença de contaminantes emergentes no meio ambiente. Um exemplo desta urgência é a presença de espécies de Cr(VI) no solo, como o íon dicromato ($\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$), o qual é um oxiânion extremamente tóxico que tem interferência tanto sistêmica, principalmente, no trato respiratório superior, causando problemas como “rinite por cromo” quanto molecular, pois é capaz de interagir com o material genético, causando mutações potencialmente carcinogênicas. Estes contaminantes são encontrados em resíduos de indústrias, por exemplo a de galvanização, produção de couro, mineração de carvão e de outros minerais (RODRIGUES, 2025).

As AuNPs, então, se apresentam como potencial alternativa para o sensoriamento químico colorimétrico de íons $\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$, tendo em vista que as metodologias tradicionais dependem de uma estrutura laboratorial, de equipamentos custosos e de profissionais

qualificados, que incluem espectrometria de absorção atômica (AAS) e cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) associado à espectrometria de massa por plasma acoplado indutivamente (ICP-MS). Mesmo a técnica de reação com 1,5-difenilcarbazida (DPC), que é mais simples que as demais supracitadas, ainda apresenta entraves, como a toxicidade do reagente utilizado (RODRIGUES, 2025).

Apesar de apresentar bons pré-requisitos para a aplicação desejada, a fotossensibilidade, a instabilidade e a dependência do meio dielétrico para a integridade e propriedades ópticas das AuNPs, tornam-nas pouco versáteis no que diz respeito à forma de aplicação deste sensor (SAHA et al., 2012). O uso, por exemplo, de AuNPs sintetizadas com borohidreto de sódio possui alguns gargalos como a especificidade de interação dado que, na etapa de estabilização, uma fina e frágil camada é formada na superfície das nanopartículas, o que as tornam sensíveis a perturbações na força iônica (AMINA; GUO, 2020) da matriz que estão inseridas, as quais podem ser causadas por concentrações de diversos íons.

Estes empecilhos se voltam para uma das etapas determinantes da produção destes nanomateriais, a estabilização, pois esta determina o fim do crescimento e a estabilidade como apresentado anteriormente. As interações de superfície é que vão determinar o sensoriamento químico, o que reforça a importância da composição de superfície para a aplicação de AuNPs. O uso de biopolímeros, mais especificamente a κ -carragenana extraída de *Hypnea musciformis*, mostra-se como uma alternativa forte para a resolução dos diversos entraves colocados nesta e nas demais subseções.

2.6 Versatilidade de AuNPs e métodos de estabilização para aplicações biomédicas

As diversas geometrias de AuNPs possuem características diferentes que as fazem promissoras em diversas aplicações biomédicas. Alguns exemplos são as nanopartículas esféricas que são utilizadas para a administração de medicamentos, as AuNPs em forma de estrela que são utilizadas para fototerapia termo-termológica, as AuNPs em forma de haste que são utilizadas para gerar imagem biomédica e em forma de núcleo-casca que são utilizadas para tratamento de câncer (GUL et al., 2025).

A utilização de biomateriais para funcionalização das AuNPs é uma excelente estratégia para a estabilização destas que podem ser do tipo eletrostática, estérica ou eletroestérica (MOORE et al., 2015). A estabilização eletrostática diz respeito à utilização de moléculas carregadas, como o revestimento de tris(sódio-m-sulfonatofenil)fosfina (TPPTS), na superfície das nanopartículas capaz de causar repulsão entre suas próprias

moléculas. Todavia, a presença única desse tipo de estabilização torna as AuNPs vulneráveis à alterações na força iônica do meio, o que faz dessa estratégia pouco eficiente em meio biológico, tendo em vista a presença de proteínas e íons essenciais para o funcionamento das células (HALL; HALL, 2021; MOORE et al., 2015).

A estabilização estérica é a estratégia mais utilizada devido ao impedimento espacial causado pela barreira neutra, por exemplo o PEG, na superfície das nanopartículas, contornando os problemas supracitados. Além disso, existe a estabilização eletroestérica que combina as duas estratégias, propondo uma maior estabilização. No entanto, existem casos específicos em que essa estabilização não é suficiente sozinha sem outras estratégias (MOORE et al., 2015). Assim, explorar a capacidade dos biomateriais na estabilização dessas nanopartículas é de suma importância para a proposição de sínteses verdes, as quais incentivam a valorização dos recursos naturais de preferência locais e a sustentabilidade do processo de síntese.

As carragenanas em geral são utilizadas em diversos trabalhos como indutoras de inflamação, como em NINGARAJU et al. (2021), JABER et al. (2021) e BIDIAN et al. (2022). A λ -carragenana comercial é a mais utilizada para esse fim por dois motivos, os quais são a reologia, pois não gelifica, facilitando e possibilitando a injeção do material no tecido a ser avaliado e o grau de sulfatação, pois em comparação a forma *kappa*, a λ -carragenana mostra capacidade superior de ativar receptores imunológicos e desencadear resposta inflamatória (CAMPO et al., 2009). O mecanismo de inflamação não se dá pela toxicidade química, pois a carragenana é praticamente inerte neste quesito, no entanto, apesar de não causar lesão nas células, ela se liga à receptores que disparam uma resposta imunológica, apresentando sintomas de inflamação, por exemplo o edema, mas não há destruição celular (BHATTACHARYYA; DUDEJA; TOBACMAN, 2008).

A utilização desse biomaterial para a síntese de nanopartículas é pouco utilizada, mas aparece em alguns trabalhos que utilizam carragenanas comerciais (CHEN et al., 2022; WAN et al., 2021). Trabalhos que fazem a extração de κ -carragenana para a síntese de AuNPs são ainda mais raros como o uso de *Chondrus crispus* em MILENA ÁLVAREZ-VIÑAS et al. (2022) e o uso de *Mastocarpus stellatus* em GONZÁLEZ-BALLESTEROS et al. (2021), o que revela a necessidade e uma grande oportunidade para explorar as carragenanas de forma diferente na biomedicina que não só a indução de inflamação, pois são tão relevantes quanto outras biomoléculas, como proteínas, flavonóides e ácidos nucleicos que já são utilizados para esse fim (DYKMAN; KHLEBTSOV, 2012).

A proposição de uma rota de síntese verde para as AuNPs aliada a aplicações em sensoriamento químico e biomedicina vai ao encontro do que é previsto pelos Objetivos de Desenvolvimento Sustentável (ODS) para a Agenda 2030 da Organização das Nações Unidas (ONU). Os objetivos 3, 6 e 15 intitulados, respectivamente, “saúde e bem-estar”, “água potável e saneamento” e “vida terrestre” estimam necessidades que são atendidas pela proposição deste trabalho.

O primeiro objetivo citado tem como uma de suas metas a redução da mortalidade precoce por doenças não transmissíveis por meio da prevenção e do tratamento, o que engloba o tratamento de câncer. O objetivo 6 prevê a melhoria da qualidade da água mediante diminuição da poluição, eliminação de despejos e a redução da liberação de produtos químicos perigosos, relacionando-se com o trabalho no que diz respeito à proposição de um sensor analítico para cromo hexavalente. O ODS 15 apresenta como uma de suas metas promover a conservação, a recuperação, o uso sustentável de ecossistemas terrestres e de água doce interiores, o que é compreendido pelo trabalho pelo mesmo motivo que o ODS 6. Dessa forma, o trabalho propõe contribuir para o cumprimento de ODS importantes para a preservação do meio ambiente e dos seres que o habitam.

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo Geral

Propor uma síntese verde utilizando κ -carragenana semirrefinada extraída de *Hypnea musciformis* como agente redutor e estabilizante por meio do método de redução química e comparar à síntese tradicional realizada mediante redutor químico forte, o borohidreto de sódio.

3.2 Objetivos Específicos

- 1) Realizar as caracterizações ópticas e estruturais das AuNPs;
- 2) Avaliar a interação das AuNPs com contaminantes emergentes, como Cr(VI);
- 3) Otimizar a síntese das AuNPs produzidas por rota sintética verde;
- 4) Aumentar a estabilidade das AuNPs mediante o uso de κ -carragenana;
- 5) Aumentar a monodispersão das AuNPs;
- 6) Testar a capacidade antitumoral da κ -AuNP.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Síntese de AuNPs com borohidreto de sódio

A síntese foi realizada utilizando 2 mL de borohidreto de sódio a 0,1% de concentração e 50 mL de ácido cloroáurico a $250 \mu\text{mol L}^{-1}$, mediante o método de redução por borohidreto de sódio adaptado de Aryal *et al.* (2006). O preparo de ambas soluções foi feito com água ultrapura, a fim de não ter presença do íon cloreto (Cl^-). O procedimento foi realizado em temperatura ambiente, na ausência de luz e sob agitação magnética com a adição de NaBH_4 sob gotejamento lento na solução de AuCl_4^- . Após a adição de NaBH_4 , esperou-se 3 min para que houvesse a formação das nanopartículas de ouro. Dessa forma, a agitação foi interrompida e a suspensão de nanopartículas foi formada, apresentando cor vermelha intensa, a qual indica a formação do nanomaterial.

4.2 Obtenção de κ -carragenana de *Hypnea musciformis*

Os processos de extração e semirrefino da κ -carragenana de *Hypnea musciformis* foram realizados seguindo o protocolo de extração adaptado de HOLANDA *et al.*, (2025). A κ -carragenana já extraída e semirrefinada utilizada no presente trabalho foi adquirida no Laboratório de Biotecnologia de Algas e Bioprocessos do Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular (DBBM) da Universidade Federal do Ceará (UFC). Para a obtenção do polissacarídeo em pó, foi necessária a moagem em moinho elétrico de grãos de café e a peneiragem em peneiras de 800 mesh.

4.3 Síntese verde de κ -AuNPs

A síntese foi realizada utilizando κ -carragenana de *H. musciformis* a uma concentração variável, as quais são 0,5%, 1,0% e 1,5% (m/v), além de ácido cloroáurico a $250 \mu\text{mol L}^{-1}$, mediante o método de redução química adaptado de WAN *et al.* (2021). O preparo de ambas soluções foi feito com água ultrapura, a fim de não ter presença do íon cloreto (Cl^-). O procedimento foi realizado em duas etapas, em que a primeira consistiu na solubilização do agente redutor/estabilizador a 60°C por 2h na ausência de luz e sob agitação magnética. A segunda etapa foi a adição da solução de AuCl_4^- a solução de κ -carragenana sob agitação magnética a 80°C por 30 minutos. Dessa forma, a agitação foi interrompida e as suspensões de nanopartículas foram formadas, apresentando cor vermelha intensa, a qual é característica do nanomaterial em questão. A síntese com 0,5% de κ -carragenana foi escolhida para prosseguir o trabalho, pois obteve maior banda de absorbância e, por conseguinte, maior

concentração de κ -AuNPs em relação às demais (Figura 6). Para a remoção de κ -carragenana e oligossacarídeos redutores que não reagiram, foi realizado um ciclo de centrifugação de 5 min a 3000 rpm seguindo o protocolo adaptado de DE ALMEIDA, D. A. et al.(2022).

4.4 Purificação das AuNPs

A remoção do excesso de κ -carragenana e oligossacarídeos redutores da síntese de κ -AuNPs foi realizada mediante um ciclo de centrifugação de 5 min a 3000 rpm seguindo o protocolo adaptado de DE ALMEIDA, D. A. et al.(2022).

A purificação das AuNPs geralmente é feita por centrifugação, no entanto as BH-AuNPs estavam perdendo sua propriedade óptica quando feita a centrifugação, o que sugere degradação ou agregação das AuNPs. Dessa maneira, a diálise foi utilizada como método de purificação para essa, a qual foi realizada em dois ciclos de 12 h utilizando uma membrana de 1 kDa de medida de poro (ZHAO; FRIEDRICH, 2015). A medição da banda plasmônica foi obtida mediante o espectro de UV-Vis para verificar a integridade do material, atestando a presença da banda característica do nanomaterial.

4.5 Técnicas de caracterização

A análise de microscopia de força atômica (AFM) foi realizada no microscópio Asphalt Research, modelo MFP-3D. A amostra foi diluída em água ultrapura e gotejada em uma placa de silício previamente limpa seguindo protocolo semelhante à ZHANG *et al.* (2019). Uma alíquota da amostra foi liofilizada para a análise de espectroscopia vibracional na região do infravermelho com transformada de Fourier (FTIR) utilizando o equipamento Shimadzu modelo IRTracer-100 com faixa de medição de 4000 a 400 cm^{-1} , e a amostra foi analisada em pastilha de KBr. As medições de absorbância foram feitas em um espectrofotômetro de UV-Vis Agilent modelo Cary 60 Uv-Vis com leituras em varredura de 200 a 800 nm.

As técnicas de potencial *zeta* (ZP) e de espalhamento dinâmico de luz (DLS) foram realizadas no equipamento de DLS da Malvern modelo Zetasizer Nano ZS em que o laser tem comprimento de onda de 632,8 nm. O preparo das amostras inclui a diluição em água ultrapura até que a amostra fique transparente (BHATTACHARJEE, 2016).

4.6 Ensaio de Citotoxicidade

A suspensão de κ -AuNP foi previamente filtrada em filtro millipore 0,22 μm e sua concentração foi determinada por técnica de gravimetria por evaporação de solvente (SKOOG

et al.,2023,Cap.10). Para isso, uma lamínula foi pesada para se obter a massa desta limpa e vazia (m_{inicial}), logo em seguida um volume (V) de 1 mL da suspensão de AuNP foi colocada na lamínula e sua massa foi determinada 24 horas depois da sua completa secagem (m_{final}). O Experimento foi feito em 2 replicatas, logo foi utilizada a Equação 1 para o cálculo da concentração e, posteriormente, a média foi calculada, resultando em 5,25 mg mL⁻¹.

$$C = \frac{m_{\text{final}} - m_{\text{inicial}}}{V} \quad (1)$$

O teste de citotoxicidade foi realizado de acordo com as ISOs 10993-5 e 10993-12, utilizando o método MTT (M5655), (3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difenil tetrazolio). Para essa análise foram utilizadas duas linhagens, a L929 (fibroblastos de murino) e MG-63 (osteossarcoma humano) originadas do Banco de Células do Rio de Janeiro (BCRJ). A linhagem L929 foi escolhida por ser um excelente modelo padrão para células saudáveis (ISO, 2009), ao passo que a linhagem MG63 proporciona um excelente crescimento, semelhança morfológica à fibroblastos (BCRJ, 2026), além de que o osteossarcoma é uma neoplasia óssea com altamente metastática e possui prognóstico resistente às terapias convencionais (KUMAR et al., 2023). Uma diluição seriada foi realizada a fim de ser observada a concentração viável de trabalho, com concentração inicial de 500 µg mL⁻¹.

Para o início do teste, foram preparadas 4 placas de 96 poços com as células seguindo a lógica da Figura 4, em que foram adicionados 100 µL da suspensão celular em cada poço para a obtenção de uma proporção de cerca de 6.000 células/poço no caso de L929 (2 placas) e de 8.000 células/poço no caso de MG-63 (2 placas). Em seguida, as placas foram incubadas por 24 h a 37 °C, 95% de umidade e 5% de CO₂. Após isso, o meio foi removido, a solução de κ-AuNPs (1 mg mL⁻¹) foi diluída na proporção de 1:1 em meio de cultura DMEM (cód. D5648, Sigma-Aldrich, USA) de alta glicose (concentração de 4.500 mg/L) suplementado (1% de antibiótico penicilina-estreptomicina e 10% de soro fetal bovino) previamente preparado e foi adicionada nos poços. Para o controle negativo foram preparados poços contendo células expostas somente a meio DMEM suplementado. Por fim, as placas foram incubadas nas mesmas condições por 24 h e 48 h.

Figura 4 - Configuração das placas de L929 e MG-63 (24 e 48 h) em que as colunas e as linhas que têm C1 a C11 são, respectivamente, as replicatas e as concentrações de κ -AuNP do tratamento em que as células foram submetidas. As colunas e as linhas que têm B1 a B11 são, respectivamente, as replicatas e as concentrações de κ -AuNP na ausência de células, seguindo a mesma lógica e concentração inicial ($C1 = B1 = 500 \mu\text{g mL}^{-1}$) do tratamento. A última coluna representa o controle negativo, o qual tem apenas células sem tratamento.

DILUIÇÃO SERIADA (C1 = 500 µg mL ⁻¹)												
TRATAMENTO	C1	C2	C3	C4	C5	C6	C7	C8	C9	C10	C11	Ct(-)
	C1	C2	C3	C4	C5	C6	C7	C8	C9	C10	C11	Ct(-)
	C1	C2	C3	C4	C5	C6	C7	C8	C9	C10	C11	Ct(-)
	C1	C2	C3	C4	C5	C6	C7	C8	C9	C10	C11	Ct(-)
BRANCO	B1	B2	B3	B4	B5	B6	B7	B8	B9	B10	B11	Ct(-)
	B1	B2	B3	B4	B5	B6	B7	B8	B9	B10	B11	Ct(-)
	B1	B2	B3	B4	B5	B6	B7	B8	B9	B10	B11	Ct(-)
	B1	B2	B3	B4	B5	B6	B7	B8	B9	B10	B11	Ct(-)
CONTROLE NEGATIVO												

Fonte: Elaborado pelo autor.

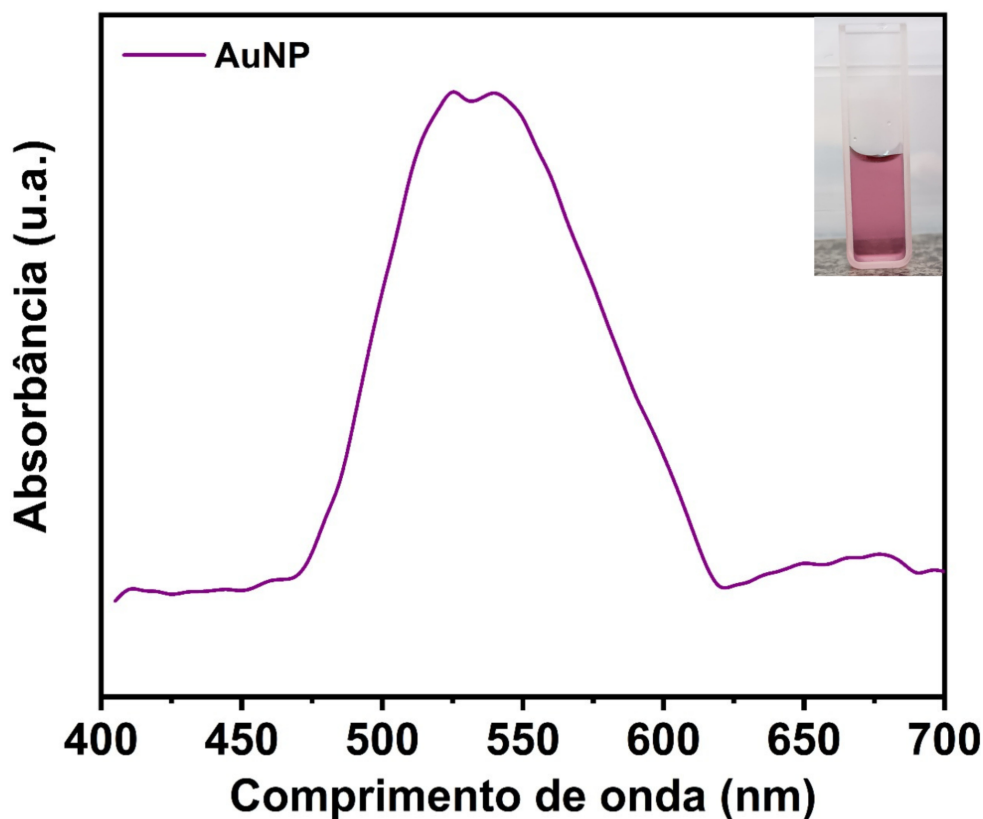
O líquido presente nas placas foi descartado após a incubação e os poços foram lavados com PBS 1x, ao fim desse procedimento foram adicionados 100 μL de meio contendo MTT a 10% e as placas foram incubadas por mais 4 h. Em seguida, removeu-se o meio com cuidado para que os cristais de formazan formados não fossem puxados e então estes foram dissolvidos adicionando 100 μL de dimetilsulfóxido (DMSO) por poço. A leitura foi realizada em um leitor de placas ELISA no comprimento de onda de 570 nm.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Caracterizações ópticas e estruturais das BH-AuNPs

As nanopartículas sintetizadas apresentaram banda de SPR característica entre 520 nm e 540 nm (Figura 5), o que reitera a formação de nanoesferas metálicas de ouro em estado coloidal (HAISS *et al.*, 2007; LINK; EL-SAYED, 1999).

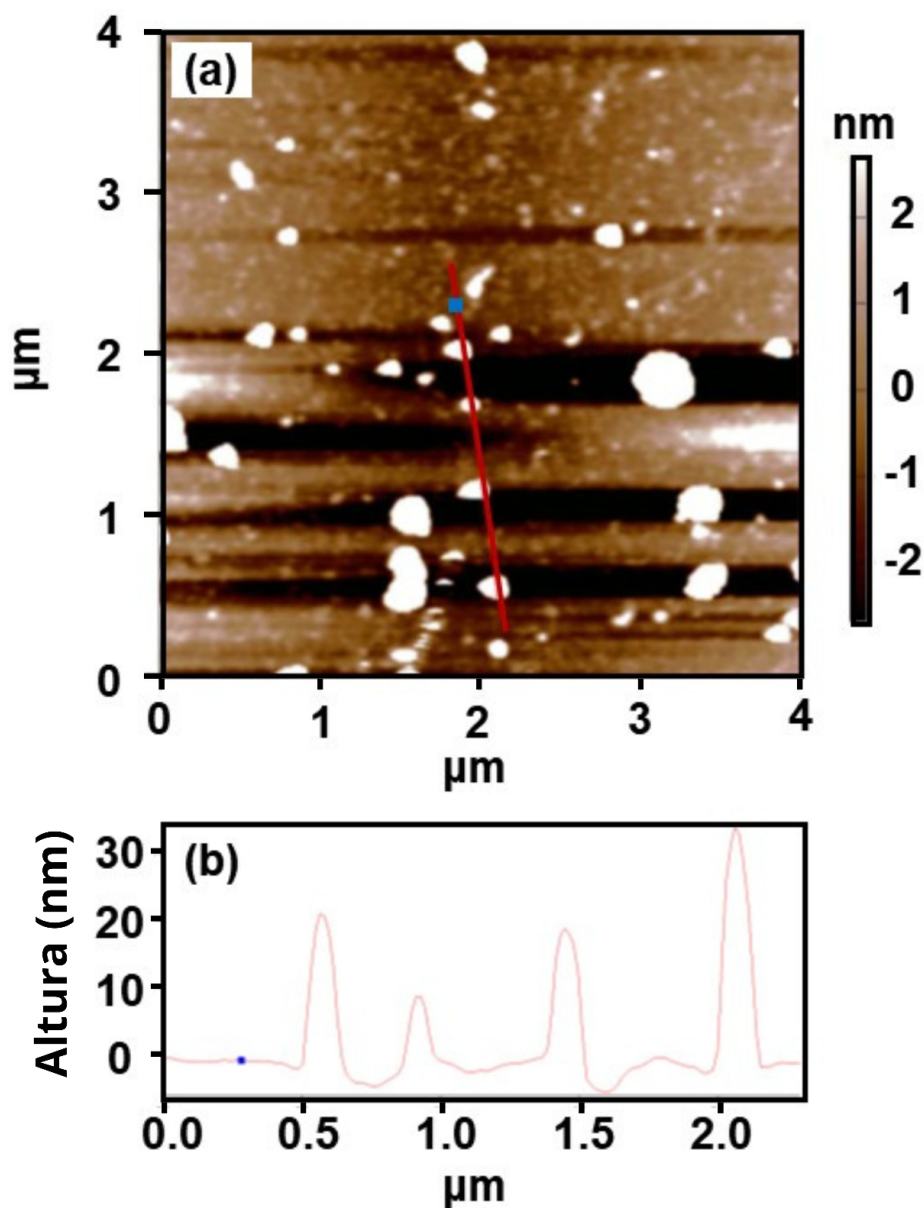
Figura 5 - Espectro de absorbância da suspensão de BH-AuNPs e imagem da amostra sob luz visível.



Fonte: Elaborado pelo autor.

A morfologia e o tamanho da partícula foi determinado por microscopia de força atômica (AFM). Conforme apresentado na Figura 6a, a morfologia das AuNPs se aproxima de um formato esférico conforme esperado para este material (HAISS *et al.*, 2007; LINK; EL-SAYED, 1999). O perfil de altura obtido mediante AFM, atestou a presença de partículas com diversos tamanhos variando de 10 nm até valores um pouco maiores que 30 nm (Figura 6b). Essa distribuição mais difusa comprova que o uso borohidreto de sódio na síntese promove a redução, a nucleação e o crescimento de forma rápida e menos controlada se comparada à metodologia mais utilizada, que é a redução por citrato de sódio, além da ausência de uma estabilização mais robusta.

Figura 6 - Caracterização morfológica das BH-AuNPs: (a) imagem de AFM com perfil de altura topográfica; (b) gráfico de altura.



Fonte: Elaborado pelo autor.

O potencial *zeta* (ZP) obtido da amostra de BH-AuNP foi de $-20,8 \pm 1,8$ mV, valor característico de sistemas estabilizados por íons borato e cloretos remanescentes do precursor $\text{HAuCl}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ (GRABAR *et al.*, 1995). Este valor se encontra distante em módulo de 30 mV, enquadrando-se entre relativamente estáveis e moderadamente estáveis (BHATTACHARJEE, 2016), o que torna as BH-AuNPs mais suscetíveis a mudanças de pH, de força iônica e de temperatura (AMINA; GUO, 2020). O tamanho hidrodinâmico obtido por espalhamento dinâmico de luz (DLS) foi de $49,2 \pm 1,4$ nm com alta reprodutibilidade, atestando um valor maior se comparado ao obtido na varredura feita no AFM, devido à natureza da técnica, a

qual considera o movimento browniano das partículas no solvente e contabiliza a camada de solvatação para a determinação do diâmetro médio (BHATTACHARJEE, 2016).

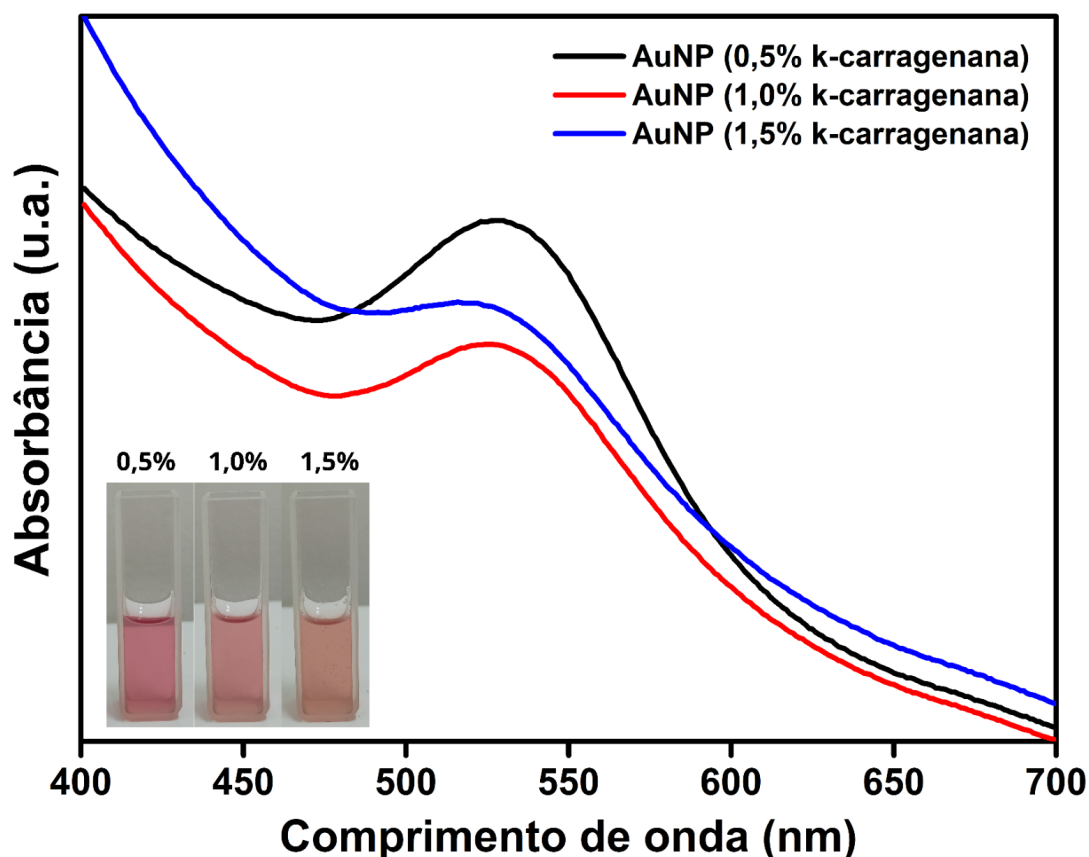
5.2 Caracterizações ópticas e estruturais das κ -AuNPs

As κ -AuNPs também apresentaram banda de SPR característica entre 520 nm e 530 nm, mais especificamente em 527 nm, como apresentado na Figura 7, indicando a formação de nanoesferas metálicas de ouro em estado coloidal (HAISS *et al.*, 2007). Estima-se que o núcleo metálico real seja inferior a 30 nm devido à presença de uma camada orgânica ao redor deste núcleo, o que altera o índice de refração nas proximidades, promovendo o deslocamento da banda plasmônica para maiores comprimentos de onda (*red shift*) que se comporta como núcleos maiores em meio puramente aquoso (HAISS *et al.*, 2007; LINK; EL-SAYED, 1999).

O percentual de κ -carragenana influenciou na concentração final das κ -AuNPs de forma não linear como pode ser observado na Figura 7, todavia ambas as κ -AuNPs produzidas com maior percentual de κ -carragenana (1,0% e 1,5%) apresentaram sinal analítico menos intenso se comparadas a de menor percentual do polissacarídeo (0,5%) (LIZ-MARZÁN, 2006), o que sugere que a viscosidade causada pela presença de κ -carragenana influencia de forma resistiva o processo de difusão, o qual é fundamental para cinética da reação. Esse comportamento pode ser descrito pela equação de Stokes-Einstein (Equação 2), em que relaciona coeficiente de difusão (D), temperatura (T), constante de Boltzmann (k_B), viscosidade dinâmica do meio (η) e raio hidrodinâmico da espécie difundente (r), sendo o coeficiente de difusão inversamente proporcional à viscosidade dinâmica do meio (ATKINS; DE PAULA; KEELER, 2026, cap. 16). Assim, a reação deixa de ser limitada pela cinética química e passa a ser controlada por difusão nas sínteses com percentuais maiores de κ -carragenana (1% e 1,5%), visto que o emaranhamento dos polissacarídeos dificulta o encontro efetivo dos íons precursores com a própria κ -carragenana (ATKINS; DE PAULA; KEELER, 2026, cap. 18).

$$D = \frac{k_B T}{6\pi\eta r} \quad (2)$$

Figura 7 - Espectros de absorvância das suspensões de κ -AuNPs produzidas com, respectivamente, 0,5% (linha preta), 1,0% (linha vermelha) e 1,5% (linha azul) de κ -carragenana; imagens das amostras sob luz visível (canto inferior esquerdo).

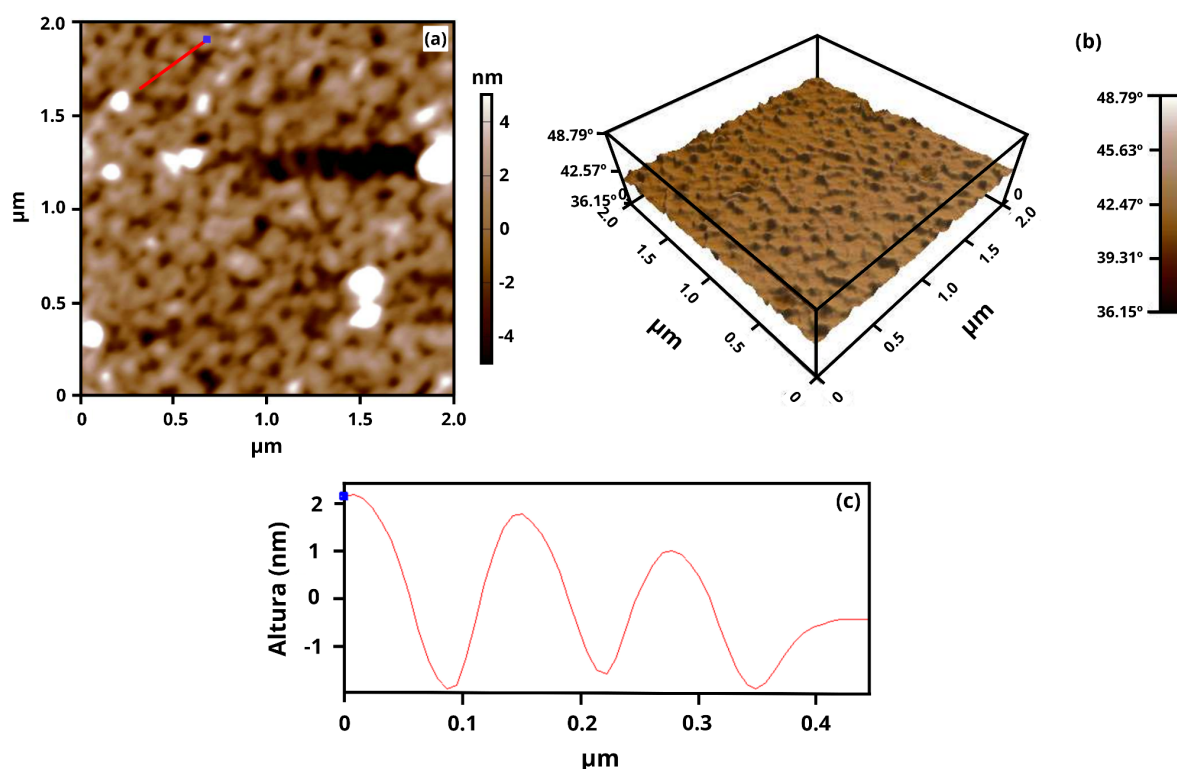


Fonte: Elaborado pelo autor.

Assim como as BH-AuNPs, a morfologia e o tamanho da partícula foram determinados por microscopia de força atômica (AFM). A morfologia das κ -AuNPs se aproxima de um formato esférico (Figura 8a), que em análise conjunta ao perfil de altura (Figura 8c), infere-se um formato próximo ao esferóide oblato, o que é esperado dada a composição da κ -AuNP. O alargamento lateral pode ser explicado em partes por ser considerado um artefato instrumental de convolução dado a interação antecipada das laterais da ponta do microscópio com partículas muito pequenas em raio (2 a 10 nm), como observa-se na Figura 8c (EATON; WEST, 2010, cap. 4). Todavia, esse alargamento da base acontece, principalmente, pela espalhamento da κ -carragenana e seus oligossacarídeos que compõem a capa da κ -AuNP na placa de silício motivada pela pressão que surge das forças capilares e de adesão à medida que a água evapora no preparo da amostra, o que é conhecido por *flattening effect* ou efeito de achatamento (MOURDIKOU DIS; PALLARES; THANH, 2018).

O tamanho obtido mediante AFM, atestou que a maior população está em torno de 2 nm de altura e apresentou algumas outras populações em menores quantidades com tamanhos muito próximos a 1,5 nm (Figura 8c). No entanto, essa divergência no tamanho em relação ao que foi estimado pela espectroscopia de UV-vis resulta da disposição da amostra que, no processo de secagem, sugeriu a formação de um filme na placa de silício, mascarando e suavizando o tamanho real das κ -AuNPs de forma semelhante ao mascaramento topográfico que ocorre no trabalho de Dolińska *et al.* (2020) em que houve a incorporação de nanopartículas metálicas em matrizes de pectina. Assim, fica claro que os dados de AFM são demasiadamente mais assertivos e relevantes na determinação da topografia se comparado a determinação de tamanho.

Figura 8 - Caracterização morfológica das κ -AuNPs: (a) mapa de topologia 2D das nanopartículas; (b) mapa de fase em 3D; (c) gráfico de altura.



Fonte: Elaborado pelo autor.

A varredura feita e observada no gráfico de perfil de altura mostra uma distribuição de tamanho mais homogênea, porém isso não deve ser atribuído de forma direta a uma uniformidade real no tamanho desses nanocompósitos, pois tanto o efeito de achatamento quanto a formação do tapete de carragenana acabam por suavizar o tamanho das nanopartículas em questão, o que interfere diretamente na morfologia podendo suavizar

diferenças de tamanho. Assim, a análise de dados de microscopia eletrônica de transmissão (TEM) é necessária, pois mediante esta técnica a distribuição de tamanho do núcleo de ouro é elucidada, permitindo avaliar a dispersividade dos tamanhos obtidos na síntese verde. Nos trabalhos de WAN *et al.* (2021) e de CHEN *et al.* (2018), os valores de tamanho das AuNPs produzidas com κ -carragenana comercial foram $13,5 \pm 5,1$ nm e 35 ± 8 nm, os quais são considerados valores com uma distribuição de tamanho estreita, isso reforça a hipótese de que a dupla ação da κ -carragenana promove uma síntese mais controlada, o que leva a formação de nanopartículas mais monodispersas, como observado nos trabalhos supracitados.

A Figura 8b ilustra um mapa de fase 3D que é formado a partir da dissipação de energia decorrente da interação interatômica entre a ponta do microscópio e a superfície da amostra. Os valores dados em graus ($^{\circ}$) correspondem aos ângulos de fase, os quais representam o atraso da oscilação do *cantilever* causado pelas propriedades mecânicas locais. Ângulos menores representam menor atraso (regiões mais escuras), indicando interação com superfícies mais rígidas, em contrapartida, ângulos maiores representam maior atraso (regiões mais claras), indicando interação com superfícies que apresentam propriedades viscoelásticas (GARCÍA, 2010, cap. 5, 6). Este mapa das κ -AuNPs apresenta regiões escuras em forma de pontos em relevo que estão circundadas por uma fase contínua mais clara, em que a separação entre as regiões mais claras que são atribuídas à presença de κ -carragenana e seus oligossacarídeos livres residuais que eventualmente restaram após a etapa de purificação e as regiões mais escuras que denotam a presença de pontos mais rígidos ocorre de forma suave, sugere que o núcleo de ouro está recoberto pela κ -carragenana e seus oligossacarídeos. Além disso, os pontos escuros não se encontram sobrepostos, dada a ausência de manchas maiores (placas) escuras que denotariam colapso e agregação das AuNPs, o que indica o efeito estabilizador e protetor da κ -carragenana contra processos de agregação (WAN *et al.*, 2021).

A análise do ZP resultou em um valor de $-28,1 \pm 0,2$ mV, o que a torna moderadamente estável e, como o valor está bem próximo em módulo de 30 mV, as κ -AuNPs ficaram próximas da alta estabilidade. Este resultado corrobora com a tese da estabilização estérica feita pela κ -carragenana na superfície da nanopartícula, além das cargas dos grupamentos sulfato que possivelmente colaboram na repulsão entre as nanopartículas.

O tamanho hidrodinâmico resultou em um valor abruptamente maior que o obtido por AFM com o valor médio de $244,8 \pm 10,1$ nm. Existem algumas explicações para este acontecimento, as quais são a natureza da molécula funcionalizante, a natureza da técnica e suas limitações. A κ -carragenana é um polissacarídeo sulfatado que possui alto peso molecular e uma estrutura rica em grupos hidrofílicos como hidroxilas e grupamentos

éster-sulfato (JABEEN et al., 2025; JIANG et al., 2021). Estas características corroboram para um maior tamanho tanto pela extensão da molécula de κ -carragenana quanto pela grande camada de solvatação, tornando as κ -AuNPs maiores e mais lentas, o que participa do cálculo do diâmetro hidrodinâmico de forma a aumentar o valor deste (BHATTACHARJEE, 2016).

O DLS é uma técnica óptica que avalia os planos de espalhamento da luz após a incidência de um feixe de luz (laser) na suspensão a ser avaliada, como já mencionado, esta técnica leva em consideração o movimento browniano das partículas no dispersante, moléculas com κ -carragenana na superfície contribuem para superestimar o tamanho das nanopartículas. Apesar do diâmetro hidrodinâmico estar fora da escala nanométrica, a banda plasmônica em torno de 530 nm atesta que a κ -AuNP é esférica e é menor que 30 nm de tamanho, o que aparenta uma inconsistência nos dados obtidos, porém esta divergência é completamente esperada dado que a espectroscopia UV-Vis mede a banda plasmônica do núcleo de ouro, o qual é bem menor pelos dados obtidos do que o esperado para a nanopartícula como um todo. Assim, os resultados se complementam, reforçando a presença de um núcleo esférico com uma camada polimérica adsorvida na superfície.

O espectro de FTIR da κ -AuNP (Figura 9a) revelou alguns deslocamentos de banda em relação ao espectro da κ -carragenana (Figura 9b), os quais foram o estiramento O–H que passou de 3429 cm^{-1} para 3423 cm^{-1} e os grupamentos sulfato dos resíduos de galactose que passaram de 1265 cm^{-1} para 1257 cm^{-1} . As hidroxilas e sulfatos doaram suas densidades eletrônicas para o núcleo de ouro, a força de ligação interna destes enfraqueceram, gerando vibrações de menor energia e, por conseguinte, menor número de onda (NAKAMOTO, 2009). Esses deslocamentos sugerem a participação química direta dos grupos hidroxila e sulfato, respectivamente, na redução e estabilização em um processo de quimisorção na superfície do núcleo de ouro. Isso proporcionou a formação das AuNPs e sua estabilização dada a repulsão ocasionada pelos grupamentos sulfato ancorados na superfície.

Em 1658 cm^{-1} na Figura 9b, observa-se a vibração de flexão das moléculas de água da camada de hidratação da κ -carragenana, pois esta é higroscópica, mantendo esta camada mesmo após a sua secagem. O espectro de FTIR da κ -AuNP mostra um deslocamento da banda para 1649 cm^{-1} , o que se deve a uma sobreposição das vibrações de flexão H–O–H supracitadas e possíveis estiramentos assimétricos de grupamentos carboxilatos que aparecem geralmente próximos a 1600 cm^{-1} (PAVIA, 2015), o que levou a banda média para o valor observado no espectro da Figura 9a. Estes últimos estão ancorados formando uma ligação coordenada na superfície do núcleo de ouro e surgiram tanto da oxidação dos aldeídos de extremidades redutoras dos oligossacarídeos resultantes da hidrólise ácida no momento da

síntese quanto da formação de carboxilatos a partir da oxidação das hidroxilas (GASILOVA et al., 2019).

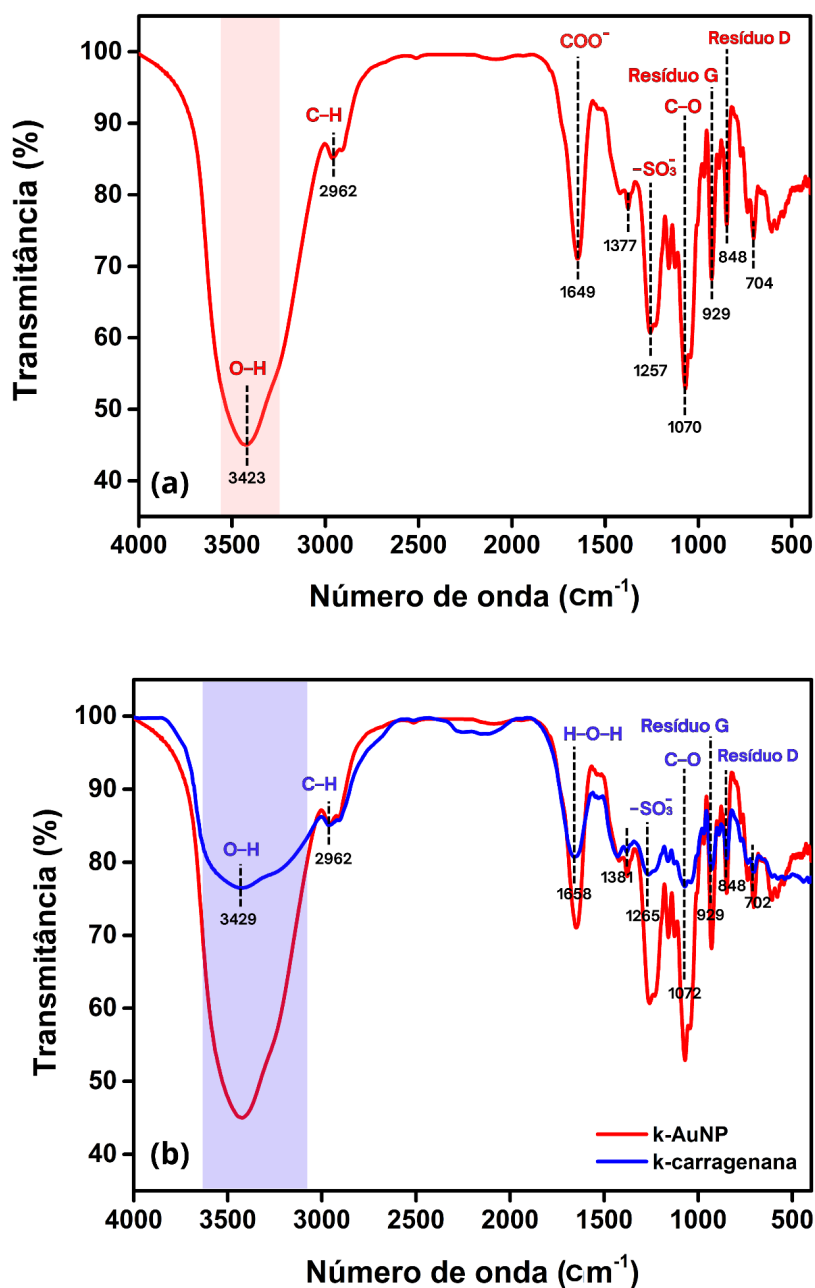
A comparação entre os espectros de FTIR (Figura 9b) revela um fenômeno ainda mais proeminente que os deslocamentos de bandas e sobreposição citados anteriormente, o qual é a intensificação de quase todas as bandas no espectro da κ -AuNP que ocorre quando há a adsorção de moléculas em superfícies metálicas, apresentando propriedades ópticas diferentes da sua forma livre. Esse fenômeno se compara a um outro mais conhecido chamado espalhamento Raman intensificado por superfície (SERS), no qual há a amplificação do espalhamento Raman em milhões de vezes se comparado às moléculas soltas. Neste caso, ocorre um efeito semelhante ao SERS denominado absorção infravermelha intensificada por superfície (SEIRA) na região do infravermelho médio, em que moléculas ancoradas em superfícies metálicas têm absorção aumentada de 10 a 1000 vezes se comparada a absorção destas moléculas livres (OSAWA, 2001).

A luz infravermelha incidente sobre as nanopartículas de ouro interage com os elétrons de condução do núcleo metálico, o que promove uma oscilação em conjunto destes elétrons caracterizado pela SPR que provoca a concentração e amplificação do campo elétrico local de forma drástica na superfície das AuNPs. A intensidade da banda do FTIR é diretamente proporcional ao quadrado do campo elétrico ao qual a ligação é submetida, como na superfície da AuNP o campo elétrico é mais intenso e as ligações da κ -carragenana estão suscetíveis a isso, ocorre uma maior absorção de fótons durante a transição vibracional (OSAWA, 2001), o que resulta em bandas significativamente mais intensas no espectro (linha vermelha da Figura 9b).

A distância entre as moléculas de κ -carragenana e a superfície de ouro, além da orientação do momento de dipolo dinâmico das ligações das moléculas em questão são de extrema importância para validar a presença do efeito SEIRA. O campo elétrico intensificado decresce exponencialmente com a distância entre a superfície do metal e molécula de tal forma que distâncias superiores que 4 a 5 nm tornam a influência desse campo desprezível no sinal analítico. Dado que o campo elétrico resultante é predominantemente perpendicular à superfície da AuNP, apenas as vibrações moleculares que possuem mudanças no momento de dipolo dinâmico orientada de forma também perpendicular à superfície de ouro são intensificadas significativamente (OSAWA, 2001). Assim, o curto alcance deste campo elétrico localizado que caracteriza o SEIRA e a observação deste efeito nos dados experimentais reitera que a κ -carragenana está quimicamente adsorvida e coordenada na

superfície do núcleo de ouro, estruturando-se como uma camada de capeamento responsável pela estabilização estérica e eletrostática das nanopartículas.

Figura 9 - Espectros de FTIR: (a) bandas características observadas em κ -AuNP; (b) bandas características observadas em κ -carragenana (linha azul) em comparação ao espectro de κ -AuNP (linha vermelha).



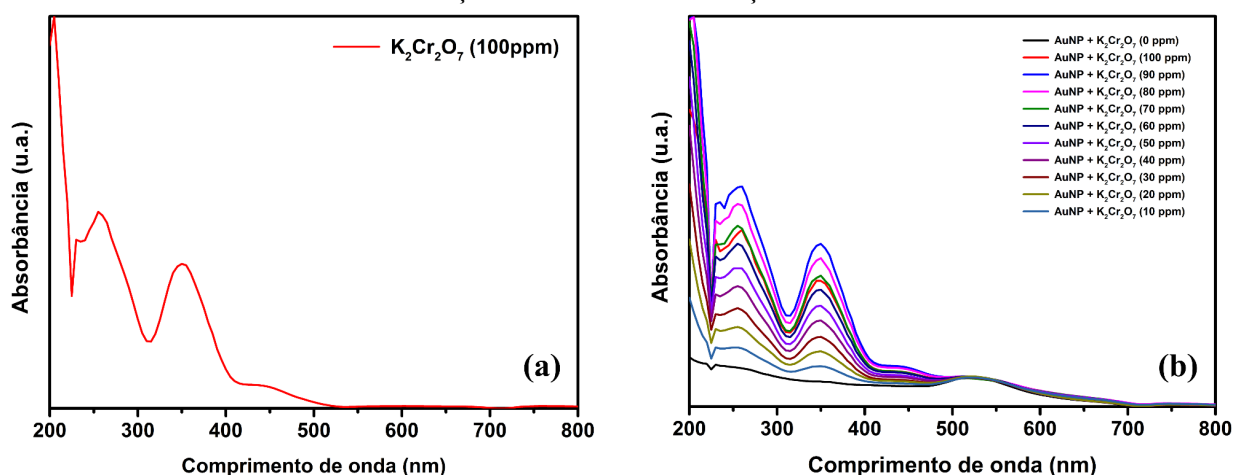
Fonte: Elaborado pelo autor.

5.3 Interação da BH-AuNP com contaminantes emergentes

Após uma investigação da morfologia e estrutura das BH-AuNPs, os experimentos de sensoriamento de Cr(VI) foram iniciados com a avaliação da interação entre as

nanopartículas em questão e os íons $\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$, a qual foi realizada de forma qualitativa pelos espectros de absorção de amostras contendo diferentes concentrações do analito, variando de 10 em 10 ppm, em um intervalo de 0 a 100 ppm, conforme representado na Figura 10b, além de que a adição do analito na amostra de AuNPs foi feita imediatamente antes da leitura (tempo zero). O resultado das medidas de absorção atestou uma sobreposição entre os espectros de absorbância do dicromato de potássio (Figura 10a) com o da AuNP (Figura 5), isto se deve, provavelmente, ao tempo que não foi suficiente para alterações na banda plasmônica.

Figura 10 - Espectros de absorbância (5 replicatas): **(a)** dicromato de potássio a 100 ppm de concentração; **(b)** BH-AuNP com a adição de diferentes concentrações de dicromato.

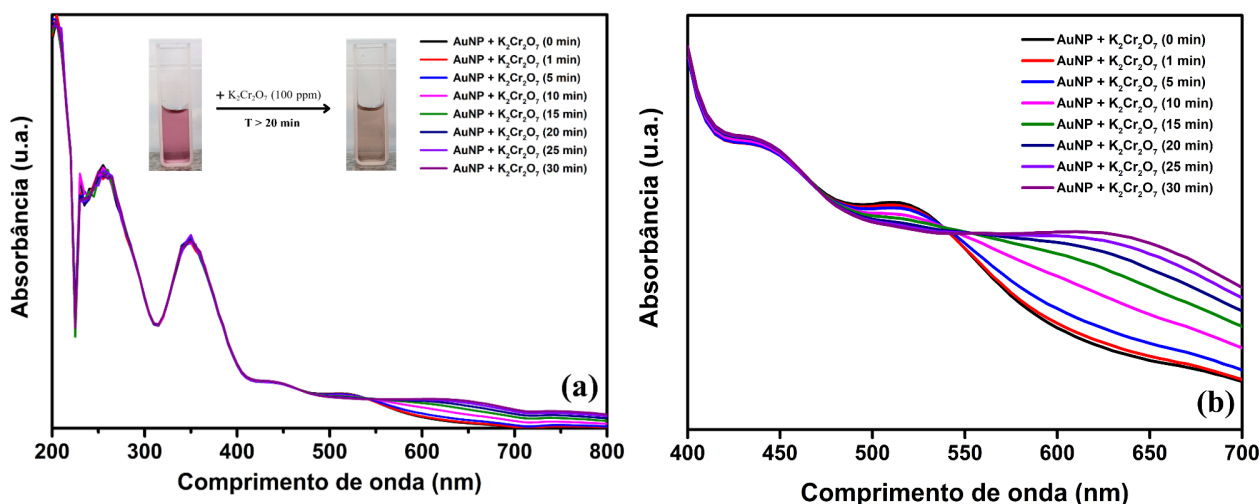


Fonte: Elaborado pelo autor.

O estudo cinético foi feito para analisar se o tempo influencia no espectro de absorbância (Figura 11). Para isso, medições de absorbância foram feitas em 5 replicatas de uma mesma amostra contendo BH-AuNP e $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ (100 ppm) evoluindo com o tempo da seguinte forma: 0, 1, 5, 10, 15, 20, 25 e 30 minutos. O monitoramento cinético da interação entre as BH-AuNPs e o dicromato de potássio (100 ppm) revelou a evolução da instabilidade coloidal ao decorrer do tempo. O surgimento de uma nova banda de absorção em 625 nm, observada a partir dos 20 minutos de reação (Figura 11b), é atribuído ao acoplamento de *plasmons* de superfície resultante da agregação das partículas devido à compressão da dupla camada elétrica. Esse fenômeno óptico confirma que, após o período de indução e adsorção iônica, a força iônica do meio promoveu a aproximação das nanoesferas até o ponto em que entraram em contato, resultando em agregados polidispersos (ISRAELACHVILI, 2011; GHOSH; PAL, 2007), o que pode ser observado pela mudança de cor de vermelho rubi para cinza conforme o tempo passou (Figura 11a). O estudo cinético é importante para definição

do tempo de resposta da sonda, neste caso, a capacidade da BH-AuNP detectar a presença de dicromato é baixa, pois a resposta à adição de $K_2Cr_2O_7$ ocorreu pelo aumento da força iônica e não pela especificidade da interação entre a nanopartícula em questão e os íons $Cr_2O_7^{2-}$.

Figura 11 - (a) Espectro de absorvância da amostra de BH-AuNP com dicromato de potássio a 100 ppm de concentração ao longo do tempo (5 replicatas) e imagem da mudança de cor com a adição de dicromato de potássio (100 ppm); (b) espectro de absorvância anterior em um intervalo menor (400 a 700 nm).



Fonte: Elaborado pelo autor.

O valor de ZP se deslocou para $-26,31 \pm 10,2$ mV com a adição de dicromato de potássio, evidenciando uma possível adsorção específica de ânions $Cr_2O_7^{2-}$ na superfície metálica, e favorecendo a afinidade química necessária para o desenvolvimento de um sensor (BHATTACHARJEE, 2016; LIU *et al.*, 2012). No entanto, essa carga negativa não garantiu a estabilidade da BH-AuNPs em suspensão, dado que a transição para a coloração cinza e a posterior precipitação indicam que o sistema operou sob compressão severa da dupla camada elétrica, o que pode ser observado estatisticamente pelo aumento no desvio padrão. De acordo com a teoria Derjaguin-Landau-Verwey-Overbeek (DLVO), o aumento da força iônica, contribui indiretamente para que as forças atrativas de Van der Waals promovam o acoplamento de *plásmons* e a agregação irreversível (ISRAELACHVILI, 2011; GHOSH; PAL, 2007). Dessa maneira, com a análise em conjunto do teste cinético e da mudança dos valores de ZP, conclui-se que a suspensão de BH-AuNP responde facilmente a perturbações na força iônica do sistema com a formação de agregados e precipitação das AuNPs, o que sugere que embora haja uma interação entre BH-AuNP e os ânions $Cr_2O_7^{2-}$, o colapso geral do sistema prevalece à especificidade de interação.

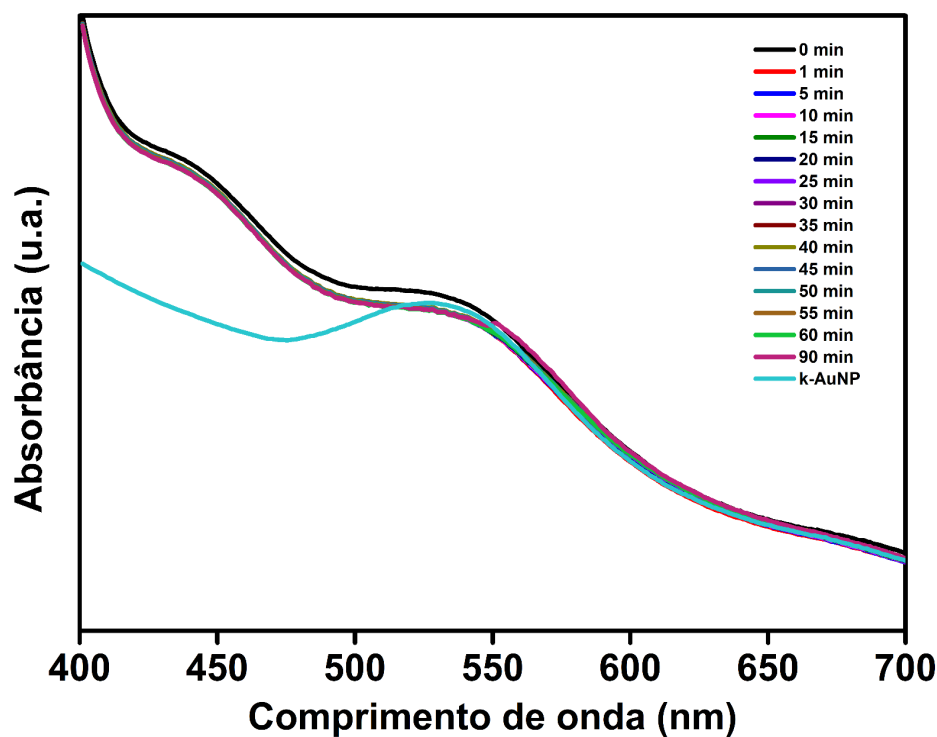
Os resultados de DLS confirmam a instabilidade coloidal sugerida pelas análises de ZP. Após a introdução de 100 ppm de dicromato, observou-se um grande aumento em relação à suspensão somente de BH-AuNPs, que foi de $49,2 \pm 1,4$ nm para $79,6 \pm 6,7$ nm, acompanhado de uma maior dispersão nos valores das replicatas, o que pode ser observado pelo aumento no desvio padrão. Esse incremento no tamanho hidrodinâmico é indicativo de agregação incipiente, em que a redução da barreira repulsiva, conforme a teoria DLVO, permite a formação desses agregados. Este comportamento explica a transição óptica para a coloração cinza, uma vez que o crescimento dos aglomerados promove o acoplamento dos *plasmons* de superfície, o que pode levar a precipitação do sistema (HAISS et al., 2007; GHOSH; PAL, 2007).

5.4 Interação da κ -AuNP com contaminantes emergentes

O estudo cinético foi feito, inicialmente, para avaliar a evolução da interação de $K_2Cr_2O_7$ com κ -AuNP (Figura 12). As medições de absorbância foram feitas em 3 replicatas de uma mesma amostra contendo κ -AuNP e $K_2Cr_2O_7$ (100 ppm) ao longo do tempo. Foi observado que mesmo após 90 minutos, nem a cor da κ -AuNP mudou, muito menos a sua banda plasmônica foi reduzida. Isso ocorre devido aos grupamentos éster-sulfato presentes na superfície das κ -AuNPs, que conferem à ela uma densidade de cargas negativas, gerando repulsão eletrostática contra os íons $Cr_2O_7^{2-}$ quando estes se aproximam (NURAKHMETOVA et al., 2020).

Neste caso, o aumento da força iônica causado pela adição de dicromato de potássio na suspensão de κ -AuNPs para o teste cinético não desfaz a barreira eletrostática, pois as moléculas de κ -carragenana e seus oligossacarídeos estão ligados fortemente ao núcleo de ouro por ligações coordenadas, como visto anteriormente nos resultados de FTIR, o que oferece uma barreira termodinâmica que impede que a compressão da dupla camada elétrica desfça estas ligações. Isso significa que a estabilidade do sistema passa a ser controlada não mais pela energia cinética de colisão dada pela DLVO e sim pela termodinâmica, mais especificamente, por um mínimo termodinâmico global, pois a energia necessária para causar a dessorção destes componentes de capeamento é muito alta, mantendo a integridade das κ -AuNP e impedindo a interação desta com os íons $Cr_2O_7^{2-}$ (NAPPER 1983, cap. 6-7; SPERLING; PARAK, 2010). Além disso, há um impedimento espacial desta interação, pois a capa volumosa ao redor do núcleo metálico, que pode ser observada pelo tamanho obtido na análise de DLS, forma uma barreira física, impedindo a passagem dos íons $Cr_2O_7^{2-}$ até o núcleo de ouro (TIWARI; NARAYAN, 2025).

Figura 12 - Espectro de absorbância de amostra de κ -AuNP com dicromato de potássio a 100 ppm de concentração (3 replicatas) ao longo do tempo (demais linhas); espectro de absorbância de κ -AuNP (linha verde água).



Fonte: Elaborado pelo autor.

5.5 Avaliação da capacidade antitumoral das κ -AuNPs em células MG63

A estabilidade das κ -AuNPs mediante alteração de força iônica observada no teste cinético com o dicromato de potássio possibilitou a avaliação do potencial de citotoxicidade do nanocompósito, pois é de suma importância que não ocorram interações prejudiciais com os íons presentes tanto no meio intracelular quanto no meio extracelular em diferentes concentrações, tais como sódio (Na^+), potássio (K^+), cálcio (Ca^{2+}), fosfato (PO_4^{3-}), cloreto (Cl^-), magnésio (Mg^{2+}) e bicarbonato (HCO_3^-) (HALL; HALL, 2021, p. 48). Além de que a presença de componentes biológicos, como enzimas, também podem interferir na química de superfície das AuNPs e, por consequência, na sua estabilidade nesses ambientes (MOORE et al., 2015), sendo interessante que os nanocompósitos em questão não interajam de forma inespecífica com os componentes celulares e extracelulares.

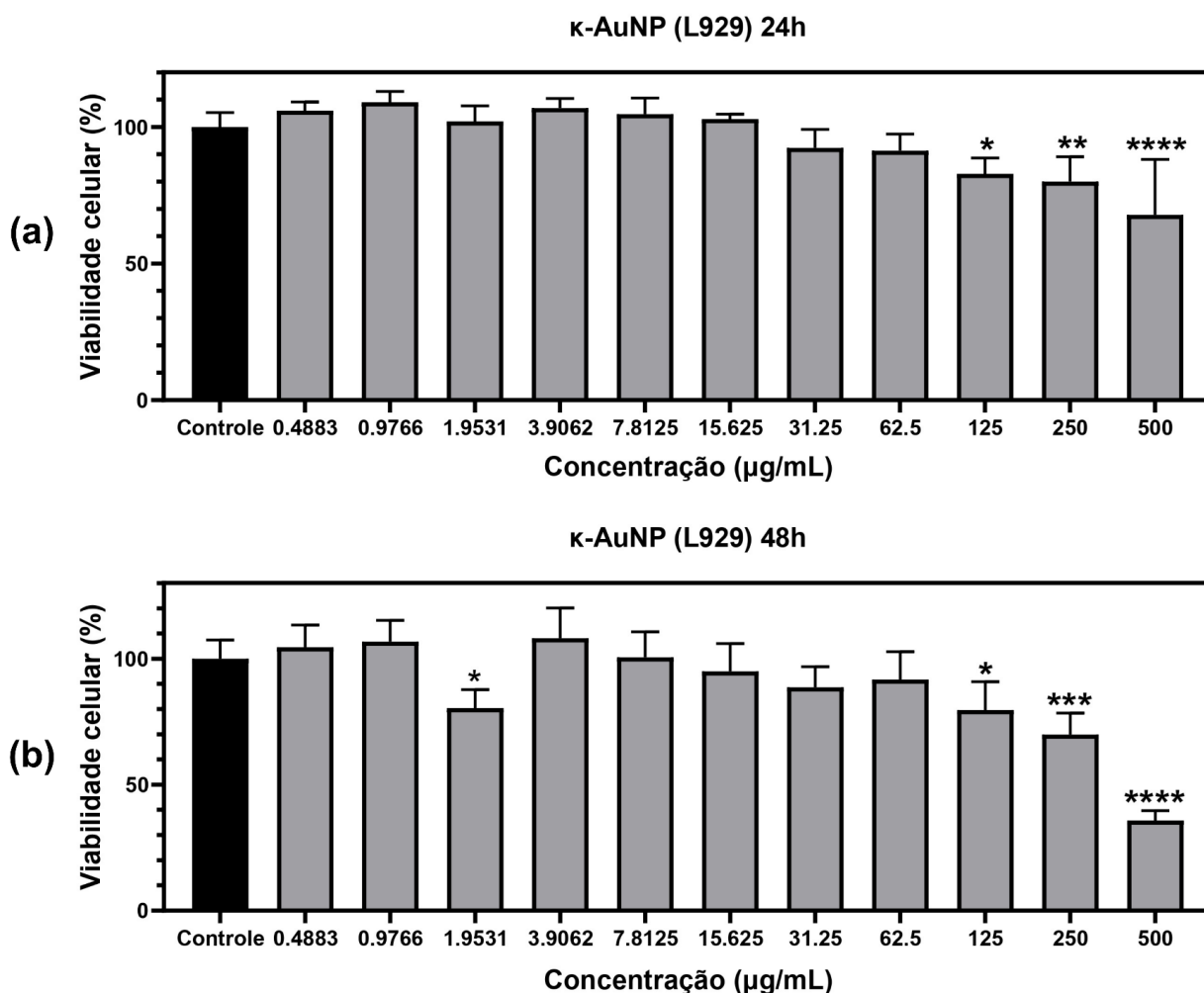
Em testes de citotoxicidade como o ensaio de MTT, a substância a ser testada precisa se manter estável no meio de cultura em que as células crescem e a força iônica é um dos fatores que poderiam alterar as AuNPs, além de pH, temperatura, com possibilidade de resposta negativa a essas mudanças, como agregação e, por conseguinte, perda das

propriedades ópticas como já discutido anteriormente. Dessa maneira, foi realizado o ensaio de MTT para avaliação preliminar da capacidade citotóxica do nanocompósito. Para isso inicialmente, foi medido o pH da suspensão de AuNPs já filtrada na concentração a ser trabalhada ($1 \mu\text{g mL}^{-1}$) utilizando uma fita indicadora de pH que resultou em um valor próximo a 5 e, em seguida, o teste de diluição da suspensão de κ -AuNPs no meio de cultura DMEM foi realizado com a adição em uma proporção de 1:1 de volumes. Não houve nenhuma alteração de cor, que indicaria mudança de pH do meio e não houve sinal de agregação ou precipitação nem de imediato nem após 24h, homogeneizando-se bem no meio, o que permitiu prosseguir como ensaio de MTT.

As κ -AuNP não conseguem cruzar a membrana por difusão passiva devido não só ao seu tamanho mas também pela presença de cargas negativas na sua superfície (grupos éster-sulfato). Estas, por sua vez, entram nas células mediante transporte ativo como previsto por DYKMAN *et al.* (2013) em que nanopartículas funcionalizadas com biopolímeros sofrem endocitose mediada por receptores e aquelas que possuem superfícies carregadas negativamente (polianiônicas) têm afinidade natural por receptores da família *Scavenger*. Além de que neste mesmo trabalho ocorre uma via paralela à via anterior que baseia na ancoragem de algumas proteínas presentes no soro fetal bovino (FBS) na superfície das AuNPs revestidas com polímeros hidrofílicos como a transferrina capaz de fazer esse complexo AuNP-transferrina ser reconhecido pelo receptor de transferrina e sofrer endocitose. Pode-se extrapolar que as κ -AuNP adentram às células mediante estas vias dado a semelhança de algumas propriedades com os biopolímeros utilizados no trabalho de DYKMAN *et al.* (2013).

As vias supracitadas explicam a entrada da κ -AuNP em ambas as linhagens de células, L929 e MG-63, pois ambas foram submetidas ao mesmo meio (DMEM) com a mesma concentração de suplementação com FBS, porém a resposta obtida no ensaio de MTT apresenta uma diferença no comportamento da viabilidade celular com a progressão da concentração de κ -AuNP. A elaboração dos gráficos e as análises estatísticas foram feitas utilizando o *software* GraphPad Prism versão 8.0 para o Windows. A linhagem MG-63 (Figura 14b) no tempo de 48 h apresentou um crescimento da viabilidade celular muito significativo em duas concentrações $7,8125$ e $32,25 \mu\text{g mL}^{-1}$, além de sofrer uma redução na viabilidade celular muito significativa a partir de $250 \mu\text{g mL}^{-1}$. A linhagem L929 (Figura 13) apresenta um comportamento dose-resposta mais consistente em ambos os tempos de análise com a redução significativa da viabilidade ocorrendo a partir de $125 \mu\text{g mL}^{-1}$.

Figura 13 - Viabilidade celular da linhagem L929 após tratamento com κ -AuNP. Efeito de diferentes concentrações do κ -AuNP (0 a 500 $\mu\text{g mL}^{-1}$) na viabilidade de células L929 após (a) 24 horas e (b) 48 horas de incubação. Os resultados estão expressos em porcentagem (%) em relação ao grupo controle (concentração zero). Os asteriscos indicam diferença estatística significativa em comparação ao grupo controle (* $P < 0,05$, ** $P < 0,01$, *** $P < 0,001$, **** $P < 0,0001$), obtida por análise de variância de uma via (One-way ANOVA) seguida pelo teste de comparações múltiplas de Dunnett.



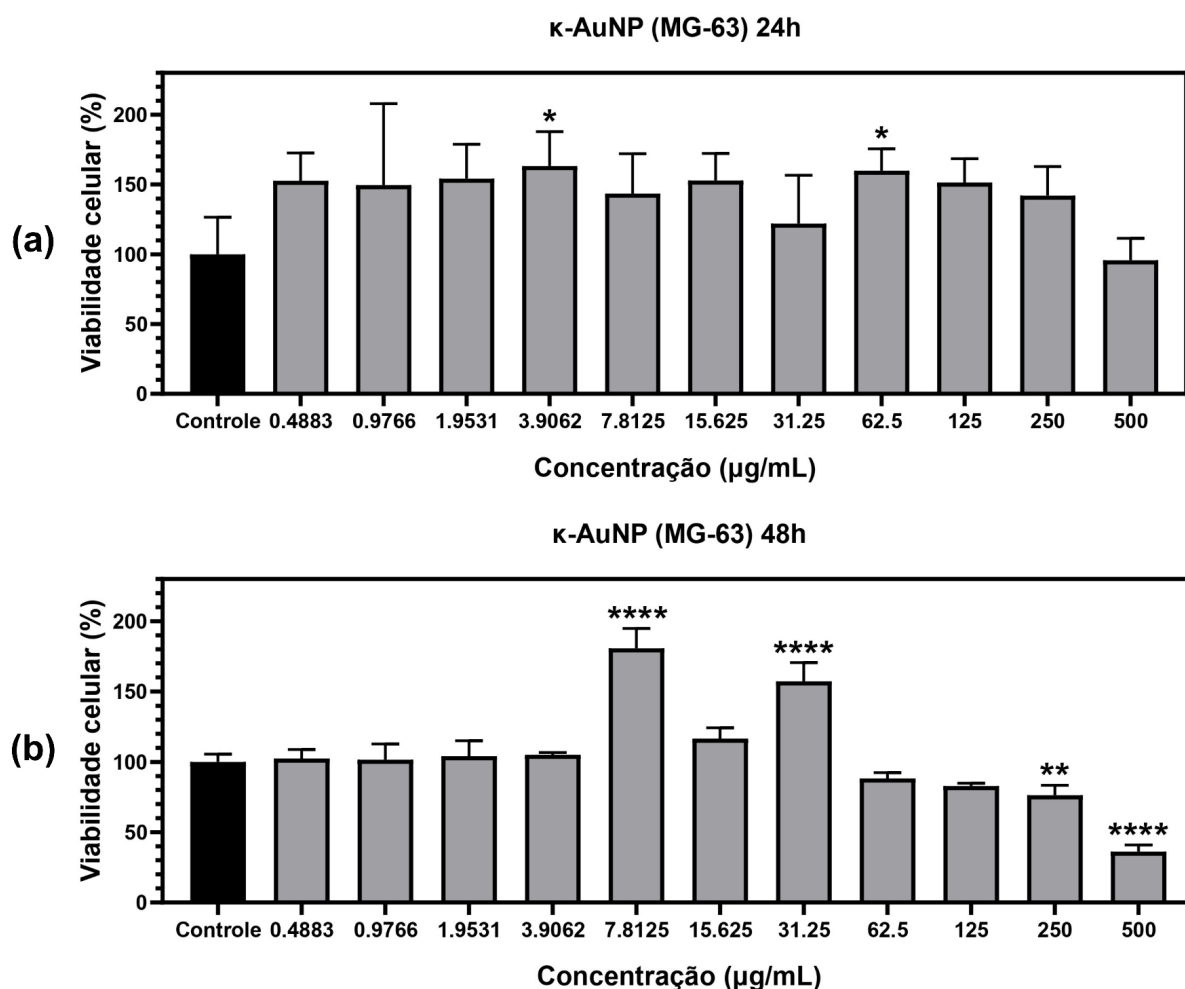
Fonte: Elaborado pelo autor.

Inicialmente, faz-se necessário entender o que provoca essa redução de viabilidade celular em ambas as linhagens, a interação da κ -AuNP com proteínas e enzimas intracelulares é a chave desse entendimento. Segundo SUN, H *et al.* (2018), independente do revestimento das AuNPs, existe uma afinidade maior dos núcleo de ouro pelo enxofre (S) e pelo selênio (Se) que promove uma troca de ligante em que ouro passa a se ligar nessas estruturas ricas em S e Se. Essa ligação ocorre inicialmente com o glutathione (GSH), um peptídeo responsável por proteger as células contra danos oxidativos, pois este está presente em alta concentração no citoplasma e possui grupo tiol ($-\text{SH}$) na sua estrutura. O ouro se liga ao GSH até que se esgotem suas reservas, causando um desbalanceamento redox nas células, o que faz esses

núcleos de ouro desprotegidos se ligarem de forma irreversível com enzimas muito importantes para o combate do estresse oxidativo, a glutathione peroxidase (GPx), mediante a presença de tiol (-SH), e a tiorredoxina redutase (TrxR), mediante a presença de grupos selenol (-SeH), promovendo a inibição destas. Com isso, a produção basal de radicais livres passa a ser um problema, pois ocorre o acúmulo de espécies reativas de oxigênio (ROS) que atacam a mitocôndria que causa o colapso do seu potencial de membrana, levando à destruição da integridade mitocondrial. Isso paralisa as enzimas desidrogenases mitocondriais, o que é percebido na leitura da absorbância que é diminuída no ensaio de MTT, pois há uma redução da formação dos cristais de formazan, atestando menores percentuais de viabilidade celular (SUN et al., 2018; CHEN et al., 2018).

A diferença no comportamento da viabilidade celular entre as linhagens testadas ocorre devido à fisiologia e ao metabolismo da célula cancerígena (representada pela linhagem MG-63), pois estas possuem uma alteração na homeostase de sinalização, dado que os receptores e as vias de crescimento tornam-se hipersensíveis em decorrência das mutações do câncer de tal maneira que ativam respostas para supercompensação proliferativa quando submetidas a doses baixas de um agente causador de estresse em vez de ativar lentos mecanismos de reparo como ocorre em células normais. Esse fenômeno é conhecido como hormese e explica o aumento significativo da viabilidade de MG-63 em algumas das concentrações mais baixas do tratamento no tempo de 48 h como observado na figura 13 (CALABRESE, 2005; SENA; CHANDEL, 2012).

Figura 14 - Viabilidade celular da linhagem MG-63 após tratamento com κ -AuNP. Efeito de diferentes concentrações do κ -AuNP (0 a 500 $\mu\text{g mL}^{-1}$) na viabilidade de células MG-63 após (a) 24 horas e (b) 48 horas de incubação. Os resultados estão expressos em porcentagem (%) em relação ao grupo controle (concentração zero). Os asteriscos indicam diferença estatística significativa em comparação ao grupo controle (* $P < 0,05$, ** $P < 0,01$, *** $P < 0,001$, **** $P < 0,0001$), obtida por análise de variância de uma via (*One-way ANOVA*) seguida pelo teste de comparações múltiplas de Dunnett.



Fonte: Elaborado pelo autor.

A regressão não linear de 4 parâmetros foi aplicada para a obtenção das curvas dose-resposta de ambas as linhagens, utilizando o *software* GraphPad Prism (versão 8), com a finalidade de determinar o valor da concentração inibitória média (IC_{50}) no tempo de 48h. Contudo, as análises apresentaram valores de coeficiente de determinação (R^2) muito baixos, sendo 0,4398 para L929 e, aproximadamente, 0,0017 para MG-63, o que inviabilizou o cálculo confiável do IC_{50} . Esse comportamento ocorreu devido à limitação do intervalo de doses testado, em ambas as linhagens, pois as concentrações que geraram redução significativa da viabilidade celular no tempo avaliado se encontram no limite superior deste intervalo (valores maiores que 125 $\mu\text{g mL}^{-1}$, Figuras 13b e 14b), impossibilitando a avaliação do comportamento celular em doses maiores. A ausência de um platô inferior de toxicidade,

matematicamente, impede o ajuste correto dos parâmetros da curva logística, tornando a estimativa do IC₅₀ instável e imprecisa (GRAPHPAD SOFTWARE, LLC, 2018). No caso específico da linhagem MG-63, a qualidade do ajuste foi extremamente baixa devido à inadequação desse modelo matemático sigmoide convencional para o caso em que ocorre hormese. Os modelos matemáticos clássicos pressupõem um decréscimo monotônico da viabilidade, pois estes são incapazes de prever ou computar crescimentos temporários em baixas concentrações, impossibilitando a convergência dos dados para uma curva logística padrão (CEDERGREEN et al., 2005).

O ensaio de MTT permitiu observar a capacidade citotóxica das κ -AuNPs após 48 h em concentrações superiores a 250 $\mu\text{g mL}^{-1}$ para a linhagem MG-63. Embora um perfil citotóxico semelhante tenha se estendido para a linhagem L929, o ensaio de MTT apresenta limitações intrínsecas bem documentadas. Dentre elas, destacam-se a incapacidade de determinar a via específica de morte celular induzida e a impossibilidade de distinguir se as células estão sofrendo lise efetiva (efeito citotóxico) ou se apenas tiveram sua taxa de proliferação e metabolismo reduzidos (efeito citostático) (VAN MEERLOO; KASPERS; CLOOS, 2011).

6 CONCLUSÃO

As sínteses das AuNPs ocorreram com sucesso e suas caracterizações apontaram maior estabilidade para as κ -AuNP em relação às BH-AuNPs, pois as primeiras têm mecanismo de estabilização eletroestérico devido a funcionalização com a κ -carragenana o qual foi elucidado por FTIR e ZP. Os testes cinéticos com dicromato de potássio atestou que as BH-AuNPs sofrem agregação e perda de propriedade óptica que evolui com o tempo de forma não seletiva enquanto as κ -AuNPs não reagiram com os íons dicromato, mantendo a intensidade da banda plasmônica praticamente inalterada. Essa estabilidade combinada à rota sintética verde proporcionou uma avaliação preliminar da capacidade citotóxica desses nanocompósitos em linhagem de células cancerígenas (MG-63) e saudáveis (L929). O resultado desse teste preliminar revela que as κ -AuNPs possuem capacidade citotóxica para ambas as linhagens. Assim, conclui-se que os objetivos foram em sua maioria atingidos com êxito.

7 PERSPECTIVAS

A determinação do tamanho dos núcleos de ouro, do grau de dispersividade destes tamanhos e da geometria destes de forma direta deve ser feito por microscopia eletrônica de transmissão (TEM), pois possibilita a obtenção da distribuição de tamanho e da morfologia das AuNPs respectivamente. O ensaio de MTT possui limitações, sendo necessário repeti-lo pelo menos mais uma vez para verificar a reprodutibilidade do experimento, além de que outras análises são necessárias, como citometria de fluxo para avaliar a resposta das células ao tratamento de forma mais direta, possibilitando saber se as células morreram por apoptose ou por necrose, pois esta última envolve processos inflamatórios, o que não é interessante para fins terapêuticos. Além disso, a inclusão de concentrações maiores de κ -AuNP no ensaio de MTT é de suma importância para o cálculo do IC_{50} com maior precisão para as duas linhagens e, no caso da linhagem MG-63, também é necessário o ajuste do modelo de regressão utilizado que possa prever a hormese.

REFERÊNCIAS

- AHMAD, I. Shifting shapes: Density variations and physicochemical characteristics from spheres to rods. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v. 703, p. 135410, nov. 2024.
- AMINA, S. J.; GUO, B. A Review on the Synthesis and Functionalization of Gold Nanoparticles as a Drug Delivery Vehicle. **International Journal of Nanomedicine**, v. Volume 15, p. 9823–9857, dez. 2020.
- ARYAL, S. et al. Spectroscopic identification of S-Au interaction in cysteine capped gold nanoparticles. **Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, v. 63, n. 1, p. 160–163, jan. 2006.
- ATKINS, Peter; PAULA, Julio de; KEELER, James. **Físico-química Vol. 2**. 12. ed. Rio de Janeiro: LTC, 2026. E-book. ISBN 9788521639299. Disponível em: <https://app.minhabiblioteca.com.br/reader/books/9788521639299/>. Acesso em: 18 jun. 2026.
- BANCO DE CÉLULAS DO RIO DE JANEIRO (BCRJ). **Ficha técnica da linhagem celular MG-63 (Código 0173)**. Rio de Janeiro: BCRJ, 2026. Disponível em: <https://bcRJ.org.br/celula/mg-63/>. Acesso em: 8 jun. 2026.
- BARBER, D. J.; FREESTONE, I. C. AN INVESTIGATION OF THE ORIGIN OF THE COLOUR OF THE LYCURGUS CUP BY ANALYTICAL TRANSMISSION ELECTRON MICROSCOPY. **Archaeometry**, v. 32, n. 1, p. 33–45, fev. 1990.
- BHATTACHARJEE, S. DLS and zeta potential – What they are and what they are not? **Journal of Controlled Release**, v. 235, p. 337–351, 2016.
- BHATTACHARYYA, S.; DUDEJA, P. K.; TOBACMAN, J. K. Carrageenan-induced NFκB activation depends on distinct pathways mediated by reactive oxygen species and Hsp27 or by Bcl10. **Biochimica Et Biophysica Acta - General Subjects**, v. 1780, n. 7-8, p. 973–982, 1 jul. 2008.
- BIDIAN, C. et al. Viburnum opulus fruit extract-capped gold nanoparticles attenuated oxidative stress and acute inflammation in carrageenan-induced paw edema model. **Green Chemistry Letters and Reviews**, v. 15, n. 2, p. 320–336, 3 abr. 2022.
- CALABRESE, E. J. Cancer Biology and Hormesis: Human Tumor Cell Lines Commonly Display Hormetic (Biphasic) Dose Responses. **Critical Reviews in Toxicology**, v. 35, n. 6, p. 463–582, jan. 2005.
- CAMPO, V. L. et al. Carrageenans: Biological properties, chemical modifications and structural analysis – A review. **Carbohydrate Polymers**, v. 77, n. 2, p. 167–180, jun. 2009.
- CEDERGREEN, N.; RITZ, C.; STREIBIG, J. C. IMPROVED EMPIRICAL MODELS DESCRIBING HORMESIS. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 24, n. 12, p. 3166, 2005.
- CHALMIN, E. et al. Minerals discovered in paleolithic black pigments by transmission

electron microscopy and micro-X-ray absorption near-edge structure. **Applied Physics A**, v. 83, n. 2, p. 213–218, 3 mar. 2006.

CHEN, X. et al. Green Synthesis of Gold Nanoparticles Using Carrageenan Oligosaccharide and Their In Vitro Antitumor Activity. **Marine Drugs**, v. 16, n. 8, p. 277, 7 ago. 2018.

CHEN, X. et al. Iota carrageenan gold-silver NPs photothermal hydrogel for tumor postsurgical anti-recurrence and wound healing. **Carbohydrate Polymers**, v. 298, p. 120123, 16 set. 2022.

COMISSÃO EUROPEIA. **Recomendação da Comissão de 10 de junho de 2022 relativa à definição de nanomaterial (2022/C 229/01)**. Jornal Oficial da União Europeia: série C, Bruxelas, v. 65, p. 1-5, 14 jun. 2022. Disponível em: <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/PT/TXT/?uri=CELEX%3A32022H0614%2801%29>. Acesso em: 20 abr. 2026.

DARUICH DE SOUZA, C.; RIBEIRO NOGUEIRA, B.; ROSTELATO, M. E. C. M. Review of the methodologies used in the synthesis gold nanoparticles by chemical reduction. **Journal of Alloys and Compounds**, v. 798, p. 714–740, ago. 2019.

DAS, N. et al. Gold nanomakura: nanoarchitectonics and their photothermal response in association with carrageenan hydrogels. **Beilstein Journal of Nanotechnology**, v. 15, p. 678–693, 7 jun. 2024.

DE ALMEIDA, D. A. et al. κ -Carrageenan-capped core-shell gold@silver nanoparticles: Optical device for hydrogen peroxide detection. **Nano-Structures & Nano-Objects**, v. 30, p. 100861, abr. 2022.

DREADEN, E. C. et al. The golden age: gold nanoparticles for biomedicine. **Chem. Soc. Rev.**, v. 41, n. 7, p. 2740–2779, 2012.

DYKMAN, L.; KHLEBTSOV, N. Gold nanoparticles in biomedical applications: recent advances and perspectives. **Chem. Soc. Rev.**, v. 41, n. 6, p. 2256–2282, 2012.

EATON, Peter; WEST, Paul. Measuring AFM Images. In: EATON, Peter; WEST, Paul. **Atomic Force Microscopy**. Oxford: Oxford University Press, 2010. cap. 4.

FARADAY, M. X. The Bakerian Lecture. —Experimental relations of gold (and other metals) to light. **Philosophical Transactions of the Royal Society of London**, v. 147, p. 145–181, 31 dez. 1857.

FEYNMAN, Richard P. There's plenty of room at the bottom. **Engineering and Science**, v. 23, n. 5, p. 22-36, 1960. Disponível em: <https://resolver.caltech.edu/CaltechES:23.5.1960Bottom>. Acesso em: 21 jun. 2026.

GARCÍA, Ricardo. **Amplitude Modulation Atomic Force Microscopy**. Weinheim: Wiley-VCH, 2010.

GASILOVA, E. R. et al. Smart colloids containing ensembles of gold nanoparticles conjugated with κ -carrageenan. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 137, p. 358–365, 1 set. 2019.

GHOSH, S. K.; PAL, T. Interparticle coupling effect on the surface plasmon resonance of gold nanoparticles: from theory to applications. **Chemical Reviews**, v. 107, n. 11, p. 4797-4862, 2007.

GONZÁLEZ-BALLESTEROS, N. et al. Eco-friendly extraction of *Mastocarpus stellatus* carrageenan for the synthesis of gold nanoparticles with improved biological activity. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 183, p. 1436–1449, jul. 2021.

GRABAR, K. C. et al. Preparation and characterization of Au colloid monolayers. **Analytical Chemistry**, v. 67, n. 4, p. 735-743, 1995.

GRAPHPAD SOFTWARE, LLC. **GraphPad Prism 8 Curve Fitting Guide - Welcome to Prism 8 Curve Fitting Guide**. Disponível em: <<https://www.graphpad.com/guides/prism/8/curve-fitting/>>. Acesso em: 19 jun. 2026.

GUL, M. et al. Various Methods of Synthesis and Applications of Gold-Based Nanomaterials: A Detailed Review. **Crystal Growth & Design**, v. 25, n. 7, p. 2227–2266, 14 mar. 2025.

GUO, Z. et al. Carrageenan oligosaccharides: A comprehensive review of preparation, isolation, purification, structure, biological activities and applications. **Algal Research**, v. 61, p. 102593, jan. 2022.

HAISS, W. et al. Determination of size and concentration of gold nanoparticles from UV–Vis spectra. **Analytical Chemistry**, v. 79, n. 11, p. 4215-4221, 2007.

HALL, John E.; HALL, Michael E. **Guyton & Hall - Tratado de Fisiologia Médica**. 14. ed. Rio de Janeiro: GEN Guanabara Koogan, 2021. E-book. ISBN 9788595158696. Disponível em: <https://app.minhabiblioteca.com.br/reader/books/9788595158696/>. Acesso em: 18 jun. 2026.

HOLANDA, T. DE B. L. et al. Growth and iota-carrageenan from the red seaweed *Solieria filiformis* (Rhodophyta, Solieriaceae) cultivated in the Ceara State coast, Brazil. **Aquaculture International**, v. 33, n. 3, 17 fev. 2025.

IELO, I. et al. Synthesis, Chemical–Physical Characterization, and Biomedical Applications of Functional Gold Nanoparticles: A Review. **Molecules**, v. 26, n. 19, p. 5823, 1 jan. 2021.

IJIMA, S. Helical microtubules of graphitic carbon. **Nature**, v. 354, n. 6348, p. 56–58, nov. 1991.

INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION. ISO 10993-5: **Biological evaluation of medical devices — Part 5: Tests for in vitro cytotoxicity**. Geneva: ISO, 2009

INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION. ISO 10993-12: **Biological evaluation of medical devices — Part 12: Sample preparation and reference materials**. 5. ed. Geneva: ISO, 2021.

ISRAELACHVILI, J. N. **Intermolecular and surface forces**. 3. ed. Amsterdam: Academic Press, 2011.

JABEEN, F. et al. Carrageenan: structure, properties and applications with special emphasis on food science. **RSC Advances**, v. 15, n. 27, p. 22035–22062, 1 jan. 2025.

JABER, N. et al. Characterization ex vivo skin permeation and pharmacological studies of ibuprofen lysinate-chitosan-gold nanoparticles. **Journal of Drug Delivery Science and Technology**, v. 62, p. 102399, abr. 2021.

JIANG, J.-L. et al. Insight on structure-property relationships of carrageenan from marine red algal: A review. **Carbohydrate Polymers**, v. 257, p. 117642, abr. 2021.

KUMAR, V. et al. Pterostilbene-Isothiocyanate Inhibits Proliferation of Human MG-63 Osteosarcoma Cells via Abrogating β -Catenin/TCF-4 Interaction—A Mechanistic Insight. **ACS Omega**, v. 8, n. 46, p. 43474–43489, 6 nov. 2023.

LAMER, V. K.; DINEGAR, R. H. Theory, Production and Mechanism of Formation of Monodispersed Hydrosols. **Journal of the American Chemical Society**, v. 72, n. 11, p. 4847–4854, nov. 1950.

LIMA, T. de B. et al. Perfil de textura de géis aquosos elaborados a partir da iota-carragenana da alga marinha vermelha *Solieria filiformis*. **BBR – Biochemistry and Biotechnology Reports**, v. 2, n. 3, p. 331-335, 2013. Disponível em: <https://www.researchgate.net>. Acesso em: 14 dez. 2025.

LIMA, F. E. H.; SILVA, F. L. F. da; AKHDHAR, A. A.; FECHINE, P. B. A.; NOGUEIRA, A. R. de A.; MATOS, W. O. Non-chromatographic inorganic arsenic speciation in rice by spectrophotometry using silver nanoparticles as platform sensor. **Food Chemistry**, [s. l.], v. 476, e143321, 2025. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2025.143321>. Acesso em: 10 fev. 2025.

LINK, S.; EL-SAYED, M. A. Spectral properties and relaxation dynamics of surface plasmon electronic oscillations in gold and silver nanodots and nanorods. **The Journal of Physical Chemistry B**, v. 103, n. 40, p. 8410-8426, 1999.

LIU, X. et al. Colorimetric detection of Cr(VI) using gold nanoparticles. **Sensors and Actuators B: Chemical**, v. 171-172, p. 604-610, 2012.

LIZ-MARZÁN, L. M. Tailoring Surface Plasmons through the Morphology and Assembly of Metal Nanoparticles. **Langmuir**, v. 22, n. 1, p. 32–41, jan. 2006.

MAIER, S. A. Localized Surface Plasmons. In: MAIER, S. A. **Plasmonics: fundamentals and applications**. New York: Springer, 2007. cap. 3, p. 84-123.

MILENA ÁLVAREZ-VIÑAS et al. Efficient extraction of carrageenans from *Chondrus crispus* for the green synthesis of gold nanoparticles and formulation of printable hydrogels. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 206, p. 553–566, 1 maio 2022.

MOORE, T. L. et al. Nanoparticle colloidal stability in cell culture media and impact on cellular interactions. **Chemical Society Reviews**, v. 44, n. 17, p. 6287–6305, 2015.

MOURDIKOU DIS, Stefanos; PALLARES, Jackie; THANH, Nguyen T. K. Characterization techniques for nanoparticles: comparison and complementarity upon studying nanoparticle properties. **Nanoscale**, v. 10, n. 27, p. 12871-12934, 2018.

NAÇÕES UNIDAS NO BRASIL. **Objetivos de Desenvolvimento Sustentável**. Brasília: ONU, 2015. Disponível em: <https://brasil.un.org/pt-br/sdgs>. Acesso em: 4 jul. 2026.

NAKAMOTO, K. Coordination Compounds. In: NAKAMOTO, K. **Infrared and Raman Spectra of Inorganic and Coordination Compounds: Part B: Applications in Coordination, Organometallic, and Bioinorganic Chemistry**. 6. ed. Hoboken: Wiley-Interscience, 2009. cap. 1, p. 1-148.

NINGARAJU, S. et al. Chaetomium globosum extract mediated gold nanoparticle synthesis and potent anti-inflammatory activity. **Analytical Biochemistry**, v. 612, p. 113970, jan. 2021.

NOVOSELOV, K. S. Electric Field Effect in Atomically Thin Carbon Films. **Science**, v. 306, n. 5696, p. 666–669, 22 out. 2004.

NUNES, A. et al. Biotechnological Applications of Biogenic Nanomaterials from Red Seaweed: A Systematic Review (2014–2024). **International Journal of Molecular Sciences**, v. 26, n. 9, p. 4275, 30 abr. 2025.

NURAKHMETOVA, Z. A. et al. Synthesis and Stabilization of Gold Nanoparticles Using Water-Soluble Synthetic and Natural Polymers. **Polymers**, v. 12, n. 11, p. 2625, 8 nov. 2020.

OHSHIMA, H. Zeta potential of nanocolloids. **Current Opinion in Colloid & Interface Science**, v. 18, n. 2, p. 112-121, 2013.

OSAWA, M. Surface-Enhanced Infrared Absorption. In: KAWATA, S. (ed.). **Near-Field Optics and Surface Plasmon Polaritons**. Berlin: Springer, 2001. p. 163-187. (Topics in Applied Physics, v. 81). Disponível em: https://doi.org/10.1007/3-540-44552-8_9. Acesso em: 16 maio 2026.

PACHECO-QUITO, E.-M.; RUIZ-CARO, R.; VEIGA, M.-D. Carrageenan: Drug Delivery Systems and Other Biomedical Applications. **Marine Drugs**, v. 18, n. 11, p. 583, 23 nov. 2020.

PADOVANI, S. et al. Silver and copper nanoclusters in the lustre decoration of Italian Renaissance pottery: an EXAFS study. **Applied Physics A**, v. 79, n. 2, p. 229–233, 1 jul. 2004.

PAVIA, D. L. **Introdução à espectroscopia**. São Paulo: Cengage Learning, 2015.

QIN, L. et al. “Gold rush” in modern science: Fabrication strategies and typical advanced applications of gold nanoparticles in sensing. **Coordination Chemistry Reviews**, v. 359, p. 1–31, 15 mar. 2018.

RAZACK, S. A.; KIM, Y. E.; KANG, H. W. κ -carrageenan – Gelatin hydrogel embedding carvacrol loaded gold nanobipyramids for treating prostate cancer via fractionated photothermal-chemotherapy. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 291, p. 138974, fev. 2025.

RODRIGUES, J. A. G. et al. AQUEOUS EXTRACTION OF ANTIOXIDANT KAPPA-CARRAGEENAN FROM *Hypnea musciformis* (RHODOPHYTA) MARICULTURE. **Revista Brasileira de Engenharia de Pesca**, v. 16, n. 3, p. 81–96, 3 jul. 2025.

RODRIGUES, Vivian Stephanie Ferreira. **Sonda baseada em nanopartículas fluorescentes para detecção seletiva de íons dicromato em amostra de solo**. 2025. 68 f. Dissertação (Mestrado em Química) – Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2025. Disponível em: https://repositorio.ufc.br/bitstream/riufc/83283/3/2025_dis_vsfrdrigues.pdf. Acesso em: 14 dez. 2025.

SAHA, K. et al. Gold Nanoparticles in Chemical and Biological Sensing. **Chemical reviews**, v. 112, n. 5, p. 2739–2779, 9 maio 2012.

SENA, LAURA A.; CHANDEL, NAVDEEP S. **Physiological Roles of Mitochondrial Reactive Oxygen Species**. **Molecular Cell**, v. 48, n. 2, p. 158–167, out. 2012.

SHRIVAS, K.; SHANKAR, R.; DEWANGAN, K. Gold nanoparticles as a localized surface plasmon resonance based chemical sensor for on-site colorimetric detection of arsenic in water samples. **Sensors and Actuators B: Chemical**, v. 220, p. 1376–1383, dez. 2015.

SINGH, G. et al. Evolution of stellated gold nanoparticles: New conceptual insights into controlling the surface processes. **Nano Research**, v. 15, n. 2, p. 1260–1268, 11 ago. 2021.

SKOOG, Douglas A.; WEST, Donald M.; HOLLER, F. James; CROUCH, Stanley R. **Fundamentos de Química Analítica: tradução da 10ª edição norte-americana**. São Paulo: Cengage Learning, 2023. c. 10.

SPERLING, L. H. **Introduction to Physical Polymer Science**. 4. ed. New Jersey: John Wiley & Sons, 2005.

SPERLING, R. A.; PARAK, W. J. Surface modification, functionalization and bioconjugation of colloidal inorganic nanoparticles. **Philosophical Transactions of the Royal Society A: Mathematical, Physical and Engineering Sciences**, v. 368, n. 1915, p. 1333–1383, 28 mar. 2010.

SUHAS, K. S. et al. A comprehensive review on nanoparticles: classification, properties, and mechanical effects. **Discover Materials**, v. 6, n. 1, 29 nov. 2025.

SUN, H. et al. Gold Nanoparticle-Induced Cell Death and Potential Applications in Nanomedicine. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 19, n. 3, p. 754, 7 mar. 2018.

TIWARI, A. K.; NARAYAN, R. J. Role of Polymeric Stabilizing Agents as a Molecular Spacer in Gold Nanoparticle-Mediated FRET-Based Biosensing. **Biosensors**, v. 15, n. 9, p. 593, 9 set. 2025.

TOUMEY, C. Plenty of room, plenty of history. **Nature Nanotechnology**, v. 4, n. 12, p. 783–784, dez. 2009.

TURKEVICH, J.; STEVENSON, P. C.; HILLIER, J. A study of the nucleation and growth processes in the synthesis of colloidal gold. **Discussions of the Faraday Society**, v. 11, p. 55, 1951.

VAN MEERLOO, J.; KASPERS, G. J. L.; CLOOS, J. Cell Sensitivity Assays: The MTT Assay. **Methods in Molecular Biology**, v. 731, n. 1, p. 237–245, 2011.

WALTER, P. et al. Early use of PbS nanotechnology for an ancient hair dyeing formula. **Nano Letters**, v. 6, n. 10, p. 2215–2219, 1 out. 2006.

WAN, H. et al. Bioreduction (AuIII to Au0) and stabilization of gold nanocatalyst using Kappa carrageenan for degradation of azo dyes. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 176, p. 282–290, 13 fev. 2021.

XU, X. et al. Electrophoretic analysis and purification of fluorescent single-walled carbon nanotube fragments. **Journal of the American Chemical Society**, v. 126, n. 40, p. 12736–12737, 13 out. 2004.

ZHANG, Y. et al. Rapid and Selective Deposition of Patterned Thin Films on Heterogeneous Substrates via Spin Coating. **ACS Applied Materials & Interfaces**, v. 11, n. 23, p. 21177–21183, 22 maio 2019.

ZHAO, J.; FRIEDRICH, B. Synthesis of gold nanoparticles via chemical reduction methods. In: NANOCON, 7., 2015, Brno, República Tcheca. **Proceedings...** Brno: TANGER, 2015. p. 4231. Disponível em: <http://www.nanocon.eu/files/proceedings/23/papers/4231.pdf>. Acesso em: 10 dez. 2025.

ZHAO, P. et al. State-of-the-art techniques for the synthesis, modification and applications of gold nanoparticles. **Coordination Chemistry Reviews**, v. 257, n. 3-4, p. 638-665, 2013.