



**MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PIAUÍ
PRÓ- REITORIA DE ENSINO DE PÓS-GRADUAÇÃO
CAMPUS MINISTRO REIS VELLOSO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOTECNOLOGIA**

JÉSSYCA CHRISTINA FORTES RAMOS

**SÍNTESE VERDE DE NANOPARTÍCULAS DE PRATA MEDIADA POR EXTRATO
DA CASCA DO *Anacardium microcarpum* Ducke: CARACTERIZAÇÃO E
ATIVIDADE BIOLÓGICA**

PARNAÍBA – PI

2017

JÉSSYCA CHRISTINA FORTES RAMOS

**SÍNTESE VERDE DE NANOPARTÍCULAS DE PRATA MEDIADA POR EXTRATO
DA CASCA DO *Anacardium microcarpum* Ducke: CARACTERIZAÇÃO E
ATIVIDADE BIOLÓGICA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia, da Universidade Federal do Piauí, *Campus* Ministro Reis Velloso, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Biotecnologia.

Área de concentração: Nanotecnologia

Orientadora: Prof^ª. Dr^ª. Durcilene Alves da Silva

PARNAÍBA – PI

2017

FICHA CATALOGRÁFICA
Universidade Federal do Piauí
Biblioteca Setorial Prof. Cândido Athayde – Campus Parnaíba
Serviço de Processamento Técnico

R175s Ramos, Jéssyca Christina Fortes.
Síntese verde de nanopartículas de prata mediada por extrato da casca do *Anacardium microcarpum* Ducke: caracterização e atividade biológica. – 2017.
50 f. : il. color.

Impresso por computador (printout).
Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) – Universidade Federal do Piauí, 2017.
Orientação: Prof^a. Dr^a. Durcilene Alves da Silva.
Área de concentração: Nanotecnologia.

1. Biotecnologia. 2. Nanopartículas de Prata. 3. *Anacardium microcarpum*. 4. Atividade Biológica. I. Título.

CDD: 660.6

JÉSSYCA CHRISTINA FORTES RAMOS

SÍNTESE VERDE DE NANOPARTÍCULAS DE PRATA MEDIADA POR EXTRATO DA CASCA DO *Anacardium microcarpum* Ducke: CARACTERIZAÇÃO E ATIVIDADE BIOLÓGICA.

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia da Universidade Federal do Piauí, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Biotecnologia.

Aprovada em: ____/____/____

BANCA EXAMINADORA

Prof^a. Dr^a. Durcilene Alves da Silva
Universidade Federal do Piauí (Orientador)

Prof^a. Dra. Tatiane Caroline Daboit
Universidade Federal do Piauí-UFPI
Membro Externo do Programa

Prof. Dr. Peter Jonathan Eaton
Universidade do Porto –UNIPORTO
Membro Interno do Programa

AGRADECIMENTOS

A Deus por tudo que sei, tenho e sou!

À UFPI e o CNPq pelo incentivo, apoio e infraestrutura.

A minha orientadora prof^a. Dr^a. Durcilene Alves da Silva, pela oportunidade, paciência e confiança, sempre me incentivando. Obrigada por me mostrar que não existem limites para se obter conhecimentos.

A minha mãe Isabel por me ensinar tudo o que sei, sempre estando ao meu lado, me educando e incentivando, por aturar meus estresses, você é a pessoa que admiro, amo e respeito! Ao meu pai Cesario pelo amor, compreensão e sempre me apoiar. Ao meu irmão Jefferson pela amizade e companheirismo e a todos da minha família de que alguma forma me ajudou quando precisei. Ao meu namorado John pelo carinho, paciência e por estar comigo nos finais de semana e nas noites até tarde no laboratório.

A todos do BioTec em especial a Silvania, que esteve comigo desde do início, me ensinando como a sintetizar nanopartículas e por disponibilizar suas noites para experimentos; a Alyne e ao Patrick que me ajudaram nos testes antimicrobianos, ao Edmar e à Erika pelos testes antioxidantes (que não foram poucos), a Taiane, ao João, ao Joilson e aos demais que colaboraram com os trabalhos e os gestos de amizade.

Ao Miguel Peixoto de Almeida, UCIBIO – REQUIMTE pela análise de NTA, Alexandra Plácido- REQUIMTE/LAQV pelo teste de FTIR e Dr. Rui Fernandes, Histology and Electron microscopy Services pelo teste de MET. Ao LIMAV em nome da prof. Dr^a. Carla Eiras e Solranny Carla pelos testes de potencial Zeta, obrigado por tudo.

A empresa Anidro, por me disponibilizar para o mestrado.

A todos que torceram e torcem pelo meu sucesso!

“Talvez não tenha conseguido fazer o melhor, mas lutei para que o melhor fosse feito. Não sou o que deveria ser, mas Graças a Deus, não sou o que era antes”.

(Martin Luther King)

RESUMO

As nanopartículas sintetizadas por métodos físicos e químicos envolvem a utilização de solventes tóxicos, causando impacto à saúde e ao meio ambiente. Diante disso, a síntese verde surge como uma rota alternativa, mais segura e menos nociva. A formação de nanopartículas através da síntese verde visa a utilização de materiais biológicos, para a redução e estabilização das nanopartículas. O presente estudo relata uma abordagem de síntese verde de nanopartículas de prata (AgNPs) utilizando o extrato proveniente das cascas de *Anacardium microcarpum*, planta nativa da região nordeste. O aperfeiçoamento dos parâmetros de síntese como o pH, a concentração e o tempo de reação foram realizados, além das caracterizações por Espectrofotometria Ultra-violeta no visível, Potencial Zeta, Análise por Rastreamento de Partículas, Microscopia Eletrônica de Transmissão, Infravermelho com Transformada de Fourier e avaliadas as atividades antioxidante e antimicrobiana. As análises realizadas por espectroscopia no UV-vis das nanopartículas de prata apresentaram espectros de absorção variando 410-433nm, seus tamanhos variaram 72,9-208,3nm e potencial zeta de -49,7mV à -56,0mV. A formação das nanopartículas foram dependentes da concentração, do pH de síntese e do tempo de reação. O extrato de *A. microcarpum* atuou na redução das AgNPs que através da análise por Microscopia Eletrônica de Transmissão foi possível verificar nanopartículas esféricas e a técnica Infravermelho com Transformada de Fourier foi possível identificar os possíveis grupos funcionais como compostos fenólicos terem sido os responsáveis pela redução da Ag^+ para Ag^0 . A atividade antioxidante das nanopartículas de prata se mostraram eficientes com IC_{50} variando de 10,09 $\mu g/mL$ à 38,15 $\mu g/mL$ quando comparadas ao padrão ácido ascórbico (186 $\mu g/mL$). As nanopartículas exibiram atividade antimicrobiana eficaz contra *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli*.

Palavras-chave: Nanopartículas de prata, *Anacardium microcarpum*, Atividade biológica.

ABSTRAT

Nanoparticles synthesized by physical and chemical methods involve the use of toxic solvents, causing health and environmental impacts. In light of this, the green synthesis route appears as an alternative route, safer and less harmful. The formation of nanoparticles through the green synthesis aims at the use of biological materials, for the reduction and stabilization of nanoparticles. The present study reports a green synthesis approach of silver nanoparticles (AgNPs) Using the extract from the bark of *Anacardium microcarpum*, a northeastern native plant. The improvement of the synthesis parameters such as pH, concentration and reaction time were performed, besides the characterization by UV-visible Spectroscopy, Zeta Potential, Nanoparticle Tracking Analysis, Transmission Electronic Microscopy, Fourier Transform Infrared as well as the Antioxidant and antimicrobial activities. Analysis by UV-vis spectroscopy of the silver nanoparticles showed absorption spectra ranging from 410-433nm, with sizes ranged from 72.9-208.3 nm and zeta potential from -49.7mV-56.0mV. The formation of the nanoparticles was concentration dependent as well synthesis pH and reaction time dependent. The extract of *A. microcarpum* played an important ruler in the reduction of the AgNPs as was seen through Transmission Electronic Microscopy analysis it was possible to verify spherical nanoparticles. The Fourier Transform Infrared technique was used to identify the possible functional groups as phenolic compounds that were responsible for the reduction of Ag^+ to Ag^0 . The antioxidant activity of silver nanoparticles showed to be efficient with IC_{50} ranging from 10.09 $\mu\text{g} / \text{mL}$ to 38.15 $\mu\text{g} / \text{mL}$ when compared to the standard ascorbic acid (186 $\mu\text{g} / \text{mL}$). The nanoparticles exhibited effective antimicrobial activity against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*.

Keywords: Silver nanoparticles, *Anacardium microcarpum*, Biological activity.

LISTA DE ABREVIATURAS

Ag ⁺	Íon prata
Ag ⁰	Átomo de prata ou prata metálica
AgNO ₃	Nitrato de prata
AgNPs	Nanopartículas de prata
AuNPs	Nanopartículas de Ouro
ATCC	Do inglês American Type Culture Collection
CIM	Concentração Inibitória Mínima
DLS	Do inglês Dynamic Light Scattering (Espalhamento dinâmico de luz)
DRX	Difração de raios-X
DPPH	2,2-Diphenyl-1-picryl-hidrazil
FTIR	Do inglês Fourier Transform Infrared (Infravermelho com Transformada de Fourier)
AFM	Do inglês Atomic Force Microscope (Microscopia de Força Atômica)
MET	Microscopia Eletrônica de Transmissão
MEV	Microscopia Eletrônica de Varredura
NPs	Nanopartículas
NMPs	Nanopartículas metálicas
NTA	Do inglês Nanoparticle Tracking Analysis (Análise de Rastreamento de Nanopartículas)
pH	Potencial Hidrogeniônico
PbS	Sulfeto de chumbo
SPR	Do inglês Surface Plasmon Resonance (Ressonância Plasmônica de superfície)
XPS	Do inglês X-ray Photoelectron Spectroscopy (Espectroscopia fotoeletrônica de raios X)
UFC	Unidade Formadora de Colônia
UV-Vis	Espectrofotometria Ultra-Violeta no visível
(ζ)	Potencial Zeta

SUMÁRIO

CAPITULO I- SINTESE DE NANOPARTICULAS MÉTÁLICAS COM EXTRATOS VEGETAIS

1 INTRODUÇÃO.....	11
2 SÍNTESE DE NANOPARTÍCULAS (MÉTODOS – FÍSICOS, QUÍMICOS E BIOLÓGICOS)	13
3 <i>Anacardium microcarpum</i> Ducke.....	16
3 TÉCNICAS DE CARACTERIZAÇÃO DE NANOPARTÍCULAS	17
4 APLICAÇÕES DAS NANOPARTÍCULAS.....	18
5 CONCLUSÃO	19

CAPÍTULO II - SÍNTESE, CARACTERIZAÇÃO E AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA E ANTIOXIDANTE DE NANOPARTÍCULAS PRODUZIDAS POR SÍNTESE VERDE MEDIADA POR EXTRATO DA CASCA DO *A. microcarpum*

1 INTRODUÇÃO.....	20
2 MATERIAIS E MÉTODOS	21
2.1 Preparação do extrato hidroetanólico da casca do <i>A. microcarpum</i>	21
2.2 Síntese de nanopartículas de prata	21
3 CARACTERIZAÇÃO	22
3.1 Caracterização por Espectroscopia de UV-Visível.....	22
3.2 Potencial Zeta	22
3.3 Análise por rastreamento de nanopartículas (NTA).....	22
3.4 Análise por Espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR).....	23
3.5 Microscopia eletrônica de transmissão (MET).....	23
3.6 Atividade Antioxidante (DPPH).....	23
3.7 Concentração Inibitória Mínima (CIM)	24
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	25
4.1 Espectroscopia UV-Visível.....	25
4.2 Potencial Zeta	29
4.3 Análise por rastreamento de nanopartículas (NTA).....	30
4.4 Estudos Espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR)	31
4.5 Microscopia Eletrônica de Transmissão (MET).....	32
4.6 Atividade antioxidante (DPPH)	33
4.7 Concentração inibitória mínima (CIM)	35
5 CONCLUSÃO	38
6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	38

CAPÍTULO I

SINTESE DE NANOPARTICULAS MÉTALICAS COM EXTRATOS VEGETAIS

1 INTRODUÇÃO

A nanotecnologia é uma ciência baseada na manipulação de materiais a níveis moleculares e atômicos, com o intuito de criar dispositivos e sistemas com propriedades e aplicações fundamentalmente novas. Os materiais nanoestruturados apresentam, pelo menos, uma de suas dimensões em tamanho nanométrico, ou seja, em escala 1/1.000.000.000, ou um bilionésimo do metro ($1 \text{ nm} = 10^{-9} \text{ m}$) (GALEMBECK et al., 2004). Dentre as características dos nanomateriais está a funcionalidade, a qual, de um modo geral, permite uma extensa faixa de aplicações, exibindo a capacidade de executar funções específicas, como a execução de algumas funções químicas ou biológicas, através da manipulação desses materiais, de forma controlada e pré-determinada.

Organizar materiais em nanoescala é um método econômico para obter funcionalidade. Diversas interações são aplicadas nessa organização, tais como dipolo eletrostático, ligações de hidrogênio, força de van der Waals, interações hidrofóbicas ou hidrofílicas, aglomeração fluídica e outras formas de agregação (ROCO, 2001; GAI et al., 2002). Essa organização, pode afetar características físicas, químicas, mecânicas e biológicas. Outro aspecto é o aumento da razão entre a área e o volume do nanomaterial que altera suas propriedades, que ocorre diferente em relação àqueles presentes no interior do material, uma vez que pode participar de todas as alterações do material com o meio no qual está inserido (MELO et al., 2004).

Através da manipulação em nanoescala, diversos materiais podem ser usados incluindo prata, ouro, cobre, dióxido de titânio, óxido de zinco, dióxido de silício e nanotubos de carbono. Suas aplicações abrangem praticamente todos os setores industriais e de serviços tais como: nos cuidados na saúde, nos cosméticos, na biomedicina, na alimentação, na entrega controlada de fármacos, no meio ambiente, na mecânica, na óptica, nas indústrias químicas, na eletrônica, nas indústrias espaciais, na energia, na catálise, nos emissores de luz, nos dispositivos ópticos não-lineares e aplicações foto-eletoquímicas (AHMED et al., 2016). Dentre os vários domínios dessa área está a síntese, a caracterização e a aplicação de nanopartículas com diferentes tamanhos, formas e composições químicas (AKHTAR, 2013).

A síntese de nanopartículas foi realizada de modo intencional pela primeira vez em 1857, quando o físico e químico Michael Faraday produziu nanopartículas de ouro (AuNPs) dispersas em suspensão coloidal (BARRIENTOS et al., 2003). A produção de nanopartículas pode ser feita por meio de duas abordagens: a primeira é pelo método conhecido como *Top-down* (de cima para baixo), que se baseia na desconstrução de estruturas maiores, utilizando técnicas de fabricação para cortar, moer e moldar materiais até atingir a nanoescala. A segunda é pelo método *Bottom-up* (de baixo para cima), que explora as propriedades químicas de moléculas/átomos individuais para fazer com que estes se organizem e formem uma estrutura em nanoescala (LEVIN, et al., 2009). As nanopartículas podem exibir propriedades completamente novas ou melhoradas baseadas em determinadas características específicas tais como o tamanho, a morfologia, a distribuição, a concentração e o estado de agregação, quando comparadas a partículas com dimensões maiores provenientes da mesma fonte de onde foram geradas. Podem apresentar morfologias muito distintas tais como flocos, esferas e cubos (WILLEMS, 2005).

Dentre essas abordagens para síntese de nanopartículas podemos destacar os processos físicos que utilizam vários métodos, tais como Evaporação / condensação e ablação a laser e os métodos químicos que utilizam agente redutores e o método biológico “ síntese verde”, que em relação aos métodos químico e físicos, essa técnica é facilmente produzida em grande escala, menor custo e não há necessidade de usar produtos tóxicos (NARAYANAN et al., 2010; DHUPER et al., 2012). Para a síntese verde são utilizados diversos organismos, incluindo os fungos, as algas, as bactérias e as plantas (KALISHWARALAL et al., 2010). As aplicações das nanopartículas, tem sido promissora na indústria farmacêutica, especialmente na vetorização de fármacos antimicrobianos, elas podem ser sintetizadas para melhorar as propriedades farmacológicas e terapêuticas dos fármacos, pois apresentam um controle de liberação sustentado, uma maior seletividade (aumentando assim o índice terapêutico), uma diminuição dos efeitos colaterais e uma proteção da degradação no trato gastrointestinal, aumentando assim a biodisponibilidade (MONALISA et al, 2013).

Dentro deste contexto, a presente revisão aborda os métodos de síntese, as técnicas de caracterização fundamentais para investigar a formação de nanopartículas, suas aplicações e uma breve abordagem sobre a espécie *Anacardium microcarpum*, planta utilizada neste trabalho para síntese verde de nanopartículas de prata.

2 SÍNTESE DE NANOPARTÍCULAS (MÉTODOS – FÍSICOS, QUÍMICOS E BIOLÓGICOS)

Para a formação de nanopartículas podem ser utilizados dois métodos: *bottom-up* e *top-down*. O método *top-down* é baseado em processos físicos de desintegração de um material em escala macroscópica para a obtenção de um material nanoestruturado (EUSTIS et al., 2006). Nesse método ocorre elevada remoção do material, ocasionando baixo rendimento. Além disso, o tamanho e a dispersão das nanopartículas formadas são bem definidas. A síntese de nanopartículas pelo método físico utiliza técnicas como de evaporação-condensação que pode ser utilizada com um forno tubular com pressão atmosférica. Várias nanopartículas podem ser sintetizadas por esse método tais como: Ag, Au, PbS e fulereno. No entanto, essa técnica exige um alto consumo de energia e de tempo. Por exemplo, as nanopartículas de prata (AgNP) para atingir a temperatura desejada, ocorre um aumento no ambiente em torno do material, requerendo muito tempo para alcançar a estabilidade térmica. Além disso, o material ocupa um grande espaço dentro no forno (SCHMIDT-OTT, 1988; GURAV et al., 1994; MAGNUSSON et al., 1999; KRUIS et al., 2000).

A técnica de *bottom up* baseia-se em processos químicos de síntese de materiais nanoestruturados através do desenvolvimento das suas unidades constituintes através de reações químicas, tais como, a redução de íons metálicos ou a precipitação de óxidos ou outros compostos iônicos (CUI et al., 2010; CHUNG-HAO et al., 2011). Os agentes redutores mais comuns nessa técnica são o borohidreto de sódio ou hidrazina, álcool e o citrato de sódio. Entretanto, alguns destes agentes redutores necessitam também da ação do calor para que a reação ocorra e podendo ocasionar sua toxicidade (PILLAI e KAMAT, 2003; KIM et al., 2007). Além disso, uma outra limitação deste método é a produção de partículas com larga faixa de diâmetro, além de ser um método mais complexo, trabalhoso e apresentar contaminação ambiental devido aos resíduos de solventes utilizados na preparação (CHEN et al., 2003). No entanto, a vantagem desse método em formar nanopartículas facilmente dispersas em meios orgânicos são referenciados em diversos trabalhos. As aplicações desse método também podem ser encontradas, como na produção de nanopartículas catalizadoras, capaz de catalisar reações orgânicas, que ocorrem em solventes não polares (ANDREWS e OZIN, 1986, NAKAO e KAERIYAMA, 1989; COZZOLI et al., 2004). As reações que ocorrem na técnica de *bottom up* podem ser de decomposição térmica, fotocatalítica, fotoquímica, redução química e eletroquímica, etc. (SUN et al., 2002; JIN et al., 2003).

As técnicas físico-químicas utilizadas na síntese de nanopartículas envolvem uma série de reagentes tóxicos e geração de resíduos, as quais tem limitado seu uso no campo farmacêutico e químico (SALAM et al., 2012; CAUERHFF e CASTRO, 2013). Diante disso, a síntese verde surgiu como uma rota de síntese alternativa, de fácil manuseio e viável aos métodos físicos e químicos, pois ele é um método mais sustentável, de baixo custo gerando produtos menos nocivos à saúde humana e ao meio ambiente. A síntese biológica ou síntese verde é um método que utiliza sistemas biológicos, como plantas e algas, diatomáceas, bactérias, fungos e células humanas, que através de suas proteínas e metabolitos presentes nestes organismos são capazes de transformar íons metálicos em nanopartículas metálicas (RAUWEL et al., 2014). Além disso, os métodos convencionais para a síntese de nanopartículas geralmente requerem redutores tóxicos e tratamentos de calor, produzindo muitas vezes subprodutos perigosos. Para a preparação de nanopartículas abordando o método de síntese verde, são necessários a escolha do meio do solvente (de preferência água), um agente redutor e um material para a estabilização das nanopartículas não tóxico (RAVEENDRAN et al., 2003).

Uma das principais abordagens para síntese verde é o uso de plantas ou partes dela como folhas, raízes, cascas, látex, exsudato e sementes. As vantagens da utilização de plantas para a síntese de nanopartículas é a sua fácil disponibilização, simples manuseio e possuem uma variedade de agentes ativos que podem promover a redução e estabilização de íons (AHMAD et al., 2010). Diversos fatores podem afetar a síntese de nanopartículas, tais como o pH do extrato, que exerce grande influência sobre a formação das nanopartículas, uma vez que ele pode alterar a carga natural contida no extrato, afetando a sua capacidade para ligar e reduzir íons metálicos, no tamanho, na forma e no rendimento das nanopartículas. A temperatura é outro fator importante que afeta a formação de nanopartículas, sendo que, com a elevação da temperatura, a velocidade da reação e eficácia aumenta (MAKAROV et al., 2014). Além disso, compostos presentes nas plantas auxiliam na redução e estabilização, tais como terpenoides, polissacarídeos, fenólicos, flavonas, alcaloides, enzimas, proteínas entre outros. Os flavanoides e fenóis são capazes de reduzir e envolver as nanopartículas, impedido sua aglomeração. Além disso, os compostos fenólicos possuem grupos hidroxilo e carboxilo que são capazes de se ligar aos metais (AHMAD et al., 2010). Vale ressaltar que fatores externos, como o estágio de desenvolvimento ou a condição da planta também podem influenciar na síntese das NPs (FAROOQUI et al., 2010). Na tabela 1, resume alguns exemplos de síntese de nanopartículas mediada por extratos vegetais.

Tabela 1 Síntese verde de nanopartículas metálicas com extratos de plantas.

Planta	NPs	Parte da planta	Tamanho	Referência
<i>Aloe vera</i>	Au, Ag	folha	50–350 nm	Chandran et al., 2006
<i>Anacardium occidentale</i>	Au/Ag bimetálica	Folha	6 nm a 27 °C; 17 nm a 100 °C	Sheny et al. (2011)
<i>Azadirachta indica</i>	Pt Ag/Au bimetálica	Folha	5-50nm	Thirumurugan et al., 2016
<i>Calendula officinalis</i>	Ag	Semente	5-10nm	Baghizadeh et al., 2015
<i>Diospyros sylvatica</i>	Ag	Raiz	8nm	Pethakamsetty et al., 2016
<i>Datura stramonium</i>	Ag	Folha	15-20nm	Gomathi et al., 2017
<i>Eucalyptus hybrid</i>	Ag	Folha	50-150nm	Dubey et al. (2009)
<i>Ginkgo Biloba</i>	Ag	Folha	10-16nm	Ren et al., 2016
<i>Gloriosa superba</i>	Ag/Au bimetálica	Folha	20nm 10nm	Gopinath et al., 2016
<i>Moringa oleifera</i>	Ag	Folha	57nm	Prasad and Elumalai (2011)
<i>Rubus ellipticus</i>	Ag	Folha	25nm	Alqahtani et al., 2017
<i>Sambucus nigra</i>	Ag	Fruta	26nm	Moldovan et al., 2016
<i>Vigna sp</i>	Ag	Semente	70nm	Mohammadi et al., 2016

Dentre as aplicações das nanopartículas sintetizadas com o método verde, podemos destacar o trabalho desenvolvido por Sathishkumar e colaboradores (2012). Eles avaliaram a atividade das nanopartículas de prata com extrato da folha *Morinda citrifolia* contra uma vasta

gama de agentes patogênicos tais como *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter aerogenes* (Gram-negativa), *Bacillus cereus*, e *Enterococcus sp.* (Gram-positiva). A atividade anticancerígena também foi avaliada, AgNPs de *Melia azedarach* foram testadas quanto sua citotoxicidade *in vitro* contra células HeLa. O valor da dose letal mediana LD₅₀ das nanopartículas foi de 300µg/mL menor que a LD₅₀ do fármaco anticâncer padrão, 5-Fluoro Uracil (5-FU) que foi de 600µg/mL/100mM, além disso, a nanopartículas não exibiu citotoxicidade contra as células da mama (HBL 100) na concentração mais baixa testada. (SUKIRTHA et al., 2012). Atividade antioxidante também foi avaliada usando nanopartículas sintetizadas a partir da semente *Trachyspermum copticum* no qual eliminou o radical DPPH que foi cinco vezes mais eficaz do que hidroxianisole butilado (BHA) (RAGHUNANDAN et al., 2011b).

3 *Anacardium microcarpum* Ducke

A planta *Anacardium microcarpum* Ducke conhecido popularmente como cajuí, é uma planta originária no Brasil, especialmente da região Nordeste (Figura 1) (AGOSTINI-COSTA et al., 2003, 2004). O *A. microcarpum* pertence à família Anacardiaceae, é uma espécie arbustiva de caule tortuoso, apresenta uma altura média variando 25 a 30 m de altura. Suas folhas são simples, ovalada-lanceoladas, curtamente pecioladas. Inflorescências do tipo panícula formada por flores pequenas (BRAGA, 1979). Os pedúnculos (pseudofrutos) são pequenos, carnosos e doces quando maduros, e as castanhas (frutos verdadeiros) são extremamente saborosas (CAVALCANTE, 1996).

Figura 1- *Anacardium microcarpum* D.

Fonte: Arquivo pessoal do autor



Na medicina tradicional do nordeste brasileiro, as infusões de casca de *A. microcarpum* são bastante utilizadas como tônica para o tratamento de inflamações, reumatismo, tumor e doenças infecciosas, sendo que tais enfermidades estão associadas ao estresse oxidativo (BARBOSA FILHO et al., 2014). Além disso, essa espécie tem grande importância econômica, pois é utilizada principalmente para a alimentação, uma vez que a castanha tem as mesmas características e usos do cajueiro comum do *Anacardium occidentale* L., em que a amêndoa e o pedúnculo são consumidos *in natura* ou sob a forma de sucos, doces e geleias (RUFINO et al., 2008).

O *A. microcarpum* apresenta em sua composição compostos fenólicos, flavonoides, taninos, saponinas, alcaloides, açúcar orgânico e açúcar redutor, os quais têm sido associados a atividade antimicrobiana (LAI et al., 2004; SOHM et al., 2004). Estudo desenvolvido por Muller e colaboradores (2013), avaliaram o efeito do extrato etanólico obtidos da casca do caule do *A. microcarpum* em modelo de indução de Parkinsonismo por Paraquat em *Drosophila melanogaster* e demonstrou baixa toxicidade e seu potencial neuroprotetor atribuído pelo menos em parte, à ação antioxidante desta espécie.

3 TÉCNICAS DE CARACTERIZAÇÃO DE NANOPARTÍCULAS

A nanopartículas geralmente são caracterizadas pelo seu tamanho de partícula, forma, cristalinidade, dimensões, tamanho e área de superfície (Tabela 2). A caracterização é realizada através de várias técnicas, tais como espectrofotometria UV-visível, espalhamento dinâmico de luz (DLS), microscopia eletrônica de transmissão e varredura (MET, MEV), Microscopia de Força Atômica (AFM), Difração de Raios-X (DRX), Espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR), espectroscopia de Fotoelétrons Excitados por Raios X (XPS) (CHOI et al., 2007; YOOSAF et al., 2007; HUTTER e FENDLER, 2004; SUN et al., 2000; VILCHIS-NESTOR et al., 2008; YEO et al., 2003; ZHANG et al., 2004, 2006; CHIMENTAO et al., 2004; HE et al., 2004; KHOMUTOV e GUBIN, 2002). Em relação ao tamanho, raramente as partículas serão encontradas na sua forma primária e isolada, mas sim formando aglomerados que variam de tamanhos, que ocorrem através da mudança como força iônica e do pH (LIMBACH et al., 2005; WÖRLE-KNIRSCH et al., 2007).

Tabela 2. Técnicas de caracterização de nanopartículas

Técnica	Características	Referências
Espectrofotometria UV-visível	Formação da amostra mostrando a ressonância de <i>plasmon</i> de superfície	Kaye et al., 1980
Espalhamento dinâmico de luz (DLS)	Tamanho de partículas (suspensão), distribuição por tamanhos	Bootz et al., 2004
Potencial Zeta (ζ)	Carga superficial e estabilidade coloidal	Hunter et al., 2011.
Análise por rastreamento de nanopartículas (NTA)	Concentração das partículas e o seu tamanho médio	ARANCON et al., 2014
Microscopia de força atômica (AFM)	Boa resolução/imagens 3D, só analisa a superfície	Powers et al., 2006
Microscopia eletrônica de varredura (MEV)	Morfologia da superfície, tamanho das partículas	Bootz et al., 2004
Microscopia de transmissão eletrônica (MET)	Tamanho e forma	Powers et al., 2006
Difração de raios-X (DRX)	Estrutura cristalina, tamanho da partícula	Limbach et al., 2005
Espetroscopia fotoeletrônica de raios X (XPS)	Análise química da superfície	Heide et al., 2011

4 APLICAÇÕES DAS NANOPARTÍCULAS

As propriedades e as aplicações das nanopartículas são moduladas pela sua forma e tamanho, fazendo-se fundamental o controle destes parâmetros no momento da síntese. Dentre as aplicações destacam-se a medicina diagnóstica (biossensores de alta eficiência, imagem); farmácia (sistemas de entrega de fármacos e cosméticos); indústria alimentícia e têxtil (embalagens e roupas com propriedades antimicrobianas); energia (painéis solares); biorremediação, entre outros (KUMAR e YADAV, 2009; THIRUMURUGAN e DHANARAJU, 2011; INGALE, 2013). As nanopartículas metálicas são amplamente utilizadas como agentes antimicrobianos por apresentar uma grande área superficial e à crescente resistência microbiana dos íons metálicos. Entre as nanopartículas metálicas, as nanopartículas de prata (AgNPs) são amplamente utilizadas, pois apresentam propriedades como estabilidade química e boa condutividade. Dentre as atividades biológicas encontradas na literatura estão a

antimicrobiana, catalítica, antiviral, antifúngica e anti-inflamatória, podendo ser aplicadas em cosméticos (cremes tópicos e sprays), indústria alimentícia e têxtil (tecidos anti-sépticos) e componentes eletrônicos (AHMAD et al., 2003; KLAUS-JOERGER et al., 2001). Diversos são os tipos de bactérias que as nanopartículas apresentam atividade, tais como: *Staphylococcus aureus*, *S. epidermidis*, *Salmonella typhi*, *Escherichia coli* e *Pseudomonas aeruginosa*. (MORONES, 2005; GAJBHIYE et al., 2009). Além disso, possui atividade contra alguns vírus, sendo o mecanismo de inativação semelhante ao processo observado em bactérias, podendo ser pela interação com proteínas presentes na superfície do vírus ou através da interação com o genoma viral (DNA ou RNA) (GALDIERO et al., 2011).

5 CONCLUSÃO

Vários métodos químicos, físicos e biológicos têm sido utilizados na síntese de nanopartículas metálicas. Os métodos químicos e físicos são os mais utilizados, porém o método de síntese verde tem sido reportado na literatura, devido ser um método mais sustentável, de baixo custo, gerando produtos menos tóxicos, aumentando sua biocompatibilidade. Diversos organismos são utilizados, porém, as nanopartículas sintetizadas por extratos vegetais são mais estáveis em relação aos outros métodos, devido as biomoléculas (proteínas, alcaloide, flavonoides, terpenoides, polissacarídeos, compostos alcoólicos e vitaminas) presentes ocasionam a redução e estabilidade. O campo de aplicação das nanopartículas vai desde a medicina à engenharia, criando infinitas possibilidades para seu uso.

CAPÍTULO II

SÍNTESE, CARACTERIZAÇÃO E AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA E ANTIOXIDANTE DE NANOPARTÍCULAS PRODUZIDAS POR SÍNTESE VERDE MEDIADA POR EXTRATO DA CASCA DO *A. microcarpum*

1 INTRODUÇÃO

A capacidade de manipular materiais biológicos para a síntese de nanopartículas tem sido foco de pesquisas científicas. As aplicações dos nanomateriais abrangem diversas áreas do conhecimento tais como a Química, a Física, a Biologia, a Computação, as Engenharias e a Medicina, aumentando a capacidade de armazenamento e processamento de dados dos computadores, criando novos mecanismos para a produção de fármacos, na criação de materiais mais leves, baratos e mais resistentes, na economia de energia e na preservação do meio ambiente (BORSCHIVER et al., 2005; MEDEIROS, et al., 2006).

Dentre as nanopartículas de interesse científico, destacam-se as nanopartículas de prata (AgNPs), um tipo de nanopartícula metálica que tem sido aplicada nos mais diversos setores biotecnológicos devido às suas propriedades ópticas, elétricas e biológicas únicas. Elas oferecem uma série de aplicações em vários campos, incluindo catálise, eletrônica e biologia (PRABHU e POULOSE, 2012; RAI, 2013). As nanopartículas de prata podem ser sintetizadas por via química e física. No entanto esses métodos envolvem o uso de produtos químicos perigosos e tóxicos que podem ser prejudiciais à saúde humana e ao meio ambiente. De modo a contornar esses efeitos, recorreu-se ao uso de materiais biológicos, como plantas e microrganismos, que apresentam protocolos de síntese simples, de baixo custo, biocompatíveis, não tóxicos, podendo ser produzidos em larga escala (RAMYA e SUBAPRIYA, 2012).

Entre os insumos utilizados na síntese verde de nanopartículas, os extratos provenientes de plantas têm sido bastante reportados na literatura, por atuar tanto como agentes químicos redutores quanto como agentes estabilizantes (MITTAL et al., 2013; INGALE, 2013). No que concerne à parte da planta utilizada para a realização da síntese verde de nanopartículas metálicas, o extrato proveniente das folhas é a escolha mais comum, mas também há estudos reportando o uso de sementes (LUKMAN et al., 2011; VIJAYARAGHAVAN et al., 2012), raízes (GNANADESIGAN et al., 2012), cascas (SATHISHKUMAR et al., 2009; SHAMELI,

K. et al., 2012; VELAYUTHAM et al., 2013), flores (MITTAL et al., 2012; NETHRADEVI et al., 2012) e frutos (QUELEMES et al., 2013).

O *Anacardium microcarpum* D., conhecido popularmente como cajuzeiro é uma planta nativa do Brasil, encontrado principalmente na região Nordeste. É bastante utilizado na medicina tradicional. As infusões das cascas são utilizadas para o tratamento de inflamações, reumatismo, tumores e doenças infecciosas (ALEXANDRE, 2008; TEDONG, et al., 2010). Estudos realizados por Barbosa-Filho e colaboradores (2014) mostraram atividade antioxidante do extrato da casca *A. microcarpum*, e a atividade não citotóxica frente a leucócitos e eritrócitos humanos *in vitro*.

No presente estudo, relatamos a síntese verde de nanopartículas de prata utilizando o extrato hidroetanólico da casca do *A. microcarpum* bem como sua avaliação das atividades antioxidante e antimicrobiana.

2 MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 Preparação do extrato hidroetanólico da casca do *A. microcarpum*

As cascas do caule do *A. microcarpum* foram coletadas na cidade Ilha Grande de Santa Isabel – Piauí. Para a produção do extrato hidroetanólico, as cascas, *in natura*, foram lavadas em água corrente para eliminação de resíduos, desidratadas em estufa a 40° C e trituradas em moinho de facas. No processo de maceração, foram utilizadas 50g de casca para um volume de 500 ml de solução extratora (Etanol+H₂O em uma proporção de 70:30 v/v) por 48h, ao final do processo, a solução foi filtrada e concentrada em evaporador rotativo (55°C) até completa evaporação do etanol. A solução concentrada foi congelada e posteriormente liofilizada para obtenção do extrato hidroetanólico da casca. O rendimento obtido do extrato das cascas foi de 16,4% (RIBEIRO et al., 2016).

2.2 Síntese de nanopartículas de prata

O extrato da casca nas concentrações (0,1% e 0,4% m/v) foi disperso em água deionizada e a esta solução foi adicionado solução de nitrato de prata (AgNO₃ 1mM) na proporção de 1:1 v/v. Para avaliar o efeito do pH, as soluções do extrato foram previamente ajustadas para pH 4, 7, 10 ou 11 antes da adição do nitrato de prata. Após a adição do sal de

prata, o sistema permaneceu sob agitação por 24 horas para as AgNPs (1a, 1b, 1c e 1d) e 2 horas de agitação para as AgNPs (2a e 2b) . A tabela 1, mostra a denominação das nanopartículas de acordo com a concentração do extrato e o pH.

Tabela 1: Identificação das nanopartículas sintetizadas com extrato hidroetanólico de *A. microcarpum*.

Nanopartícula	AgNP 1a	AgNP 1b	AgNP 1c	AgNP 1d	AgNP 2a	AgNP 2b
Concentração do extrato	0,1%	0,1%	0,1%	0,1%	0,4%	0,4%
pH	4	7	10	11	10	11

3 CARACTERIZAÇÃO

3.1 Caracterização por Espectroscopia de UV-Visível

As medidas de absorvância através da técnica de Espectroscopia de UV-Visível permitiram a caracterização das nanopartículas, devido as suas características ópticas. Aproximadamente 1 mL da amostra foram adicionados em uma cubeta de quartzo e diluídas em água na proporção 1:5, para que o pico de absorção permanecesse dentro do limite de detecção do espectrofotômetro. As varreduras foram executadas entre 300 a 800 nm. As análises de UV-visível foram realizadas no espectrofotômetro do Laboratório de Biodiversidade e Biotecnologia (BioTec) na Universidade Federal do Piauí, modelo U-1800, marca Hitachi.

3.2 Potencial Zeta

O potencial zeta das nanopartículas de prata (AgNPs) foram determinados por DLS utilizando o equipamento Malvern Zetasizer NanoZS, Versão Software 7.1.1. O potencial zeta foi determinado por meio da medida da direção e velocidade do movimento de uma partícula em um campo elétrico bem definido (HOLMBERG et al., 2002). As análises foram realizadas no Laboratório Interdisciplinar de Materiais Avançados (LIMAV) na Universidade Federal do Piauí.

3.3 Análise por rastreamento de nanopartículas (NTA)

A análise de rastreamento de nanopartículas (NTA) foi realizada utilizando um instrumento NanoSight NS 300 com um modulo de laser de 642 nm e software NTA 3.2, para

obter o diâmetro e concentração de partículas suspensas. Tomou-se uma alíquota usando uma seringa de plástico e injetou-se lentamente na câmara de amostra (aproximadamente 1 mL). Assegurando-se de que não houvesse bolhas de ar visíveis e partículas aderidas às paredes da câmara, o foco e o nível da câmara foram ajustados para obter a melhor visão possível das partículas, seguindo as orientações fornecidas pelo fabricante do equipamento. Cinco vídeos de 1 minuto de comprimento foram capturados, avançando a amostra o suficiente para que um conjunto previamente não medido de nanopartículas pudesse ser capturado pela câmera antes de iniciar cada vídeo. Isto permitiu a medição de um maior número de partículas diferentes da alíquota. As definições de análise, nomeadamente o limiar de detecção, foram definidas em função da intensidade da luz difusa observada nos vídeos capturados. Para todas as formulações, foram feitas diluições 1: 100 em água ultrapura. Cada um dos vídeos foi analisado independentemente e os resultados são automaticamente mesclados em um gráfico de distribuição de tamanho de partícula.

3.4 Análise por Espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR)

As nanopartículas e seus extratos correspondentes foram secos usando nitrogênio (N₂ (g)). A identificação foi realizada por infravermelho de transformada de Fourier (FTIR) usando um espectrofotômetro Thermo Nicolet 6700 com a técnica de reflexão total atenuada (ATR) na faixa espectral de 4000 a 650 cm⁻¹.

3.5 Microscopia eletrônica de transmissão (MET)

Para análise de microscopia eletrônica de transmissão, 10 µL das amostras foram montadas em grades de níquel revestidas por película Formvar / carbono (Electron Microscopy Sciences, Hatfield, PA, EUA) e deixadas em repouso durante 2 min. O líquido em excesso foi removido com papel de filtro. A visualização foi realizada em um microscópio JEOL JEM 1400 TEM a 120 kV (Tóquio, Japão). As imagens foram gravadas digitalmente utilizando uma câmara digital CCD Orious 1100W Tóquio, Japão no HEMS / i3S da Universidade do Porto.

3.6 Atividade Antioxidante (DPPH)

A atividade sequestradora de radicais livres DPPH (2,2-Diphenyl-1-picryl-hidrazil), das nanopartículas sintetizadas com o extrato hidroetanólico da casca do *A. microcarpum* em

diferentes concentrações, foi avaliada de acordo com o método descrito por Brand-Williams et al. (1995), com modificações. Cento e sessenta microlitros das AgNPs foram misturados com 830 μL de DPPH a 0,3 mM em etanol. A mistura foi deixada em repouso à temperatura ambiente durante 30 minutos no escuro. O controle negativo foi de 830 μl de 0,3 mM DPPH com 170 μL de água, enquanto que o ácido ascórbico foi utilizado como controle positivo. A absorbância foi medida a 517 nm usando espectrofotômetro Shimadzu UV-180.

As atividades antioxidantes das AgNPs foram expressas em porcentagem de redução do DPPH obtida pela Equação 1, onde AC (absorbância da solução de DPPH sem a amostra) e AS (absorbância da amostra com o DPPH). Os resultados serão apresentados em Concentração de Inibição de 50% (IC_{50}).

$$\mathbf{DPPH\ Scavenged = \left(AC - \frac{AS}{AC} \right) X 100} \quad (1)$$

O valor de IC_{50} , definido como a concentração mínima de antioxidante necessária para reduzir em 50% a concentração inicial de DPPH, foi calculado através de regressão linear do gráfico de porcentagem de inibição do DPPH (eixo y) versus concentração dos extratos (eixo x) (BRAND-WILLIAMS et al., 1995).

3.7 Concentração Inibitória Mínima (CIM)

Para estudar as propriedades antibacterianas das AgNPs foram selecionadas duas bactérias: Gram-positiva (*Staphylococcus aureus* ATCC 29213) e Gram-negativa (*Escherichia coli* ATCC 25922). Os micro-organismos foram cultivados em caldo de Mueller-Hinton ágar a 37 °C durante 24 horas em condições aeróbicas. Em seguida, uma suspensão das amostras bacterianas foi diluída e comparado com a escala McFarland de 0,5 ($1-2 \times 10^8$ UFC/mL), preparada em uma solução cloreto de sódio isotônico 0,85%. Depois disso, esta solução foi diluída dez vezes (1×10^7 UFC /mL) e usadas como inóculo nos ensaios.

A Concentração Inibitória Mínima (CIM) foi determinada de acordo com CLSI (2012) com algumas adaptações, utilizando placa de 96 poços de microdiluição onde 5×10^5 UFC/mL das bactérias foram expostas a uma microdiluição seriada de razão dois das AgNPs em que a concentração variou de 250 a 31,2 $\mu\text{M}/\text{Ag}/\text{mL}$. O mesmo procedimento foi utilizado para determinar a CIM do AgNO_3 com a concentração variando 250 a 31,2 $\mu\text{M}/\text{Ag}/\text{mL}$ e do extrato da casca variando 250 a 31,2 $\mu\text{g}/\text{Ext}/\text{mL}$.

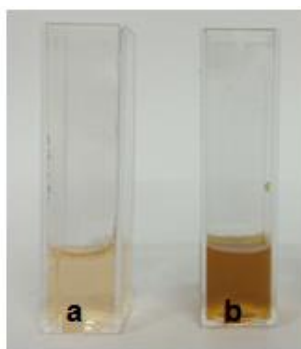
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Espectroscopia UV-Visível

Na síntese de nanopartículas, vários parâmetros podem ser avaliados juntamente com sua otimização, tais como tempo de reação, pH do meio, temperatura e concentração de reagentes, interação partícula-partícula e forma e tamanho do produto final. Dentre esses parâmetros, o tempo de reação, o pH de síntese e concentração de extrato foram monitorados por espectroscopia UV-vis na região de 330 a 800nm. Conforme descrito na literatura, a técnica espectroscopia na região do visível é realizada tipicamente para confirmação preliminar da formação das nanopartículas. Isso ocorre, pois as nanopartículas formadas apresentam espectros eletromagnéticos característicos devido à ressonância plasmônica de superfície (SPR) (BAKER, 2013).

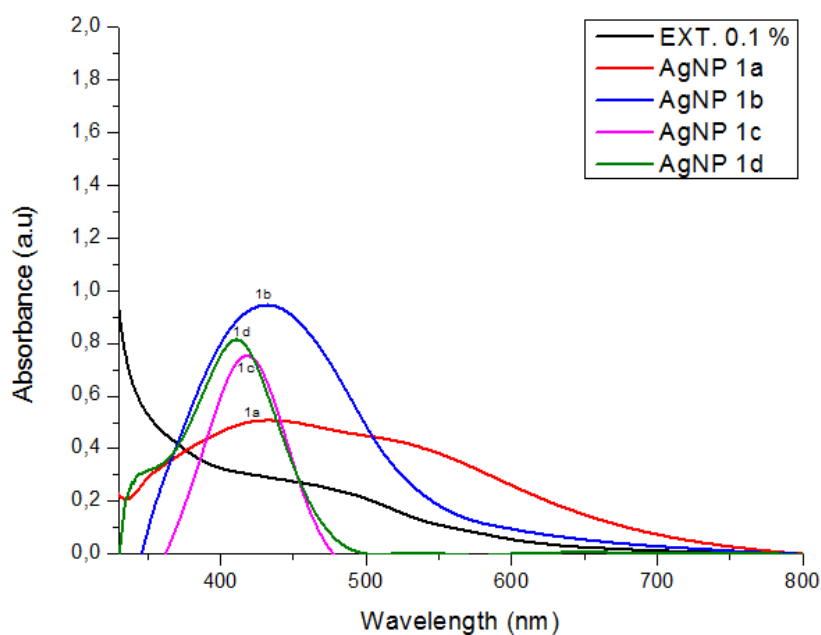
A formação das AgNPs por síntese verde utilizando o extrato hidroetanólico das cascas da planta *A. microcarpum* na concentração 0,1% a partir da mistura da solução de AgNO_3 foi realizada verificando a variação do pH de síntese nos valores 4,7,10 e 11. Quando o sal de prata foi adicionado ao extrato resultou na mudança de cor de amarelo para castanho, como mostrado na figura 1. A alteração da cor é devida a presença de nanopartículas de prata formadas pela redução do sal de prata que ocorreu devido à presença de agentes redutores. Sathishkumar e colaboradores (2009) realizaram um estudo com a casca do caule de *Cinnamom zeylanicum* e relataram que agentes redutores naturais como terpenoides foram os responsáveis pela redução de sal de prata para a formação das AgNPs.

Figura 1. Imagens da suspensão coloidal das AgNPs usando extrato da casca *A. microcarpum* onde (a) Extrato, (b) AgNP.



Na figura 2 verifica-se as bandas plasmônicas em torno de 417, 433, 410 e 417nm, respectivamente para as nanopartículas sintetizadas a pH 4,7,10 e 11. À medida que o pH diminui observa-se alargamento na banda de ressonância plasmônica. A alteração no pH afeta a forma e o tamanho das partículas, pois o pH tem a capacidade de alterar a carga de biomoléculas, o que pode afetar o seu nivelamento, bem como habilidades estabilizadoras. Verma e colaboradores (2016) avaliaram o pH do extrato da folha de *A. indica* (Neem) numa faixa de 9 a 13, e observaram que as AgNPs formadas com pH maior apresentaram uma intensidade de absorção elevada quando comparados aos outros valores de pHs, indicando que o pH alcalino é mais favorável para a síntese de nanopartículas.

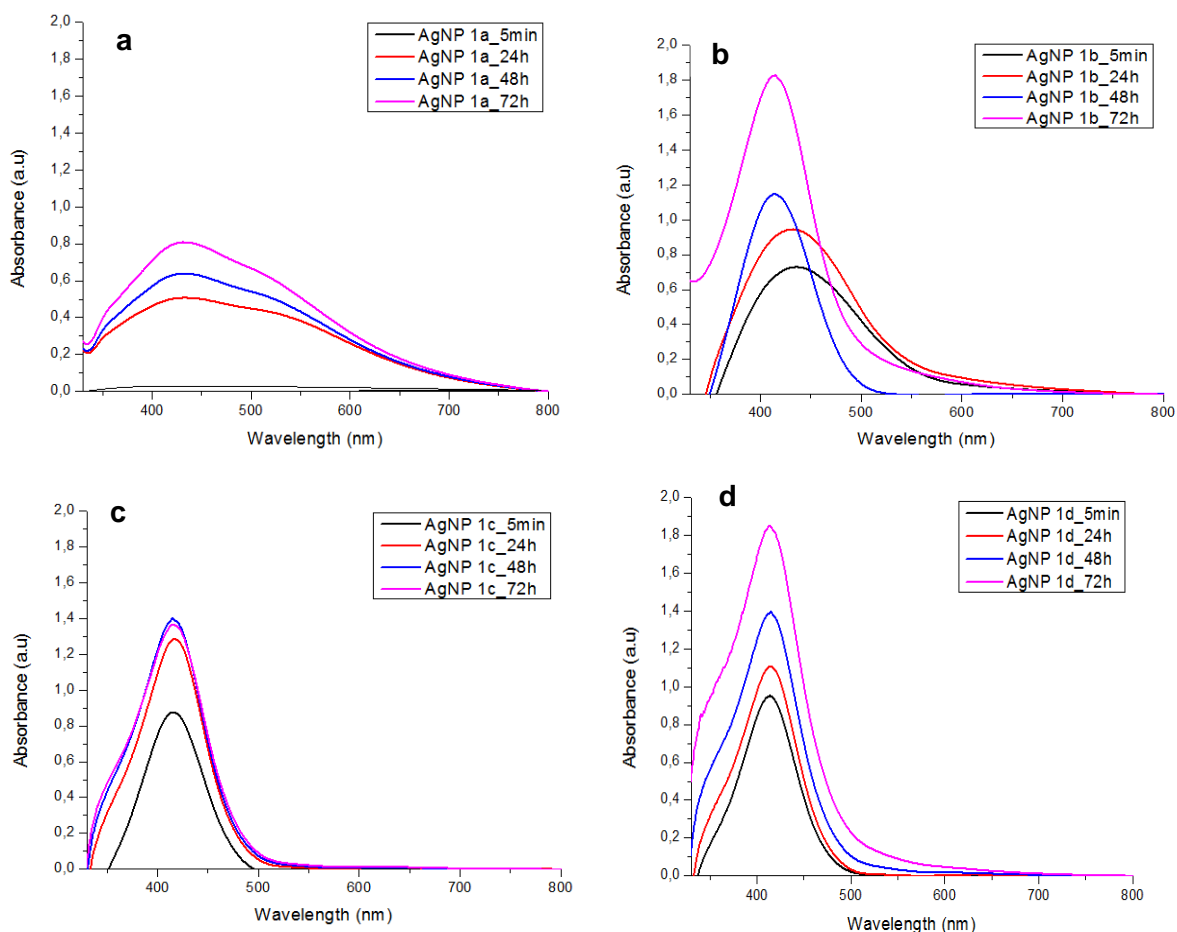
Figura 2. Espectro de UV-Vis de nanopartículas de prata com extrato de *A. microcarpum* variando os valores de pH: (AgNP 1a) pH 4, (AgNP 1b) pH 7, (AgNP 1c) pH 10 e (AgNP 1d) pH11.



Além da avaliação do efeito do pH na síntese de nanopartículas foram verificadas ainda o efeito do tempo de reação, no intervalo de 5 minutos, 24, 48 e 72 horas. Após o tempo de 5 minutos, para as nanopartículas sintetizadas com pH 4, pode-se observar que não houve formação da banda plasmônica, indicando que o tempo de reação não foi suficiente para a redução da prata (figura 3a). Nota-se na figura 3b-d, que com o aumento do pH de síntese, ocorre um estreitamento da banda plasmônica para comprimento de onda variando de 350 a 500nm. Além disso, com o passar do tempo de reação de formação das nanopartículas, observou-se um aumento na absorção. Esse resultado pode ser atribuído ao fato de que, o

prolongamento do tempo da reação para as amostras preparadas, ocasiona aumento na intensidade plasmônica, indicando que íons de prata são reduzidos. Os resultados estão correlacionados aos de Shankar et al. (2004), pois com a passagem do tempo, a intensidade da banda SPR aumentou sem qualquer mudança no comprimento de onda do pico. Assim, as condições desejadas para a formação das nanopartículas seria com maiores valores de pH (10 e 11) e com o tempo de síntese de 24 horas.

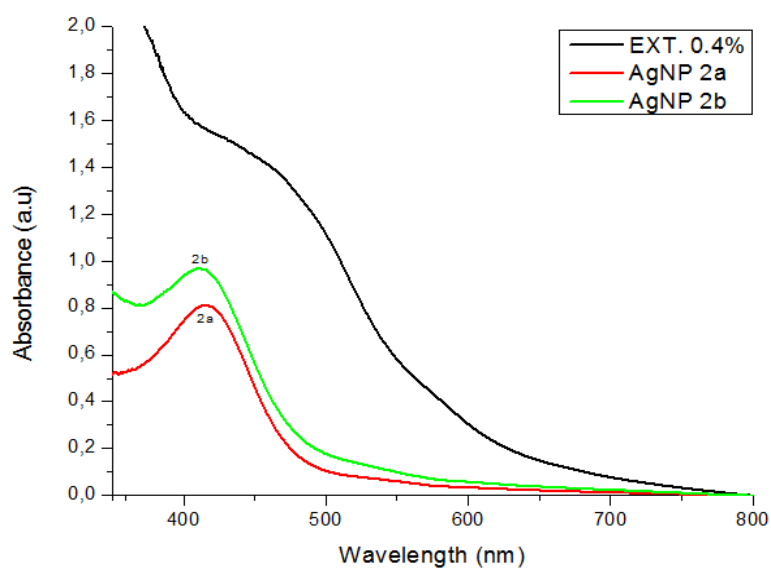
Figura 3. Espectro de UV-Vis de nanopartículas de prata com extrato de *A. microcarpum* com tempos de reação: (a) AgNP 1a, (b) AgNP 1b, (c) AgNP 1c e (d) AgNP 1d nos tempos 5min, 24,48 e 72 horas.



A fim de verificar o efeito da concentração do extrato no processo de formação de nanopartículas, a concentração do extrato foi estudada com o valor de 0,4%, com o valor de pH variando 10 e 11. Na figura 4, pode-se observar a presença da banda plasmônica em 415 e 412 nm para as AgNPs 2a e 2b. Observa-se que a AgNP 2b apresentou absorvância maior que AgNP

2a. Essa intensidade da banda está diretamente relacionada com a quantidade de nanopartículas presentes em solução (LEFF et al., 1995).

Figura 4. Espectro de UV-Vis de nanopartículas de prata com extrato de *A. microcarpum* com a concentração do extrato 0,4%: (a) AgNP 2a- pH 10 e (b) AgNP 2b- pH 11 com o tempo de reação 2 horas.



A concentração e o tempo de reação do agente redutor da prata foram fatores determinantes para a síntese das nanopartículas. Observando os gráficos de absorção do UV-vis, podemos notar que houve formação das nanopartículas ao utilizar o extrato com a maior concentração (0,4%) em tempo de reação de 2 horas, e sendo este tempo inferior quando comparado a síntese com a concentração 0,1% que precisou de 24 horas para a formação das AgNPs. Conforme descrito por Kasthuri et al. (2008), a diferença na síntese de acordo com as concentrações do extrato pode ocorrer, visto que concentrações maiores tendem a favorecer a rápida redução do sal metálico. SONG (2009) e SARKAR (2009) relataram que concentrações maiores do extrato e os tempos menores de reação favorecem a produção de nanopartículas menores, ocorrendo a formação de grandes quantidades de pequenos núcleos de AgNPs, formando partículas menores e possivelmente levando ao retardo do crescimento dessas nanopartículas.

Alguns estudos já foram realizados sintetizando nanopartículas metálicas com o extrato da folha e o exsudato do *A. occidentale*. Shen y e colaboradores (2011) mostraram o uso do

extrato aquoso da folha do *A. occidentale* para formação de nanopartículas de Au, Ag e Au-Ag. A SPR para AuNP foram obtidas em 529nm e 526nm e as AgNP obtiveram uma absorção 420nm e 422nm. Além da folha, o exsudato também foi objeto de estudo para sintetizar AgNPs onde a absorbância obtida foi no comprimento de onda de 420nm. Correlacionando a este estudo, podemos observar, que ambos os estudos obtiveram valores da banda plasmônica de superfície, muito próximo as nanopartículas sintetizadas com a casca do cajuí.

Os principais fitoquímicos responsáveis por converter íons de prata a prata zero durante a síntese de nanopartículas são usualmente os terpenóides, glicosídeos, alcaloides e compostos fenólicos (flavonoides, cumarinas, ubiquinonas, taninos, etc.) (MARISELVAM et al., 2014; KRISHNARAJ, et al., 2006). Na composição química do extrato hidroetanólico da casca do *A. microcarpum* foi comprovada a presença de saponinas, fenóis, taninos, flavonoides, açúcar orgânico e açúcar redutor (RIBEIRO et al., 2016). É bem estabelecido na literatura o fato de compostos fenólicos tem papel determinante na redução de íons de prata (ARUNACHALAM et al., 2013). Tendo-se em vista a composição acima relatada, a redução de Ag^+ para Ag^0 usando o extrato da casca do *A. microcarpum* pode ser atribuída à presença desses compostos, onde os mesmos desempenham um papel de agente redutor e estabilizante sem qualquer envolvimento de produtos químicos adicionais.

Com base nos resultados obtidos por espectroscopia de uv-visível, algumas amostras foram selecionadas para dar prosseguimento ao estudo. Para as nanopartículas sintetizadas na concentração 0,1%, foram selecionadas duas nanopartículas (AgNP 1c e AgNP 1d). Já para as nanopartículas sintetizadas com concentração 0,4% foram selecionadas (AgNP 2a e AgNP 2b), para os testes de potencial zeta, análise por rastreamento de nanopartículas, Espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier, Microscopia Eletrônica de Transmissão e os testes antioxidante e antimicrobiano.

4.2 Potencial Zeta

A determinação do valor de potencial zeta para sistemas coloidais e nanopartículas tem grande importância, pois este pode ser relacionado a estabilidade das mesmas. Como mostrado na Tabela 3, todas as suspensões têm potenciais zeta carregadas negativamente em meio aquoso fato este que pode ser atribuído a composição do extrato. O valor obtido para o extrato apresentou resultado negativo (-27,6 mV).

Para AgNP 1c-d, os valores foram de -56,0 e -49,7mV e para as AgNP 2a-b os valores foram de -52,4 e -51,3mV. Segundo Ribeiro e colaboradores (2011) quanto maior o potencial zeta, maior a tendência da suspensão à estabilidade, pois as partículas carregadas se repelem entre si, com uma força que supera a tendência natural de agregação. Este é influenciado principalmente pela concentração eletrolítica e pelo pH da suspensão coloidal.

Tabela 3. Potencial Zeta das nanopartículas sintetizadas por extratos da casca do *A. microcarpum* nas concentrações 0,1% e 0,4% (AgNP 1c-d e AgNP 2a-b).

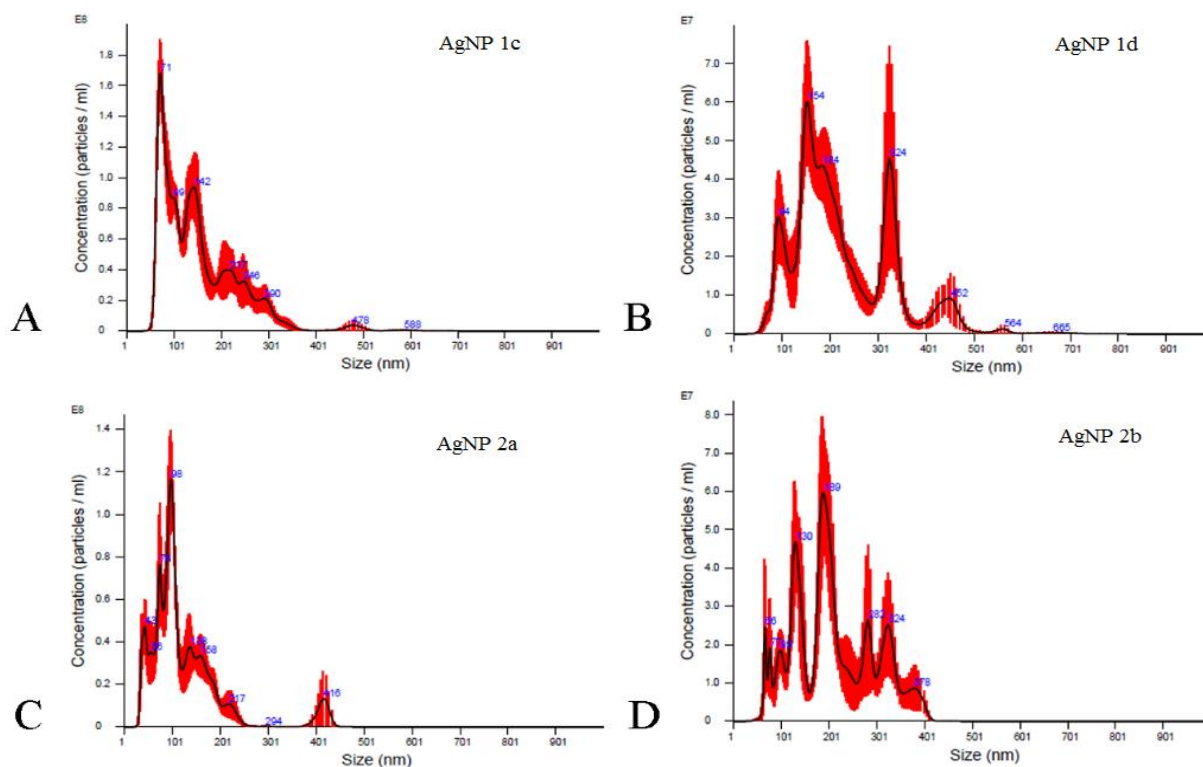
Amostra	Zeta Potencial (mV)
AgNP 1c	-56,0
AgNP 1d	-49,7
AgNP 2a	-52,4
AgNP 2b	-51,2
Extrato	-27,6

4.3 Análise por rastreamento de nanopartículas (NTA)

A análise de rastreamento de partículas (NTA) é um método usado para a análise e visualização direta de nanopartículas baseado no movimento Browniano, identificando e detectando partículas em solução, permitindo efetuar o cálculo do diâmetro hidrodinâmico, a distribuição do tamanho das partículas em solução e vídeos que registram o movimento individual das partículas e que, portanto, fornecem informações sobre suas características.

Analisando os resultados através da técnica de NTA (Figura 5a-d), as AgNP 1 c-d apresentaram um tamanho médio de $72,9 \pm 3,5$ nm e $172,0 \pm 41,5$ nm respectivamente para a síntese a pH 10 e 11 e para AgNP 2 a-b $93,0 \pm 4,7$ nm e $208,3 \pm 24,2$ nm respectivamente para a síntese a pH 10 e 11. Pode-se verificar que as nanopartículas apresentaram menores valores de tamanho para a síntese a pH 10 em ambas as concentrações de extrato empregadas. Entretanto, para todos os sistemas foi observado distribuição multimodal com mais de uma população de tamanho.

Figura 5. Análise quantitativa do tamanho de partícula por análise de rastreamento de nanopartículas (NTA) para (A) AgNPs-1c ($8,91 \times 10^9$ partículas/mL), (B) AgNPs-1d ($3,30 \times 10^9$ partículas/mL), (C) AgNPs-2a ($6,20 \times 10^9$ partículas/mL), (D) AgNPs-2b ($2,82 \times 10^9$ partículas/mL).



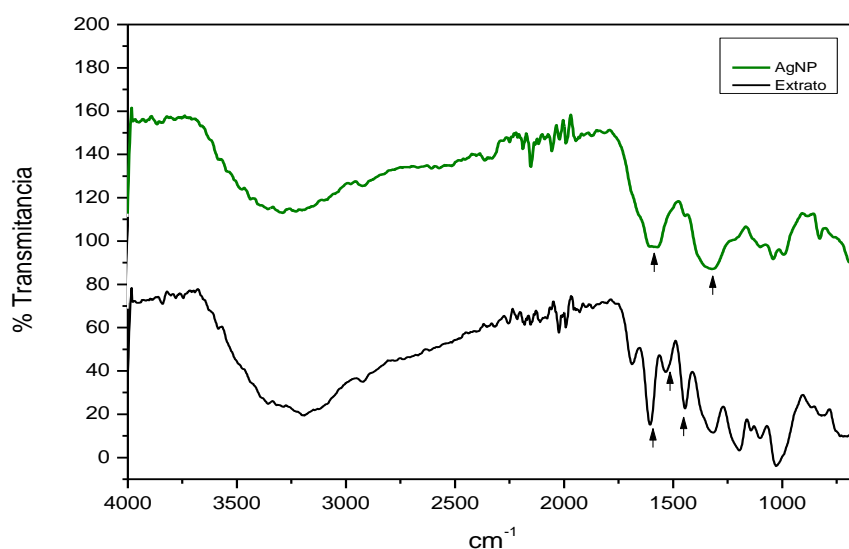
4.4 Estudos Espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR)

As nanopartículas foram analisadas por FTIR a fim de investigar a presença ou ausência de alguns grupos funcionais que contribuem para a redução dos íons Ag^+ a Ag^0 , e, por conseguinte, na formação das AgNPs. Analisando a Figura 6, observa-se que há diferenças na região de $1800\text{--}1200\text{ cm}^{-1}$. As bandas centradas em 1689 cm^{-1} , 1607 cm^{-1} , 1532 cm^{-1} , 1447 cm^{-1} e 1219 cm^{-1} foram associadas com o agrupamento C=O, amida I, amida II, C-O-H de vibrações de ácido carboxílico e C-OH vibrações de polióis, respectivamente (Sheny et al., 2011). A banda larga a 3308 cm^{-1} é característica do grupo funcional hidróxi (-OH), presente em água, álcoois e compostos fenólicos. A frequência na região de 1323 cm^{-1} é atribuída à vibração de estiramento C-N de grupos amina de aromáticos (Sheny et al., 2011). No espectro obtido para a AgNp pode-se observar o deslocamento das bandas em 1607 e 3308 cm^{-1} para 1591 e 3247 cm^{-1} , bem como a diminuição de intensidade da banda em 1447 cm^{-1} e ainda um deslocamento da banda de 1323 para 1318 cm^{-1} mudanças estas que sugerem o envolvimento

de grupos amida I na redução da prata, como já relatado para AgNPs obtidas em síntese verde (CRUZ et al., 2010; KUMAR et al., 2010).

A análise de infravermelho sugere que os compostos fenólicos presentes no extrato foram também responsáveis pela redução da prata em nanopartículas. Em estudo desenvolvido por Nayak et al., (2015) foram sintetizadas nanopartículas de prata com extrato da casca *Ficus benghalensis* e *Azadirachta indica* e observaram grupos funcionais como O-H e N-H, que são os principais componentes constitucionais presentes nos flavonoides, terpenoides e fenóis e atribuíram a formação das nanopartículas de prata a esses compostos. Estudos com extrato de *Gymnema sylvestre* e *Coffea arabica* revelou, através da análise de FTIR, que os polifénóis e proteínas presentes no extrato foram os principais responsáveis pela redução e estabilização das nanopartículas (NETALA et al., 2016; DHAND et al., 2016).

Figura 6. Espectros de espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR) do Extrato do *A. microcarpum* e AgNP.

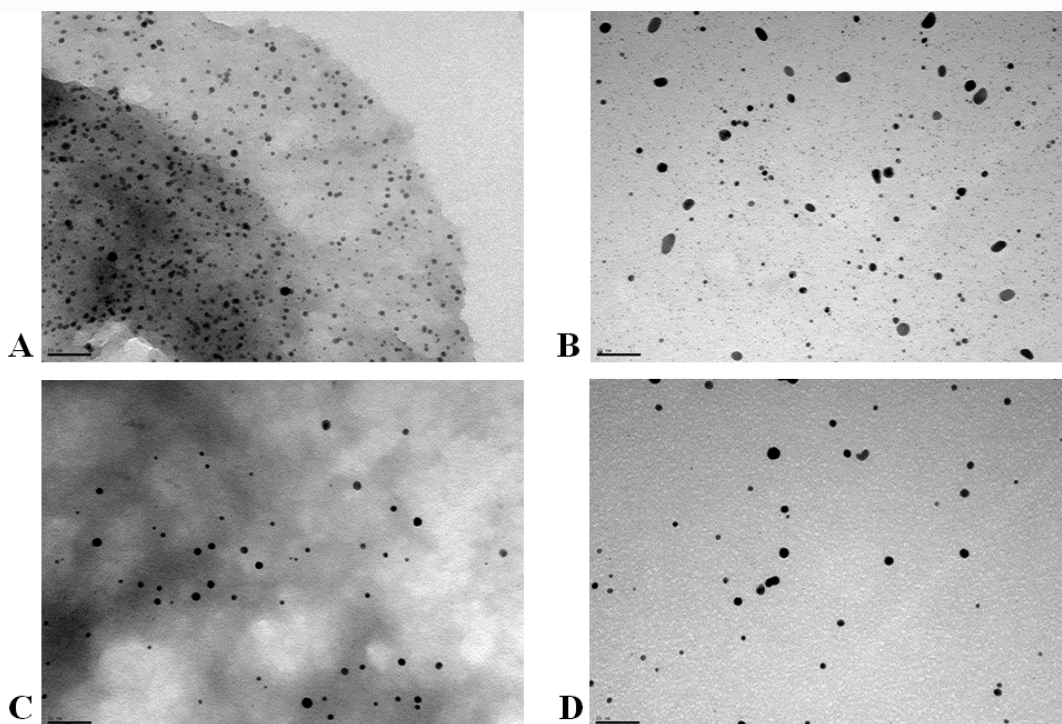


4.5 Microscopia Eletrônica de Transmissão (MET)

A morfologia das AgNPs foi avaliada por MET com alteração da concentração e pH. A figura 7 a-b representa nanopartículas com concentração 0,1% com o pH 10 e 11 e a figura 7 c-d mostra AgNPs 0,4% com pH 10 e 11. As imagens de MET das nanopartículas formadas com maior concentração mostra que as AgNPs foram escassas quando comparadas com as de menor concentração (0,1%), deduzindo que, devido a concentração do extrato ser superior ao nitrato de prata, houve a formação de poucas nanopartículas, figura 6a-d.

As nanopartículas apresentaram na sua maioria morfologia esférica, com boa dispersão e não houve agregação entre elas. Além disso, as AgNP estão cobertas de uma fina camada de material orgânicos provenientes do extrato do caule, proporcionando a estabilização (Figura 6a-d). Os resultados obtidos por microscopia são corroborados pela análise de UV-Vis, pois conforme teoria de Mie, apenas uma única banda plasmônica é esperada no espectro de absorção de nanopartículas esféricas com uma banda SPR variando de 350 a 550 (KLABUNDE, 2001). Parveen e colaboradores (2016) e Sowmyya et al., 2017, relataram no seu trabalho que os materiais orgânicos do extrato da folha de *Excelsior fraxinus* e da casca do caule de *Soymida febrífuga* foram os responsáveis pela estabilização e a não aglomeração das nanopartículas, tornando assim, os extratos das plantas candidatos promissores para a síntese verde de nanopartículas de prata.

Figura 6. Imagens MET representativas de nanopartículas (A) AgNPs 1c (B) AgNPs 1d (C) AgNPs 2a (D) AgNPs 2b, ampliação de 300000X e Barr = 50 nm.



4.6 Atividade antioxidante (DPPH)

Os antioxidantes são substâncias que retardam a velocidade da oxidação, através de um ou mais mecanismos, tais como inibição de radicais livres e complexação de metais (PIETTA,

2000). Os radicais livres são responsáveis por causar um grande número de doenças, incluindo câncer (KINNULA e CRAPO, 2004), doenças cardiovasculares (SINGH e JIALAL, 2006), distúrbios neurais (SAS et al., 2007), doença de Alzheimer (SMITH et al. 2000), envelhecimento (HYUN et al., 2006) entre outras. Os antioxidantes podem ser sintéticos ou naturais e podem ser utilizados como aditivos em gorduras e óleos em indústrias de processamento de alimento para evitar a deterioração dos alimentos (SINDHI et al., 2013).

A atividade antioxidante das nanopartículas AgNP 1c-d e AgNP 2a-b foi avaliada pelo método DPPH. Todas as amostras apresentaram atividade antioxidante (Tabela 4). Em relação aos resultados da capacidade de sequestro de radicais DPPH para as nanopartículas, observa-se um aumento dose dependente na porcentagem de inibição para as nanopartículas de prata sintetizadas. A porcentagem de inibição para as menores concentrações de AgNPs 1c-d (5 µg/mL) foi de 27,55% e 7,54% enquanto para a maior concentração 50µg/mL foi encontrado um valor de inibição de 81,85% e 36,20% respectivamente para a AgNPs 1c e AgNPs 1d. Já para as nanopartículas AgNP 2 os valores de maior inibição foram de 81,2% e 55,49%, e para menor inibição foi de 31,40% e 12,34% respectivamente AgNP 2a e AgNP 2b. Ribeiro (2016) realizou estudo com o extrato hidroalcolico da casca *A. microcarpum* nas concentrações de 100µg/mL a 10µg/mL. Foi observado que na maior concentração a inibição foi 71,28% e na menor o potencial de inibição foi 14,22%. Os valores das AgNPs 1d e 2b indicam que as nanopartículas conjugadas ao extrato tem melhor atividade antioxidante em comparação ao extrato sozinho na concentração de 10µg/mL.

Tabela 4. Porcentagem de inibição do DPPH para as AgNP 1c-d e 2a-b e a concentração inibitória mínima IC₅₀.

Concentração (µg/mL)	AgNP 1c	AgNP 1d	AgNP 2a	AgNP 2b
50	81,85	36,20	81,24	55,49
30	57,44	30,88	77,62	30,30
20	46,05	27,92	67,50	39,07
10	35,20	12,21	49,72	13,39
5	27,55	7,54	31,40	12,34
IC ₅₀ (µg/mL)	24,54	38,15	10,09	36,11

A atividade do antiradical expressa pelo parâmetro IC₅₀ é definida pela concentração necessária do antioxidante para reduzir em 50% o radical DPPH, logo quanto menor o IC₅₀,

maior a atividade antioxidante do material. Os valores de IC₅₀ para AgNP 2a foi de 10,09 μg/mL, enquanto para AgNP 1d são necessários 24,54 μg/mL para que aconteça a mesma redução do radical. Em comparação ao ácido ascórbico todas as nanopartículas apresentaram melhor resultado que o padrão que foi de 186 μg/mL. Quando comparamos os valores IC₅₀ das AgNP 1 c-d e AgNP 2a-b com o extrato da casca observamos valores menores, pois o estudo realizado por Ribeiro (2016), a concentração capaz de reduzir em 50% foi de 69,68 μg/mL. Corroborando os resultados obtidos por FTIR, sugerimos que a atividade antioxidante das AgNPs sintetizados com *A. microcarpum* esteja relacionada a presença de compostos fenólicos.

Extratos etanólicos fracionados do *A. microcarpum* também foram relatados quanto sua atividade antioxidante através do método DPPH (BARBOSA-FILHO et al., 2014). Os resultados indicaram a capacidade do extrato de transferir elétrons ou átomos de hidrogênio para radical DPPH, apresentando IC₅₀ de 32,86 μg/mL. Ravichandran et al., (2016) avaliaram a atividade antioxidante de nanopartículas de prata sintetizadas com o extrato da folha *Atrocarpus altilis*, encontrando percentual de redução IC₅₀ 51,17 μg/mL quando comparado ao ácido ascórbico 42,70 μg /mL

4.7 Concentração inibitória mínima (CIM)

A resistência bacteriana tem se tornado um problema de saúde pública, devido ao número maior de estirpes resistentes a antibióticos. Por esse motivo há um forte incentivo para o desenvolvimento de novos bactericidas (SONDI; SALOPEK-SONDI, 2004). Os nanomateriais têm surgido como novos agentes antimicrobianos devido a sua elevada superfície em relação ao volume e suas propriedades físico-químicas (MORONES et al, 2005; KIM et al, 2007). Dentre os materiais nanoestruturados, as nanopartículas de prata se destacam devido seu largo espectro na ação biocida contra diversos micro-organismos.

A atividade antimicrobiana da prata é conhecida desde a antiguidade, sendo que a mesma era utilizada na cicatrização de ferimentos, queimaduras e no tratamento de infecções oculares de recém-nascidos (DALLAS et al., 2011). A prata como agente bactericida também se tornou de interesse, devido sua alta toxicidade aos microrganismos e baixa toxicidade a células humanas (PAL et al., 2007). A atividade antimicrobiana das Ag-NPs pode ser influenciada por fatores, tais como o tamanho, a forma, a carga superficial, a agregação e a

dissolução de íons. Diversos são os tipos de bactérias que as nanopartículas apresentam atividade, tais como: as bactérias Gram-positivas (*Staphylococcus aureus* e *S. Epidermidis*) e as Gram-negativas (*Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* e *Salmonella typhi*) (MORONES, 2005; GAJBHIYE et al., 2009). Além disso, possui atividade contra fungos como *Candida albicans* e *Raffaella sp.* (KIM, et al., 2008, 2009) e contra vírus HIV-1 e Hepatite B (ELECHIGUERRA et al. 2005; LU et al. 2008).

A técnica de microdiluição foi utilizada para determinação da concentração inibitória mínima (CIM) que é a concentração mais baixa de um agente antimicrobiano que inibe o crescimento visível de um micro-organismo (DAVIDSON e PARISH, 1989; ANDREWS, 2001). A Tabela 5 mostra a atividade antimicrobiana das nanopartículas de prata com sintetizadas com o extrato da casca do *A. microcarpum* (AgNP 1c-d e AgNP 2a-b). Além disso, mostra os valores obtidos para o nitrato de prata (AgNO₃) e para o extrato de *A. microcarpum*. O estudo foi realizado para a bactéria Gram-positiva *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 e *Escherichia coli* ATCC 25922.

Tabela 5. Concentração inibitória mínima das AgNP 1c-d e AgNP 2a-b (µg/Ag/mL), AgNO₃ (µg/Ag/mL) e Extrato (µg/Ext/mL).

	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 29213	<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922
Extrato	250µg/Ext/mL	**
AgNO₃	62 µM/Ag/mL	31 µM/Ag/mL
AgNP 1c	125 µM/Ag/mL 125µg/Ext/mL	250 µM/Ag/mL 250µg/Ext/mL
AgNP 1d	125 µM/Ag/mL 125µg/Ext/mL	125 µM/Ag/mL 125µg/Ext/mL
AgNP 2a	125 µM/Ag/mL 500µg/Ext/mL	125 µM/Ag/mL 500µg/Ext/mL
AgNP 2b	125 µM/Ag/mL 500µg/Ext/mL	125 µM/Ag/mL 500µg/Ext/mL

** Não houve atividade antimicrobiana

O extrato da casca do *A. microcarpum* apresentou efeito antimicrobiano na concentração de 250µg/mL para a Bactéria Gram-positiva *S. Aureus*. Porém, para a bactéria Gram-negativa

E. coli, não apresentou nenhuma inibição, conforme tabela 5. Conforme reportado na literatura, o extrato hidroetanólico possui atividade 6,25 mg/mL do extrato para *S. aureus*, valor esse superior ao do nosso estudo, porém não é eficiente para *E. coli*, corroborando com os nossos resultados (SILVA, et al., 2007). Avaliando o resultado obtido para AgNO₃, sobre a bactéria *S. aureus* apresentando um CIM de 62μM/Ag e para *E. coli* de 31μM/Ag. Esses resultados também já foram descritos em outros estudos.

Na determinação da CIM (Tabela 5), as nanopartículas foram eficientes contra a os microrganismos testados. As AgNP 1c apresentou um efeito antimicrobiano superior sobre *S. aureus* do que sobre *E. coli*, visto que o extrato possui atividade para *S. aureus*. As AgNP 1d apresentou resultado semelhante para ambas bactérias. Estudo realizado por Anand et al., (2014) foram sintetizadas nanopartículas com extrato da fruta *Terminalia bellirica* e testadas contra *S. aureus* e *E. coli* e verificaram que a concentração inibitória mínima para as AgNPs foi 2000μg/Ext para ambas bactérias.

Observando os resultados frente ao extrato, podemos ver uma eficácia quando a prata foi adicionada, a atividade que antes foi obtida com 250μg/mL de extrato ao ocorrer a biorredução a quantidade caiu para 125μg/mL. A presença de diversos compostos como taninos, alcalóides e compostos fenólicos possui ação comprovada, agindo diretamente na parede celular bacteriana, inibindo os sistemas enzimáticos para a formação da mesma (JORGE et al., 1996, AKINPELU, 2001). Porém, quando comparamos com o nitrato de prata, o efeito antimicrobiano é maior do que para as nanopartículas. Alguns trabalhos relatam valores menores de CIM para AgNO₃ em comparação com as nanopartículas (XIU et al., 2011; RADZIG et al., 2013). Conforme descrito por Xiu et al. (2011), os íons de Ag⁺ apresentam maior atividade antimicrobiana do que as nanopartículas, isso ocorre devido a maior biodisponibilidade e potencial de captação dos íons Ag⁺ em comparação às AgNPs, elevando a toxicidade para bactéria.

As nanopartículas sintetizadas com extrato a 0,4% (AgNP 2a-b), também foram avaliadas quanto ao seu efeito antimicrobiano. Observa-se que o efeito para *S. aureus* e *E. coli*, foram iguais (125 μM/Ag/mL e 500μg/Ext/mL). Em relação às AgNPs 1c-d, que foram sintetizadas com a concentração menor do extrato (0,1%), as AgNPs 2a-b apresentaram menor efeito antimicrobiano em relação a concentração do extrato de 125 para 500μg/Ext/mL. Esse dado reforça a ideia de que o extrato da casca do *A. microcarpum* forma um recobrimento nas

nanopartículas de prata, impedindo a liberação dos íons prata e inibindo a sua ação antimicrobiana, conforme visto nos resultados de MET.

5 CONCLUSÃO

A síntese de nanopartículas com extrato hidroetanólico do *A. microcarpum* foram investigadas, na qual se foram obtidas eficientemente. Os compostos presentes no extrato foram atribuídos a redução do sal precursor em AgNPs. As nanopartículas foram caracterizadas utilizando UV-Vis, MET, NTA e Potencial Zeta, confirmando a formação das AgNPs de forma esférica com tamanhos variando entre 72,9- 208,3 nm e carga superficial entre -49,7mV a -56,0mV. A análise por FTIR confirmou a presença dos compostos ativos responsáveis pela formação e atividade biológica das nanopartículas.

Para as atividades biológicas, todas as AgNPs demonstram notável atividade antioxidante. As nanopartículas que obtiveram a menor concentração necessária do antioxidante para reduzir em 50% o radical DPPH percentual de foi AgNP 2a com Ic_{50} de 10,09 $\mu\text{g/mL}$, valor menor que o padrão utilizado, demonstrando um potencial antioxidante. Para a atividade antimicrobiana, as nanopartículas sintetizadas com concentração menor do extrato se mostram mais promissoras com CIM 125 $\mu\text{M/Ag/mL}$ e 125 $\mu\text{g/Ext/mL}$ em relação às nanopartículas com concentração maior de extrato.

6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGOSTINI-COSTA, T.S.; JALES, K.A.; ABERU, L.N.; LIMA, A.; ROSSETTI, A.G.; SILVEIRA, E.R. Determinação de ácido anacárdico em pedúnculos de caju (*Anacardium occidentale* L.). **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v.5, n.2, p.77-81, 2003.

AGOSTINI-COSTA, T.S.; JALES, K.A.; GARRUTI, D.S.; PADILHA, V.A.; LIMA, J.B. AGUIAR, M.J.; PAIVA, J.R. Anacardic acid content in cashew apples from *Anacardium microcarpum* and eight clones of *Anacardium occidentale* from Northeastern Brazil. **Ciência Rural**, v.34, p. 1075-1080, 2004.

AHMAD, N.; SHARMA, S.; ALAM, M.K. Rapid synthesis of silver nanoparticles using dried medicinal plant of basil. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, vol. 81, no. 1, p. 81–86, 2010.

AHMAD, A.; MUKHERJEE, P.; SENAPATI, S.; MANDAL, D.; KHAN, MI.; KUMAR, R.; SASTRY, M. Extracellular biosynthesis of silver nanoparticles using the fungus *Fusarium oxysporum*. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 28, p.313–318, 2003.

AHMED, S.; AHAMED, M.; SWAMI, B.L.; IKRAM, S. A review on plants extract mediated synthesis of silver nanoparticles for antimicrobial applications: A green expertise. **Journal of Advanced Research**. v. 7, p 17–28, 2016.

AKHTAR, M. S.; PANWAR, J.; YUN, Y.-S. Biogenic synthesis of metallic nanoparticles by plant extracts. **ACS Sustainable Chemistry & Engineering**, v. 1, n. 6, p. 591-602, 2013.

AKINPELU, D.A. Antimicrobial activity of *Anacardium occidentale* bark. **Fitoterapia**, v. 72, p. 286-287, 2001.

ALEXANDER, H.T. A nutty chemical. **Chemical & Engineering News**, v. 86, p.26-27, 2008.

ALQAHTANI, F.S.; ALSHEBLY, M.M.; GOVINDARAJAN, M.; SENTHILMURUGAN, S.; VIJAYAN, P. Green and facile biosynthesis of silver nanocomposites using the aqueous extract of *Rubus ellipticus* leaves: Toxicity and oviposition deterrent activity against Zika virus, malaria and filariasis mosquito vectors. **Journal of Asia-Pacific Entomology**, v. 20, p.157-164, 2017.

ANDREWS, M.; OZIN, G. Liquid-phase agglomeration of silver atoms in olefinic and ether media: electrocatalytic application. **Journal of Physics and Chemistry of Solids**, v. 90, p. 2929, 1986.

ANDREWS, J. M. Determination of minimum inhibitory concentrations. **The Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 48, n. 1, p. 5-16, 2001.

ANAND, K.K.H.; Mandal, B.K. Activity study of biogenic spherical silver nanoparticles towards microbes and oxidants. **Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, v. 135, p. 639–645, 2015.

ARANCON, R.A.D.; LIN, S.H.T.; CHEN,G.; LIN,C.S.K.; LAI,J.; XU,G.; LUQUE, R. Nanoparticle trackin analysis of gold nanomaterials stabilized by various capping agentes. **RSC Advances**, v. 4, p.17114-17119, 2014.

ARUNACHALAM, K.D.; ANNAMALAI, S.K.; HARI, S. One-step green synthesis and characterization of leaf extract-mediated biocompatible silver and gold nanoparticles from *Memecylon umbellatum*. **Int J Nanomed.**, v.8, p.1307–1315, 2013.

ARRIENTOS, A. G.; DE LA FUENTE, J. M.; ROJAS, T. C.; FERNANDEZ, A.; PENADÉS, S. Gold glyconanoparticles: synthetic polyvalent ligands mimicking glycocalyx-like surfaces as tools for glycobiological studies. **Chemistry - A European Journal**, v.9, p.1909-1921, 2003.

BARBOSA-FILHO, V.M. Phytochemical constituents, atioxidant activity, cytotoxicity and osmotic fragility effects of caju (*Anacardium microcarpum*). **Industrial Crops and products**, v. 55, p. 280-288, 2014.

BAGHIZADEH, A.; RANJBAR, S.; VINOD KUMAR, V.G.; ASIF, M.; POURSEYEDI, S.; KARIMI, M.J.; MOHAMMADINEJAD, R. Green synthesis of silver nanoparticles using seed

extract of *Calendula officinalis* in liquid phase. **Journal of Molecular Liquids**, v. 207, p. 159–163, 2015.

BAKER, S. et al. Plants: Emerging as Nanofactories towards Facile Route in Synthesis of Nanoparticles. **Bioimpacts**, v. 3, n. 3, p. 111-117, 2013.

BONATTO, C. C.; SILVA, L. P. Higher temperatures speed up the growth and control the size and optoelectrical properties of silver nanoparticles greenly synthesized by cashew nutshells. **Industrial Crops and Products**, v. 58, p. 46-54, 2014.

BOOTZ, A.; VOGEL, V.; SCHUBERT, D.; KREUTER, J. Comparison of scanning electron microscopy, dynamic light scattering and analytical ultracentrifugation for the sizing of poly (butyl cyanoacrylate) nanoparticles. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 57, p. 369-375, 2004.

BORSCHIVER, S.; GUIMARÃES, M.J.O.C.; DOS SANTOS, T.N.; SILVA, F.C.; BRUM, P.R.C. Patenteamento em nanotecnologia: estudo do setor de materiais poliméricos nanoestruturados. *Polímeros: Ciência e Tecnologia*, v.15, n.4, pág. 245, 2005.

BRAGA, R. Plantas do Nordeste, especialmente do Ceará. 3. ed. Fortaleza: UFC, 1979, 795p

CAVALCANTE, P. B. Frutas comestíveis da Amazônia. Belém: CNPq / Museu Paraense Emílio Goeldi. 279 p. 1996.

CAUERHFF, A.; CASTRO, G. R. Bionanoparticles, a green nanochemistry approach. **Electronic Journal of Biotechnology**, v. 16, n. 3, 2013.

CHANDRAN, S.P.; CHAUDHARY, M.; PASRICHA, R.; AHMAD, A.; SASTRY, M. Synthesis of gold nanotriangles and silver nanoparticles using *Aloe vera* plant extract. **Biotechnology Progress**, v. 22, p.577–83, 2006.

CHIMENTAO, R.; KIRM, I.; MEDINA, F.; RODRIGUEZ, X.; CESTEROS, Y.; SALAGRE, P.; SUEIRAS, J. Different morphologies of silver nanoparticles as catalysts for the selective oxidation of styrene in the gas phase. **Chemical Communications**, v. 4, p. 846-84, 2004.

CHOI, Y.; HO, N.; TUNG, C. Sensing Phosphatase Activity by Using Gold Nanoparticles. **Angewandte Chemie International Edition**, v. 46, p707-709, 2007.

CHUNG-HAO, W.; CHIAN-WEI, C.; CHING-AN, P. Gold nanorod stabilized by thiolated chitosan as photothermal absorber for cancer cell treatment. **Journal Nanoparticle Research**, v. 13, p. 2749-2758, 2011.

CLSI-Clinical Laboratory Standards Institute. Methods for dilution antimicrobial susceptibility test for bacteria that grow aerobically. Disponível em: <<http://www.clsi.org/source/orders/free/m07-a9.pdf>>. (acesso em Junho 2016).

COZZOLI, P.; COMPARELLI, R.; FANIZZA, E.; CURRI, M.; AGOSTIANO, A.; LAUB, D. Photocatalytic Synthesis of Silver Nanoparticles Stabilized by TiO₂ Nanorods: A

Semiconductor/Metal Nanocomposite in Homogeneous Nonpolar Solution. **Journal of the American Chemical Society**, v. 126, p. 3868, 2004.

CRUZ, D.; FALÉ, P.L.; MOURATO, A.; VAZ, P.D.; SERRALHEIRO, M.L.; LINO, A.R. Preparation and physicochemical characterization of Ag nanoparticles biosynthesized by *Lippia citriodora* (Lemon Verbena). **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 81, n. 1, p. 67-73, 2010.

CUI, Y.; QINGCHENG, K.; RONG, W.; ZHIWU, C.; AIQUIG, L. Synthesis and enhanced electrochemical properties of pod-shaped gold/silica nanoparticles. **Materials Letters**, v. 64, p. 1720-1723, 2010.

DALLAS, P.; SHARMA, V.K.; ZBORIL, R. Silver polymeric nanocomposites as advanced antimicrobial agents: Classification, synthetic paths, applications, and perspectives. **Advances in Colloid and Interface Science**, v. 166, p. 119-135, 2011.

DAVIDSON, P.M.; PARISH, M.E. Methods for testing the efficacy of food antimicrobials. **Food Technol.**, January, p.148-155, 1989.

DHAND, V.; Soumya, L.; Bharadwaj, S.; Chakra, S.; Bhatt, D.; Sreedhar, B. Green synthesis of silver nanoparticles using *Coffea arabica* seed extract and its antibacterial activity. **Materials Science and Engineering C**, v. 58, p.36-43, 2016.

DHUPER, S.; PANDA, D.; NAYAK, P.L. Green synthesis and characterization of zero valent iron nanoparticles from the leaf extract of *Mangifera indica*. **Nano Trends: A Journal of Nanotechnology and Its Applications**, v. 13, p. 16-22, 2012.

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

ELECHIGUERRA, J.; BURT, J.; MORONES, J.; CAMACHO-BRAGADO, A.; GAO, X.; LARA, H.; YACAMAN, M. Interaction of silver nanoparticles with HIV-1. **J Nanobiotechnol.**, v. 3, p.1477-3155, 2005.

EUSTIS, S.; EL-SAYED, M. A. Why Gold Nanoparticles Are More Precious than Pretty Gold: Noble Metal Surface Plasmon Resonance and its Enhancement of the Radiative and Nonradiative Properties of Nanocrystals of Different Shapes. **Chemical Society Reviews**, v. 35, p. 209-217, 2006.

FAROOQUI, M.D. A.; CHAUHAN, P.S.; KRISHNAMOORTHY, P.; SHAIK, J. Extraction of silver nanoparticles from the leaf extracts of *Clerodendrum inerme*. **Digest Journal of Nanomaterials and Biostructures**, v. 5, n. 1, p. 43-49, 2010.

FILIPE, V.; HAWE, A.; WIM, J. Critical Evaluation of Nanoparticle Tracking Analysis (NTA) by NanoSight for the Measurement of Nanoparticles and Protein Aggregates. **Pharmaceutical Research**, vol. 27, n. 5, 2010.

FRANK, T.; KEN, D.; MARK, B. Zeta Potential Mediated Reaction Monitoring on Nano and Microparticles. **Bioconjugate Chemistry**, v. 22, p.144-150, 2011.

GAI, P. L.; ROPER, R.; WHITE, M. G.; Recent advances in nanocatalysis research. **Current Opinion in Solid State & Materials Science**, v. 6, n. 5, p. 401–406, 2002.

GAJBHIYE, M.; KESHARWANI, J.; GADE, A.; RAI, M. Fungus-mediated synthesis of silver nanoparticles and their activity against pathogenic fungi in combination with fluconazole. In: **Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine**, v. 5, n. 4, p 382-386, 2009.

GALDIERO, S. et al. Silver nanoparticles as potential antiviral agents. **Molecules**, v. 16, n. 10, p. 8894–8918, 2011.

GALEMBECK, F.; RIPPEL, M. M. Nanocompósitos poliméricos e nanofármacos: fatos, oportunidades e estratégias. **Parcerias Estratégicas**, n. 18, p. 41-60, 2004.

GAUMET, M.; VARGAS, A.; GURNY, R.; DELIE, F. Nanoparticles for drug delivery: the need for precision in reporting particle size parameters. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 69, p. 1– 9, 2008.

GOMATHI, M.; RAJKUMAR, P.V.; PRAKASAM, A.; RAVICHANDRAN, K. Green synthesis of silver nanoparticles using *Datura stramonium* leaf extract and assessment of their antibacterial activity. **Resource-Efficient Technologies**, 2017.

GOPINATH, K. ; KUMARAGURU, S.; BHAKYARAJ, K.; MOHAN, S.; VENKATESH, K.S.; ESAKKIRAJAN, M.; KALEESWARRAN, P.; ALHARBI, N.S.; KADAIKUNNAN, S, GOVINDARAJAN, M.; BENELLI, G.; ARUMUGAM , A. Green synthesis of silver, gold and silver/gold bimetallic nanoparticles using the *Gloriosa superba* leaf extract and their antibacterial and antibiofilm activities. **Microbial Pathogenesis**, v.101, p.1-11, 2016.

GURAV, A. S.; KODAS, T.T.; WANG, L.M.; KAUPPINEN, E.I.; JOUTSENSAARI, J. Generation of nanometer-size fullerene particles via vapor condensation. **Chemical Physics Letters**, v. 218, p. 304-308, 1994.

HASLAM, E. Natural polyphenols (vegetable tannins) as drugs: possible modes of action. **Journal of Natural products**, v. 59, p. 205-215, 1996.

HE, B.; TAN, J.; LIEW, K.; LIU, H. Synthesis of size controlled Ag nanoparticles. **Journal of Molecular Catalysis A: Chemical**, v.221, p. 121-126, 2004.

HEIDE, P.V.D. X-ray Photoelectron Spectroscopy: An introduction to Principles and Practices. **Wiley**, p. 264, 2011.

HOLMBERG, K.; SHAH, D.O.; SCHWUGER, M.J. Handbook of applied surface and colloid chemistry. **New York: John Wiley & Sons**, 2002.

HUNTER, R. J. Zeta Potential in Colloid Science: Principles and Applications. **Academic Press**, p. 391, 1981.

HUTTER, E.; FENDLER, J.H. Exploitation of Localized Surface Plasmon Resonance. **Advanced Materials**, v. 16, p. 1685-1706, 2004.

HYUN, D.H.; HERNANDEZ, J.O.; MATTSON, M.P.; DE CABO, R. The plasma membrane redox system in aging. **Aging Res. Rev.**, v. 5, p. 209–220, 2006.

INGALE, A. G. Biogenic synthesis of nanoparticles and potential applications: an ecofriendly approach. **Journal of Nanomedicine & Nanotechnology**, v. 04, n. 02, 2013.

JIN, R.; CAO, Y.C.; HAO, E; MÉTRAUX, G.S.; SCHATZ, G.C.; MIRKIN, C.A. Controlling anisotropic nanoparticle growth through plasmon excitation. **Nature**, v. 425, p. 487-490, 2003.

JORGE, L.I.F.; SILVA, G.A.; FERRO, V.O. Diagnose laboratorial dos frutos de *Anacardium occidentale* L. (caju). **Rev Bras Farmacogn.**, v 5, p 55-69, 1996.

KAMDEM, J.P.; BOLIGON, A.A.; KLIMACZEWSKI, C.V.; ELEKOFEHINTI, O.O.; HASSA, W.; IBRAHIM, M. Antioxidant activity, genotoxicity and cytotoxicity evaluation of lemon balm (*Melissa officinalis* L.) ethanolic extract: Its potential role in neuroprotection. **Industrial Crops and Products**, v. 51, p. 26-34, 2013.

KALIMUTHU, K.; VENKATARAMAN, D.; SURESHBABU, R. K. P.; MUNIASAMY, K.; SELVARAJ, B.; BOSE K.; SANGILIYANDI, G. Biosynthesis of silver and gold nanoparticles using *Brevibacterium casei*. **Colloids Surf B: Biointerfaces**, v.77, p. 257-262, 2010.

KHOMUTOV, G.; GUBIN, S. Interfacial synthesis of noble metal nanoparticles. **Materials Science and Engineering: A**, v. 22, p.141-146, 2002.

KIM, J.S.; KUK, E.; YU, K.N.; KIM, J.H.; PARK, S.J.; LEE, H.J. Antimicrobial effects of silver nanoparticles. **Nanomed Nanotechnol Biol Med** , v. 3, p.95-101, 2007.

KIM, K.J.; SUNG, W.S.; MOON, S.K.; CHOI, J.S.; KIM, J.G.; LEE, D.G. Antifungal effect of silver nanoparticles on dermatophytes. **J Microbiol Biotechnol.**, v. 18, p.1482-1484, 2008.

KIM, S.W.; KIM, K.S.; LAMSA, L K.; KIM, Y.J.; KIM, S.B.; JUNG, M.; SIM, S.J.; KIM, H.S.; CHANG, S.J.; KIM, J.K. An *in vitro* study of the antifungal effect of silver nanoparticles on oak wilt pathogen *Raffaelea* sp. **J Microbiol Biotechnol.**, v. 19, p. 760–764, 2009.

KINNULA, V.L.; CRAPO, J.D. Superoxide dismutases in malignant cells and human tumors. **Free Radic. Biol. Med.**, v.36, p. 718–744, 2004.

KLABUNDE, K. J. Semiconductor Nanocrystals. **Nanoscale Materials in Chemistry**, New York, John Wiley & Sons, p. 287, 2001.

KLAUS-JOERGER T.; JOERGER, R.; OLSSON, E.; GRANQVIST, C. Bacteria as workers in the living factory: metal accumulating bacteria and their potential for materials science. **Trends Biotechnology**, v. 19, p.15–20, 2001.

KRISHNARAJ, C.; JAGAN, E.G.; RAJASEKAR, S.; SELVAKUMAR, P.; KALAICHELVAN, P.T.; MOHAN, N. Synthesis of silver nanoparticles using *Acalypha indica* leaf extracts and its antibacterial activity against water borne pathogens. **Colloids Surf. B.**; v. 76, p. 50–56, 2006.

KRUIS, F.; FISSAN, H.; RELINGHAUS, B. Sintering and evaporation characteristics of gas-phase synthesis of size-selected PbS nanoparticles. **Materials Science and Engineering: B**, v. 69, p. 329–334, 2000.

KUMAR, V.; YADAV, S. K. Plant-mediated synthesis of silver and gold nanoparticles and their applications. **Journal of Chemical Technology & Biotechnology**, v. 84, n. 2, p. 151-157, 2009.

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

LAI, P.; ROY, L. Antimicrobial and chemopreventive properties of herbs and spices. **Current Medical Chemistry**, v. 11, p.1451-1460, 2004.

LEFF, D. V.; OHARA, P. C.; HEATH, J. R; GELBART, W. M. Thermodynamic Control of Gold Nanocrystal Size: Experiment and Theory. **Journal of Physical Chemistry.**, v. 99, p. 7036-7041, 1995.

LEVIN, S.C.; HOFMANN, C.; ALI, A.T.; KELLY, T. A.; MOROSAN, E.; NORDLANDER, P.; WHITMIRE, H.K.; HALAS, J. N. Magnetic- Plasmonic Core-Shell Nanoparticles. **Journal American Chemical Society- ACS Nano**, v.3, p. 1379-1388, 2009.

LIMBACH, L. K.; LI, Y.; GRASS, R. N.; BRUNNER, T. J.; HINTERMANN, M. A.; MULLER, M.; GUNTHER, D.; STARK, W. J. Oxide nanoparticle uptake in human lung fibroblasts: effects of particle size, agglomeration, and diffusion at low concentrations. **Environmental Science & Technology**, v. 39, p. 9370-9376, 2005.

LU, L.; SUN, R.; CHEN, R.; HUI, C.; HO, C.; LUK, J. ; LAU, G.; CHE, C. Silver nanoparticles inhibit hepatitis B virus replication. *Antivir Ther.*, v. 13, p. 253–262,2008.

MAGNUSSON, M.; DEPERT, K.; MALM, J.; BOVIN, J.; SAMUELSON, L. Gold Nanoparticles: Production, Reshaping, and Thermal Charging. **Journal of Nanoparticle Research**, v.1, p. 243,1999.

MAKAROV, V. V.; LOVE, A. J. ; O. V. SINITSYNA, O.V.; MAKAROVA, S. S.; YAMINSKY, I.V.; TALIANSKY, M.E.; KALININA, N.O. “Green” Nanotechnologies: Synthesis of Metal Nanoparticles Using Plants. **Acta naturae**, v. 6, 2014.

MARIA, L. C. S., SANTOS, A. L. C., OLIVEIRA, P. C., VALLE, A. S. S., BARUD, H. S., MESSADDEQ, Y., RIBEIRO, S. J. L. Preparation and antibacterial activity of silver nanoparticles impregnated in bacterial cellulose. **Polímeros: Ciência e Tecnologia**, v. 20, 72, 2010.

MARISELVAM, R.; RANJITSINGH, A.J.A.; NANTHINI, A.U.R.; KALIRAJAN,K.; PADMALATHA, C.; SELVAKUMAR, P.M. Green synthesis of silver nanoparticles from the extract of the inflorescence Bof *Cocos nucifera* (Family: Areaceae) for enhanced antibacterial activity, **Spectrochim. Acta A**, v. 129, p. 537–541, 2014.

MEDEIROS, E. S.; MATTOSO, H. L. Nanotecnologia. In: DÚRAN Nelson, MATTOSO, Henrique Luiz e MORAIS Cezar Paulo. Nanotecnologia: Introdução, preparação e caracterização de nanomateriais e exemplos de aplicação. São Paulo: Artliber. p.13 – 29, 2006.

MELO, C.P.; PIMENTA, M. Nanociências e nanotecnologia. **Parcerias estratégicas**, n. 18, 2004.

MORA-HUERTAS C.E.; Fessi H.; Elaissari A. Polymer-based nanocapsules for drug delivery. **International Journal of Pharmaceutics**, v.385, p.113-142, 2010.

MORONES, J.R.; ELECHIGUERRA, J.L.; CAMACHO, A.; RAMIREZ, J.T. The bactericidal effect of silver nanoparticles. *Nanotechnology*, v.16, p.2346–2353, 2005.

MOHAMMADI, S.; POURSEYEDI, S.; AMINI, A. Green synthesis of silver nanoparticles with a long lasting stability using colloidal solution of cowpea seeds (*Vigna sp. L*). **Journal of Environmental Chemical Engineering**, v. 4, p. 2013-2031, 2016.

MOLDOVAN, B.; DAVID, L.; ACHIM, M.; CLICHICI, S.; FILIP, G. A . A green approach to phytomediated synthesis of silver nanoparticles using *Sambucus nigra* L. fruits extract and their antioxidant activity. **Journal of Molecular Liquids**, v 221, p. 271-278, 2016.

MONALISA, J.; SWATI, M.; SWETALINA, J.; SUDHANSHU, S.; Nanotechnology- future prospect in recent medicine: a review. **International Journal of Basic & Clinical Pharmacology**, v.2 n.4 p.353-359, 2013.

MORONES, J. R.; ELECHIGUERRA, J.L.; CAMACHO, A.; HOLT, K.; KOURI, J.B; RAMÍREZ, J.T.; YACAMAN, M.J. The bactericidal effect of silver nanoparticles. **Nanotechnology**, v. 16, n. 10, p. 2346–2353, 2005.

MULLER, K.R.; BARBOSA-FILHO, V.M.; SILVA, G.F.; MENEZES, I.A.; ZEMOLIN, A.P.; FRANCO, J.L.; POSSER, T. Avaliação Do Potencial Neuroprotetor do extrato de *Anacardium microcarpum* no modelo de Parkinsonismo induzido por Paraquat em *Drosophila melanogaster*. **BBR-Biochemistry and Biotechnology Reports**, v.2, n.3, p150-153, 2013.

NAKAO, Y.; KAERIYAMA, K. Adsorption of surfactant-stabilized colloidal noble metals by ion-exchange resins and their catalytic activity for hydrogenation. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 131, p. 186, 1989.

NARAYANAN, K.B., SAKTHIVEL N. Biological synthesis of metal nanoparticles by microbes. **Advances in Colloid and Interface Science**, v. 22, n. 156, p. 1–13, 2010.

NETALA, V.R.; KOTAKADI, V.S.; DOMDI, L.; GADDAM, S.A.; BOBBU, P.; VENKATA, S.K.; GHOSH, S.B.; TARTTE, V. Biogenic silver nanoparticles: efficient and effective antifungal agents. **Appl Nanosci.**, v. 6, p.475–484, 2016.

PAL, S.; TAK, Y.; SONG, J.M. Does the antibacterial activity of silver nanoparticles depend on the shape of the nanoparticle? A study of the Gramnegative bacterium *Escherichia coli*. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 73, p. 1712-1720, 2007.

PARVEEN, M.; AHMAD, F.; MALLA, A.M.; AZAZ, S. Microwave-assisted green synthesis of silver nanoparticles from *Fraxinus excelsior* leaf extract and its antioxidant assay. **Applied Nanoscience**, v. 6, p. 267–276, 2016.

PIETTA, P.G. Flavonoids as antioxidants. **J. Nat. Prod.**, v. 63, n. 7, p. 1.035-1.042, 2000.

PRASAD, T.N.V.K.V.; ELUMALAI, E.K. Biofabrication of Ag nanoparticles using *Moringa oleifera* leaf extract and their antimicrobial activity. **Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine**, v.1, p. 439–442, 2011.

PRABHU S.; POULOSE E.K. Silver nanoparticles: mechanism of antimicrobial action, synthesis, medical applications, and toxicity effects. **Int Nano Lett.**, v. 2,p.1–10, 2012.

PETHAKAMSETTY, L.; KOTHAPENTA, K.; NAMMI, L.K.; KOLLU, P.; YOON, S.G.; PAMMI, S.V.N. Green synthesis, characterization and antimicrobial activity of silver nanoparticles using methanolic root extracts of *Diospyros sylvatica*. **Journal of Environmental Sciences**, 2016.

POWERS, K. W.; BROWN, S. C.; KRISHNA, V. B.; WASDO, S. C. MOUDGIL, B. M.; ROBERS, S. M. Research strategies for safety evaluation of nanomaterials. Part VI. Characterization of nanoscale particles for toxicological evaluation. **The Journal of Toxicological Sciences**, v. 90, p. 296-303, 2006.

RADZIG, M.A.; NADTOCHENKO, V.A.; KOKSHAROVA, O.A.; KIWI, J.; LIPASOVA, V.A.; KHMEL, I.A. Antibacterial effects of silver nanoparticles on gram-negative bacteria: Influence on the growth and biofilms formation, mechanisms of action. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 102, p. 300-306, 2013.

RAGHUNANDAN, D.; BORGAONKAR, P.A.; BENDEGUMBLE, B.; BEDRE, M.D.; BHAGAWANRAJU, M.; YALAGATTI, M.S.; HUH, D.S.; ABBARAJU, V. Microwave-assisted rapid extracellular biosynthesis of silver nanoparticles using Carom seed (*Trachyspermum copticum*) extract and *in vitro* studies. **American Journal of Analytical Chemistry**, v. 2, p.475–483, 2011b.

RAI, M. **Nanobiotecnologia verde**: biossínteses de nanopartículas metálicas e suas aplicações como nanoantimicrobianos. BARATA, G.; STÉFANI, D. (Tradutores). *Ciência e Cultura*, v. 5, n. 3, p. 44-48, 2003.

RAMYA, M.; SUBAPRIYA, M.S. Green synthesis of silver nanoparticles. **Int J Pharm Med Biol Sci.**, v. 1, p.54–61, 2012.

RAUWEL, P.; KÜÜNAL, S.; FERDOV, S.; RAUWEL, E. A Review on the Green Synthesis of Silver Nanoparticles and Their Morphologies Studied via TEM. **Advances in Materials Science and Engineering**, v. 2015, p. 9, 2014.

RAVEENDRAN, P.; FU, P.J.; WALLEN, S.L. Completely Green Synthesis and stabilization of metal nanoparticles. **Journal of the American Chemical Society**, v. 125, no. 46, p. 13940–13941, 2003.

RAVICHANDRAN, V.; VASANTHI, S.; SHALINI, S.; SHAH, S.A.A.; HARISH, R. Green synthesis of silver nanoparticle using *Atrocarpus altilis* leaf Extract and the study of their antimicrobial and antioxidante activity. **Materials Letters**, v. 180, p. 264–267, 2016.

RIBEIRO, B. T.; LIMA, J. M.; CURI, N.; OLIVEIRA, G. C.; LIMA, P. L. T. Cargas superficiais da fração argila se solos influenciadas pela vinhaça e fósforo. **Quím. Nova**, vol. 34, n. 1, p. 5-10, 2011.

RIBEIRO, N.R. Caracterização química e atividade biológica de *Anacardium microcarpum* Duche e *Anacardium occidentale* L. (ANACARDIACEAE) no estado do Piauí, Brasil. 2016. 64f. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal do Piauí, Parnaíba, Piauí. 2016.

REN, Y.; YANG, H.; WANG, T.; WANG, C. Green synthesis and antimicrobial activity of monodisperse silver nanoparticles synthesized using *Ginkgo Biloba* leaf extract. **Physics Letters A**, v. 380, p. 3773–3777, 2016.

ROCO, M. C.; International strategy for Nanotechnology Research. **Journal of Nanoparticle Research**, v. 3, p. 353–360, 2001.

RUFINO, M.S.M.; CORRÊA, M.P.F.; ALVES, R.E.; LEITE, L.A.S.; SANTOS, F.J.S. Utilização atual do cajuí nativo da vegetação litorânea do Piauí, Brazil. **Proceedings of the Interamerican Society for Tropical Horticulture**, v.52, n.1, p.147-149, 2008.

SALAM, H. A.; RAJIV P.; KAMARAJ, M.; JAGADEESWARAN, P.; S GUNALAN, S.; SIVARAJ, R. Plants: green route for nanoparticle synthesis. **International Reasearch Journal of Biological Sciences**, v. 1, n. 5, p. 6, 2012.

SAS, K.; ROBOTKA, H.; TOLDI, J.; VECSEI, L. Mitochondrial, metabolic disturbances, oxidative stress and kynurenine system, with focus on neurodegenerative disorders. **J. Neurol. Sci.**, v. 257, p. 221–239, 2007.

SARKAR, A.; CHADHA, R.; BISWAS, N.; MUKHERJEE, T.; KAPOOR, S. Phase-transfer and film formation of silver nanoparticles. **Journal of Colloid and Interface Science**, v.332, p. 224- 230, 2009.

SATHISHKUMAR, M.; SNEHA, K.; KWAK, I.S.; MAO, J.; TRIPATHY, S.J.; YUN, Y.S. Phyto-crystallization of palladium through reduction process using *Cinnamom zeylanicum* bark extract. **Journal of Hazardous Materials**, v. 171, p. 400–404, 2009.

SATHISHKUMAR, G.; GOBINATH. C.; KARPAGAM, K.; HEMAMALINI, V.; PREMKUMAR, K.; SIVARAMAKRISHNAN, S. Phyto-synthesis of silver nanoscale particles using *Morinda citrifolia* L. and its inhibitory activity against human pathogens. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 15, p. 235–240, 2012.

SCHMIDT-OTT, A. New approaches to in situ characterization of ultrafine agglomerates. **Journal Aerosol Science**, v.19, p. 553, 1988.

SHANKAR, S.S; RAI, A.; AHMAD, A.; SASTRY, M. Rapid synthesis of Au, Ag, and bimetallic Au core–Ag shell nanoparticles using Neem (*Azadirachta indica*) leaf broth. **Journal Colloid Interface Science.**, v. 275, p. 496–502, 2004.

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

SILVA, J.G.; SOUZA, I.A; HIGINO, J.S.; SIQUEIRA-JUNIOR, J.P.; PEREIRA, J.V. PEREIRA, M.S.V. Antimicrobial activity oh the hydroalcoholic extract of *Anacardium occidentale* Linn. Against multi-drug resistant strains of *Staphylococcus aureus*. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, v 17, p. 572-577, 2007.

SINDHI, V.; GUPTA V.; SHARMA, K.; BHATNAGAR, S.; KUMARI, R.; DHAKA, N. Potential applications of antioxidants – A review. **Journal of Pharmacy Research**, v. 7, p. 828–835, 2013.

SINGH, U.; JIALAL, I. Oxidative stress and atherosclerosis. **Pathophysiology**, v.13 (2006), p.129–142, 2006.

SMITH, M.A.; ROTTKAMP, C.A.; NUNOMURA, A.; RAINA, A.K.; PERRY, G. Oxidative stress in Alzheimer's disease. **Biochim. Biophys. Acta**, v.1502, p.139–144, 2000.

SOHN, H.Y.; SON, K.H.; KWON, C.S.; KWON, G.S.; KANG, S.S . Antimicrobial and cytotoxic activity of 18 prenylated flavonoids isolated from medical plants: *Morus alba* L., *Morus mongolica* Scheneider, *Broussonetia papyrifera* (L.) Vent. *Sophora flavescens* Ait and *Echinophora koreensis* Nakai. **Phytomedicine**, v. 11, p.666-672,2004.

SONG, K.C.; LEE, S.M.; PARK, T.S.; LEE, B.S. Preparation of colloidal silver nanoparticles by chemical reduction method. **Korean Journal of Chemical Engineering**, v.26(1), p.153-155, 2009.

SONDI, I.; SALOPEK-SOND, B.Silver nanoparticles as antimicrobial agente: a case study on *E. coli* as a model for Gram-negative bacteria. **The Journal of Colloid and Interface Science**, v. 275, p. 177-182, 2004.

SOWMYYA, T.; LAKSHMI, V.G. Spectroscopic investigation on catalytic and bactericidal properties of biogenic silver nanoparticles synthesized using *Soymida febrifuga* aqueous stem bark extract. **Journal of Environmental Chemical Engineering**. 2017.

SUKIRTHA, R.; PRIYANKA, K.M.; ANTONY, J.J.; KAMALAKKANNAN, S.; THANGAM, R.; GUNASEKARAN, P. Cytotoxic effect of green synthesized silver nanoparticles using *Melia azedarach* against in vitro HeLa cell lines and lymphoma mice model. **Process Biochemistry**, v. 47, p.273–279, 2012.

SUN, S.; MURRAY, C.; WELLER, D.; FOLKS, L.; MOSER, A. Monodisperse FePt nanoparticles and ferromagnetic FePt nanocrystal superlattices. **Science**, v. 287, p. 1989-1992, 2000.

SUN, Y. ; YIN, Y.; MAYERS, B. T.; HERRICKS, T.; XIA, Y. Uniform Silver Nanowires Synthesis by Reducing AgNO₃ with Ethylene Glycol in the Presence of Seeds and Poly(Vinyl Pyrrolidone). **Chemistry of Materials.**, v. 14, p. 4736-4745, 2002.

THIRUMURUGAN, A.; ASWITHA, P.; KIRUTHIKA, C.; NAGARAJAN, S.; NANCY, C. A. Green synthesis of platinum nanoparticles using *Azadirachta indica* – An eco-friendly approach. **Materials Letters**, v.170, p. 175–178, 2016.

THIRUMURUGAN, G.; DHANARAJU, M. D. Novel biogenic metal nanoparticles for pharmaceutical applications. **Advanced Science Letters**, v. 4, n. 2, p. 339-348, 2011.

VILCHIS-NESTOR, A.; SA NCHEZ-MENDIETA, V.; CAMACHO-LO PEZ, M.; GOMEZ-ESPINOSA, R.; CAMACHO-LOPEZ, M.; ARENAS-ALATORRE, J. Solventless synthesis and optical properties of Au and Ag nanoparticles using *Camellia sinensis* extract. **Materials Letters**, vol. 62, n. 17-18, p. 3103–3105, 2008.

VERMA, A.; MEHATA, M.S. Controllable synthesis of silver nanoparticles using Neem leaves and their antimicrobial activity. **Journal of Radiation Research and Applied Sciences**, v 9, p.109–115,2016.

WILBUR, K; DUANE, B.; ROBERT, M. Design of a microcomputer-controlled UV-VIS spectrophotometer. **Analytical Chemistry**, v.52 p. 437-442, 1980.

WILLEMS, W. Roadmap report on nanoparticles. **W&W**, 2005.

WÖRLE-KNIRSCH, J. M.; KERN, K.; SCHLEH, C.; ADELHELM, C.; FELDMANN, C.; KRUG, H. F. Nanoparticulate vanadium oxide potentiated vanadium toxicity in human lung cells. **Environmental Science Technology.**, v. 41, p.331-336, 2007.

YEO, S.; LEE, H.; JEONG, S. Preparation of nanocomposite fibers for permanent antibacterial effect. **J. Material Science**, v. 38, p. 2143–2147,2003.

YOOSAF, K.; IPE, B.I.; SURESH, C.H.; THOMAS, K.G. In situ synthesis of metal nanoparticles and selective naked-eye detection of lead ions from aqueous media. **The Journal of Physical Chemistry C**, v. 111, p. 12839-12847, 2007.

XIU, Z.M.; MA, J.; ALVAREZ, P.J.J. Differential effect of common ligands and molecular oxygen on antimicrobial activity of silver nanoparticles versus silver ions. **Environmental Science and Technology**, v. 45, p. 9003-9008, 2011.

ZARGAR, M.; HAMID, A.A.; BAKAR, F.A.; SHAMSUDIN, M.N.; SHAMELI, K.; JAHANSHIRI, F.; FARAHANI, F. Green synthesis and antibacterial effect of silver nanoparticles using *Vitex negundo* L. **Molecules**, v.16, p.6667–6676, 2011.

ZHANG, J.; CHEN, P.;SUN, C.; HU, X. Sonochemical Synthesis of Colloidal Silver Catalysts for Reduction of Complexing Silver in DTR System. **Applied Catalysis A: General**, v. 266, n. 1, p. 49-54. 2004.

ZHANG, W.; QIAO, X.; CHEN, J.; WANG, H. Preparation of silver nanoparticles in water-in-oil AOT reverse micelles. **Journal Colloid Interface Science**, v. 302, p. 370–373, 2006.