

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO ACRE
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA,
INOVAÇÃO E TECNOLOGIA PARA A AMAZÔNIA – CITA**

**SÍNTESE DE NANOPARTÍCULAS DE OURO COLOIDAL PARA USO
BIOLÓGICO COM A ESPÉCIE *Carapa guianensis***

MARCOS LÁZARO AREAL LEME

RIO BRANCO

2016



UNIVERSIDADE FEDERAL DO ACRE
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-
GRADUAÇÃO



PÓS-GRADUAÇÃO: MESTRADO
EM CIÊNCIA, INOVAÇÃO E
TECNOLOGIA PARA A AMAZÔNIA

SÍNTESE DE NANOPARTÍCULAS DE OURO COLOIDAL PARA USO BIOLÓGICO COM A ESPÉCIE *Carapa guianensis*

MARCOS LÁZARO AREAL LEME

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência, Inovação e Tecnologia para a Amazônia, da Universidade Federal do Acre, como requisito parcial para a obtenção do grau de **Mestre em Ciências**.

Área de Concentração: Ciência e Inovação Tecnológica

Orientador _____

Prof. Dr. Fernando Sergio Escócio Drummond Viana
de Faria

Coorientador _____

Prof. Dr. Anselmo Fortunato Ruiz Rodriguez

Rio Branco – Acre

2016

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO ACRE
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA, INOVAÇÃO
E TECNOLOGIA PARA A AMAZÔNIA – CITA**

Folha de Aprovação

MARCOS LÁZARO AREAL LEME

**SÍNTESE DE NANOPARTÍCULAS DE OURO COLOIDAL PARA USO BIOLÓGICO
COM A ESPÉCIE *Carapa guianensis***

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência, Inovação e Tecnologia para a Amazônia, da Universidade Federal do Acre, como requisito parcial para a obtenção do grau de **Mestre em Ciências**.

Área de Concentração: Ciência e Inovação Tecnológica

APROVADA EM: _____ / _____ /2016

Banca Examinadora

Prof. Dr. Fernando Sérgio Escócio Drummond Viana Faria (Orientador)
Universidade Federal do Acre

Prof. Dr. Anselmo Fortunato Ruiz Rodriguez (Coorientador)
Universidade Federal do Acre

Prof. Dr. Diones Assis Salla
IFAC-Instituto Federal do Acre

Prof. Dra. Clarice Carvalho Maia
Universidade Federal do Acre

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho à minha mãe e irmãos, em especial pela dedicação e apoio em todos os momentos difíceis.

AGRADECIMENTOS

Ao Programa de Pós-Graduação em Ciência, Inovação e Tecnologia para a Amazônia, CITA, pela oportunidade de realização de trabalhos em minha área de pesquisa.

Aos Prof. Dr. Fernando Sérgio Escócio Drummond Viana e Prof. Dr. Anselmo Fortunato Ruiz Rodriguez, pela atenção e apoio durante o processo de definição e orientação, contribuindo para meu crescimento científico e intelectual.

Aos parceiros de pesquisa Jason Jerry Atoche Medrano, Antônio Oliveira da Costa, Anderson Luis Ramos, Thiago César Moreira e Cleyton Assis Loureiro de Souza do Laboratório de Bioprospecção e Síntese de Nanocompostos da Universidade Federal do Acre (UFAC) pelos seus auxílios nas tarefas desenvolvidas durante o curso e apoio na elaboração deste trabalho.

Aos colaboradores Delano Anibal da Silva e Natacha Pinheiro Melo Brozzo do laboratório de Pesquisa de Produtos Naturais da Fundação de Tecnologia do Estado do Acre – FUNTAC, que contribuíram na complementação desta pesquisa.

À CAPES pela provisão da bolsa de mestrado.

RESUMO

O uso de extratos vegetais de plantas da Amazônia para obtenção de nanopartículas de ouro (AuNP) visando seu uso biológico foi desenvolvido com base nos princípios da “*Química Verde*”, aplicada à Nanobiotecnologia. Utilizando processos de síntese sem a utilização de reagentes químicos, tóxicos ao meio ambiente e, por conseguinte aos seres humanos. Foi usado neste trabalho extrato Andiroba (*Carapa guianensis*) que atuou com redutor do íon Au^{+3} a Au^0 e estabilizante das nanopartículas formadas, destacando a significativa atividade antioxidante que possui essa espécie amazônica. Os espectros de UV-Vis obtidos demonstram a formação de nanopartículas de ouro, com banda plasmônica superficial característica de 290 nanômetro. Análise de espectroscopia na região do infravermelho (FTIR) mostram as ligações químicas que ocorrem entre as funções químicas constituintes do extrato e AuNPs. O estudo de estabilidade das AuNPs foi realizado com medidas de espalhamento de luz dinâmica (DLS) bem como por medidas de UV-Vis, o que permitiu verificar a obtenção do tipo de soluções mais estáveis. Medida de cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) foi realizada com o extrato da folha de *Carapa guianensis*, que é um método de separação de compostos químicos em solução. Foram realizados testes de hemólise e citotoxicidade do extrato da andiroba isolado e com AuNPs contra as bactérias patogênicas *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumoniae*, *Escherichia coli* e *Klebsiella pneumoniae*.

Palavras-chave: *Carapa guianensis*, Síntese de Nanopartículas de Ouro, Química Verde, Nanotecnologia.

ABSTRACT

The use of plant extracts from Amazonian plants to obtain gold nanoparticles (AUNP) seeking their biological use was developed based on the principles of "Green Chemistry", applied to Nanobiotechnology. Using synthesis processes without the use of chemical reagents, toxic to the environment and therefore to humans. Andiroba extract was used in this work (*Carapa guianensis*) who served with ion reducing Au^{+3} to Au^0 and stabilizing the formed nanoparticles, highlighting the significant antioxidant activity that has this Amazonian species. UV-Vis spectra showed the formation of gold nanoparticles with characteristic surface plasmon band at 290 nm. Spectroscopy in the infrared analysis (FTIR) showed the chemical bonds that occur between the chemical constituents of the extract and functions AuNPs. The crystal structures of synthesized products obtained after reduction chloroauric acid ($HAuCl_4$) using extract of andiroba were identified using X-ray diffraction. The stability study was performed with the AuNPs scattering measurements of dynamic light (DLS) and UV-Vis measurements, which allow to verify the type obtaining more stable solutions. Liquid Chromatography measurement with high efficiency (LCHE) was performed with *Carapa guianensis* leaf extract, which is a method of separating chemical compounds in solution. Hemolysis and cytotoxicity tests were performed andiroba isolated extract and AuNPs against pathogenic bacteria *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumoniae*, *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae*.

Keywords: *Carapa guianensis*, Synthesis of Gold Nanoparticles, Green Chemistry, Nanotechnology.

Sumário

1	INTRODUÇÃO.....	9
2	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	11
2.1	Nanotecnologia, Nanociências e Nanomateriais.....	11
2.2	Nanopartícula de Ouro Coloidal.....	14
2.3	Características da Andiroba (<i>Carapa guianensis</i>).....	21
2.4	Síntese Verde de Nanopartículas de Ouro.....	25
2.5	Caracterizações do Ouro Coloidal e Extrato de Andiroba.....	30
3	MATERIAL E MÉTODO.....	33
3.1	Coleta das Folhas da Andiroba (<i>Carapa guianensis</i>).....	33
3.2	Obtenção do Extrato da Andiroba.....	33
3.3	Preparação do Ácido cloro áurico tri-hidratado (HAuCl ₄ .3H ₂ O).....	33
3.4	Caracterizações das Amostras do Nanopartículas de Ouro e Extrato de Andiroba.....	36
3.4.1	Determinação do pH.....	36
3.4.2	UV-visível.....	37
3.4.3	Espectroscopia de Raio-X.....	38
3.4.4	Potencial Zeta Size.....	39
3.4.5	Espectroscopia de Infravermelho.....	39
3.4.6	Atividade antibacteriana.....	41
3.4.7	HPLC do extrato da Andiroba.....	42
3.4.8	Hemólise do extrato da Andiroba.....	42
4	RESULTADO E DISCUSSÃO.....	43
4.1	Determinação do pH.....	43
4.2	Ultravioleta Visível (Uv-Vis).....	44
4.3	Espectroscopia de Raio-X.....	47
4.4	Potencial Zeta Size.....	48
4.5	Espectroscopia de Infravermelho.....	51
4.6	Atividade Antibacteriana.....	54
4.7	HPLC do Extrato da Andiroba.....	55
4.8	Hemólise do Extrato da Andiroba.....	56
5	CONCLUSÕES.....	57
6	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	59

1 INTRODUÇÃO

A junção de Biologia e Nanotecnologia veio modificar profundamente algumas linhas de pesquisas científicas passando a explorar novos fenômenos e propriedades de materiais em escala nanométrica. Como, por exemplo, o controle de sistema na escala nano (um bilionésimo do metro) e a aplicação direta dos nanomateriais a alvos biológicos.

Os nanomateriais foram concebidos para uma variedade de finalidades biotecnológicas, incluindo biossensores, encapsulamento de agentes biológicos, tais como enzima, nanotecnologia neuronal, dentre outras (MENAA, 2011). O crescimento da área de nanotecnologia, criação de novos materiais, partículas, tecnologias e ferramentas têm surgido de forma crescente e com isso também alguns questionamentos sobre suas aplicabilidades e possíveis consequências (ARORA et al., 2013).

A *Carapa guianensis* é uma árvore amplamente conhecida, bastante utilizada como uma planta medicinal na região da Floresta Amazônica. No Brasil, esta árvore é conhecida popularmente como Andiroba ou Andirobeira. É valorizada tanto pela sua madeira e como por suas propriedades medicinais e é recomendado pelo seu potencial farmacêutico. Todas as partes da árvore são usadas para fins medicinais, como no tratamento de doenças de pele, artrite, reumatismo, infecções do ouvido, para curar feridas e contusões e como um repelente de insetos (COSTA-SILVA et al., 2008).

O contato das nanopartículas com fluidos biológicos tornam-nas revestidas com uma mistura de proteínas presentes nos meios, alterando as propriedades originais de sua superfície e implica diretamente na resposta biológica a essas nanoestruturas e como são rastreadas por receptores celulares (DOMINGUEZ-MEDINA, 2015).

O aumento na produção de nanopartículas metálicas se deve as variadas aplicações que esses materiais nanoparticulados podem apresentar. Os métodos químicos são a abordagem mais popular para a síntese. Estes métodos são com base na redução de soluções de íons metálicos com tradicional redutores e agentes

de nivelamento tal como sódio boro-hidreto, citrato de sódio, e dodecil sulfato de sódio.

A maioria desses materiais é tóxica e seu uso é uma ameaça à saúde humana. Além disso, uma vez que uma pequena quantidade destes reagentes permanece na mistura reacional e não reativo livre, a entrada destes materiais para o ambiente leva a poluição ambiental. Por isso é difícil usar estas nanopartículas em pesquisas na biologia e medicina.

A forma e morfologia das nanopartículas metálicas afetam suas propriedades especialmente em aplicações biomédicas.

Os métodos verdes que utilizam materiais não tóxicos ganharam mais importância, porque eles são ambientalmente benignos e não poluentes, também podem produzir nanopartículas com vários outros formatos, além do esférico. Um dos métodos verdes mencionados na literatura é o método baseado em extrato da planta como redutor.

Dentre as nanopartículas metálicas, as nanopartículas de ouro têm atraído muito mais atenção devido à sua biocompatibilidade e elevado potencial para uso em biologia e medicina, forte dispersão e absorção, sintonizável ressonância de plasmon de superfície, de superfície fácil funcionalização, os métodos de síntese fácil e baixa toxicidade (NORUZI, 2015).

Com a abordagem da “Química Verde”, aplicada à Nanobiotecnologia, utilizando processos de síntese sem a utilização de reagentes químicos, tóxicos ao meio ambiente e, por conseguinte aos seres humanos. Usamos o extrato Andiroba (*Carapa guianensis*), que atuou com redutor do íon Au^{+3} a Au^0 e estabilizante das nanopartículas formadas, destacando a significativa atividade antioxidante que possui essa espécie amazônica.

Para melhor prever o uso biológico das AuNP, foi realizada a caracterização química e espectroscópica das AuNP, como a determinação do pH, infravermelho, UV-visível, raio-X, potencial Zeta e determinação do seu tamanho, potencial hemolítico, HPLC e também atividade antibacteriana.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Nanotecnologia, Nanociências e Nanomateriais

A nanociência e a nanotecnologia estudam os processos de aplicações tecnológicas de materiais em dimensões físicas na escala nanométrica, que é denominada como uma parte em um bilhão, onde um nanômetro representa um bilionésimo de um metro. A grande dificuldade no estudo e por consequência avanço da nanotecnologia está ainda no ínfimo conhecimento do comportamento das substâncias na escala nanométrica (MELO et al., 2010).

As propriedades ópticas de nanomateriais referente à sua emissão de luz acontecem de acordo com a organização dos seus elétrons nos seus respectivos níveis, devido à dimensão característica das nanopartículas, seus elétrons são encontrados em níveis discretos de energia, sendo assim, a separação desses elétrons está relacionada ao tamanho físico do objeto. Os materiais nanoparticulados apresentam propriedades magnéticas relacionadas ao tamanho específico. Portanto, por exemplo, o elemento ferro tem efeito magnético no seu tamanho normal sendo empregado em ímãs, porém na escala de nanopartículas o ferro não se comporta como ímã. (PEREIRA et al., 2007).

Os fenômenos que são observados na escala nanométrica estão relacionados a diversos campos do conhecimento, tendo assim uma abrangência interdisciplinar. Como a nanociência abrange as dimensões entre 1 a 100 nm, é possível compreender, explorar e até mesmo controlar a matéria em seu estágio original, podendo interferir nesse processo e definir em que momento do desenvolvimento de um denominado sistema ou estrutura, as suas propriedades químicas e físicas são relevantes para uma dada pesquisa, onde a exploração destas propriedades pode possibilitar o desenvolvimento de dispositivos em escala nanométrica, que tem cada vez mais despertado o interesse em diversos campos da pesquisa científica (PEREIRA et al., 2006).

O século XXI está sendo marcado pelo notório desenvolvimento de novas tecnologias, onde o constante progresso da tecnologia de informação divide espaço no contexto mundial com a nanotecnologia, que vem, por sua vez, desempenhando

um importante papel no crescimento de diferentes outras tecnologias e ciências, pois apresenta ampla aplicabilidade (RAI, 2013).

O grande interesse no processo de desenvolvimento de nanomateriais está relacionado ao surgimento de inovadoras propriedades químicas e físicas desses materiais, que normalmente na escala maior não demonstra. Por exemplo, o ouro é quimicamente inerte na escala macroscópica, porém quando sofre transformações e tornando-se nanoparticulado é altamente reativo (MELO et al., 2010).

Através de estudos na área da nanociência, é possível o melhoramento dos materiais através da manipulação de suas propriedades ópticas, térmicas e magnéticas, por exemplo, a criação de sensores que são usados no espaço intracelular, fazendo com que seja entendido o funcionamento das células. O desenvolvimento e aplicação de nanoestruturas na medicina, atualmente, estão ampliando os horizontes com relação a identificação e quantificação de biomoléculas, bem como a possibilidade de diagnosticar doenças, por conta disso o avanço dessa área é bem visado pelos cientistas nos últimos anos (PEREIRA et al., 2006).

O processo de produção de filmes metálicos com espessura fina de 1 nm, ou até mesmo em menor escala, vem sendo desenvolvido através de aplicações de materiais de natureza magnética, onde foi percebido o fenômeno de magnetorresistência gigante, comprovado em experimentos que apresentam multicamadas ultrafinas de materiais com magnetismo, intercaladas com filmes que não apresentam magnetismo, esses materiais são aplicados por exemplo, em discos de computadores, no mecanismo de leitura e gravação, devido a variação da resistência elétrica presentes nesses tipos de sistemas magnéticos (PEREIRA et al., 2007).

A nanotecnologia vem apresentando diversos avanços ultimamente, por ser um campo científico multidisciplinar, possibilita uma abrangência maior nas suas aplicabilidades, que vão desde segmentos na energia, indústria farmacêutica e eletrônica. A principal novidade nessa ciência é o seu princípio, no caso a ação diferenciada dos materiais em nanoescala, pois os mesmos apresentam propriedades físico-químicas, químicas e comportamentos diferentes de materiais em escala maior (ROSSI-BERGMANN, 2008). A utilização dos nanomateriais tem

sido alvo de interesse por causa das suas potencialidades na área de óptica, eletrônica, catálise e biomedicina, dentre outras (ANDREIA, 2010).

A partir do momento que a nanotecnologia se torna mais visível e presente na sociedade brasileira através da mídia, automaticamente a população leiga poderá questionar os seus impactos ambientais, sociais e éticos, sendo então necessário que, os cientistas brasileiros se preocupem com essas temáticas. A nanotecnologia é capaz de ir além da produção e processamento de produtos do mercado de massa, pois ela pode colaborar no desenvolvimento de soluções relacionadas aos problemas na área de saúde pública e saneamento básico (SILVA, 2010).

Diversos países, incluindo o Brasil, apresentam iniciativas e programas nacionais na área das nanociências e nanotecnologia, tudo isso após o lançamento da intitulada “Iniciativa Americana de Nanotecnologia”, que é considerada um marco nas atividades governamentais de incentivo ao crescimento dessas inovadoras áreas (KNOBEL, 2005).

Por sua vez, o Programa Brasileiro de Nanotecnologia indica como princípios o processo de junção de alguns ministérios e agências, o aprimoramento da gestão e do monitoramento das ações, iniciativas e programas, a implantação de uma infraestrutura avançada e de fácil acesso para o desenvolvimento de pesquisas e inovações, dentre outros princípios (PLENTZ et al., 2013).

A interdisciplinaridade que a nanotecnologia apresenta, devido ao rompimento de fronteiras ditas tradicionais do conhecimento da química, engenharia, botânica, física, zoologia e agronomia, onde essa inovadora ciência tem sido bem aceita pela comunidade científica, por elucidar propriedades mecânicas, químicas, óticas, magnéticas únicas, dependentes da nanoescala, podendo também modificar o tamanho e a forma das nanopartículas e suas respectivas propriedades (RAI, 2013). A nanotecnologia apresenta um desenvolvimento rápido, pois tem a possibilidade de ser aplicada em variados campos, sendo então multidisciplinar, no processo de desenvolvimento de dispositivos e materiais de escalas nanométricas (GOGOI, 2013).

2.2 Nanopartícula de Ouro Coloidal

As nanopartículas de ouro (Au) são identificadas como partículas coloidais sólidas com tamanho aproximado de 1 – 100 nm, podendo apresentar a composição de: Carbono, fosfolipídios, polímeros e metais (L'AZOU et al., 2008). Por mais que seja um campo de estudo em crescimento, o estudo químico de nanopartículas, assim como seu próprio conceito já existem registros anteriores, no caso, do século XIX. As nanopartículas de Ouro anteriormente eram descritas e citadas como “ouro solúvel” pelos egípcios no século VI a.C. O pesquisador Hans Heinrich, no século XVIII, fez uma publicação sobre coloides de ouro, em seguida, no século XIX, Faraday descreve detalhadamente a síntese de nanopartículas de ouro através da redução de cloroaurato aquoso. A medicina já aplicava essas nanopartículas de ouro no exame diagnóstico da sífilis, mas também tem registros na área artística, como na construção de vitrais em igrejas (DANIEL et al., 2004). A absorção de radiação próximo ao infravermelho das nanopartículas de ouro, possibilitam a sua utilização em vidros térmicos para fazer uma redução na passagem de radiação nociva (SMITH et al., 2002), também pode-se aplicar na terapia de tumores, pois sua radiação incide no tecido tumoral, existem outras aplicações, pois as nanopartículas de ouro são biocompatíveis, sua síntese não é complexa, assim como, apresenta fácil controle das propriedades químicas e físicas (O'NEAL et al., 2004).

O elemento químico ouro (Au) tem comportamento de grande inércia quando submetido a agressões com aspecto corrosivo. Essa propriedade do metal possibilita um vasto espectro de aplicabilidades e também uma eficaz capacidade catalítica quando preparado mediante técnicas especializadas na obtenção de nanopartículas (MA et al., 2006). A possibilidade de utilização de nanopartículas de ouro ou ouro coloidal vem se expandindo devido à criação de dispositivos eletrônicos e ópticos, assim como a possibilidade de manufaturados de sondas que detectam e identificam biomoléculas de interesse na medicina (GUO et al., 2005)

O ouro no estado sólido tem coloração amarela, porém é percebido que na escala nanométrica o ouro pode apresentar variadas cores de acordo com as dimensões das nanopartículas, por exemplo: partículas com 100 nanômetros são de colocaração púrpura rosada, já na nanoescala de 20 nm são avermelhadas e a cor marrom-amarelada é percebida quando a nanopartículas tem 1nm. Onde essas

diferenças de cores acontecem devido ao surgimento de efeitos quânticos relacionados ao tamanho (RAI, 2013).

A bioengenharia, a técnica de diagnóstico molecular, a detecção de agentes biológicos e agentes químicos, tem crescido consideravelmente devido a excelente integração entre a biologia e nanotecnologia. Alguns avanços nessas referidas áreas são resultados do desenvolvimento de sensores bioanalíticos que tem como função a capacitação de dispositivos para reações seletivas de biorreconhecimento. Nesse contexto, as nanopartículas apresentam aspectos particulares, tais como propriedades de condutibilidade e colorimétricas, que tem aumentado o seu uso na detecção de moléculas biológicas. A sua grande eficiência na identificação e no diagnóstico de algumas doenças, está relacionado a possibilidade dessas nanopartículas de ouro se conjugarem com diversos microrganismos patogênicos, assim como a sua utilização no reconhecimento e sequenciamento do DNA (KIM et al., 2006).

Os métodos eletroquímicos e redução são muito empregados em procedimentos de síntese de nanopartículas, possibilitando a criação de diversos parâmetros, porém os sistemas biológicos veem sendo utilizados nessas sínteses de forma crescente, podendo formar partículas biocompatíveis. (ANDREIA, 2010).

A atividade catalítica das nanopartículas de ouro, pode ser comprovadas nas reações de oxidação do monóxido de carbono, dissociação de dióxido de enxofre, redução de R-NO₂ e NO_x, e na oxidação de diversos álcoois (MERTENS et al., 2005). A propriedade das nanopartículas de ouro de se ligarem a macromoléculas, vem sendo muito aplicada em processos de encapsulação de materiais de utilizações clínicas (SUN et al., 2004), alguns estudos citam a utilização dessas nanopartículas encapsuladas com colágenos e hepatócitos. As interações entre as moléculas do ouro e os agentes biológicos, ocorrem pela mimetização de ligação cruzada e assim ressalta a eficiência mecânica do material que foi encapsulado (WANG et al., 2004).

A eletroanálise é uma área de estudo que tem utilizado vastamente as nanopartículas de ouro. Alguns experimentos podem comprovar a eficácia dessas nanopartículas na modificação de superfícies eletródicas com finalidade de imunoenaios e também na construção de sensores (WANG et al., 2006).

O ouro apresenta seu brilho dourado devido a reflexão especular, porém na forma de filmes bem delgados que transmitem a luz, esse metal tem coloração verde, porém o ouro apresenta a capacidade de assumir diversas cores, enquanto nanopartículas (TOMA et al., 2005). Alguns estudos demonstram que absorção da luz é influenciada pelo tamanho das partículas de ouro, podendo emitir diferentes tons de cores de acordo com o tamanho de suas nanopartículas, podendo apresentar a cor arroxeadada, rubi, negra e amarela (JUNQUEIRA et al., 2012). As nanopartículas de ouro apresentam a cor vermelha, com as dimensões entre 2nm e 10 nm, por causa das transições das bandas plasmonicas superficiais, em contrapartida é observado à coloração violeta em dimensões maiores, pois a densidade de estados eletrônicos é aumentada e assim ocorre a diminuição da energia de transição entre as respectivas bandas. Conclui-se então que as nanopartículas de ouro com diâmetros de 9, 15, 22, 48 e 99 apresentam absorção máxima em 517, 520, 521, 533 e 575 nm, respectivamente, em meio aquoso (TOMA et al., 2005).

A literatura indica que, somente alguns procedimentos são primordiais na geração de nanopartículas de ouro, sendo que, os mais relevantes são os que utilizam a redução de ácido cloroáurico (HAuCl_4) com silicatos (GHOSH et al., 2003) ou mesmo boridretos (ZHANG et al., 2006). Algumas metodologias citam a utilização de raios laser (MAFUNÉ, 2004) ou processos sono-químicos a partir de uma superfície de partículas metálicas; a utilização, pode-se também utilizar a redução da eletroquímica de íons de ouro, de forma direta em poros de matrizes à base de filmes de alumina anodizada (STOLERU et al., 2005).

Um método muito utilizado na síntese de nanopartículas de ouro, é baseado na redução e estabilização dessas nanopartículas por meio do íon citrato. Uma camada estabilizante é extremamente necessária para que as nanopartículas de ouro mantenham sua estabilidade e dispersão em uma suspensão, também evita a aglomeração, por meio de impedimento estérico ou mesmo repulsão eletrostática. É percebida a agregação devido o deslocamento da banda de plasmons para a região que apresenta energia menor (TOMA et al., 2005).

Diversos dispositivos tecnológicos, atualmente, estão sendo desenvolvidos com a utilização de nanopartículas metálicas. Muitos mecanismos foram

aprimorados na produção de nanopartículas metálicas, a grande maioria relacionado à síntese química, porém também são desenvolvidos métodos físicos, ou mesmo mecânicos (XIA et al., 2009). Particularmente, as nanopartículas em geral, apresentam um tamanho de 1 nm à 100 nm, demonstrando assim, propriedades únicas que não se encontra no mesmo material no estado sólido, por essas peculiaridades os materiais nanoparticulados são vastamente estudados na atualidade, pela sua possibilidade de emprego nas áreas de médicas, farmacêuticas, ambientais, energéticas, cosméticas, e outras áreas (TOKONAMI et al., 2012).

O tipo de método mais utilizado na síntese das partículas metálicas de prata, ouro, ródio e platina, é o método do Citrato, também conhecido como o método Turkevich, que tem como mecanismo principal a reação de óxido-redução em meio aquoso, entre um sal metálico solúvel e o citrato (TURKEVICH et al., 1951), como por exemplo, demonstrado na equação abaixo:

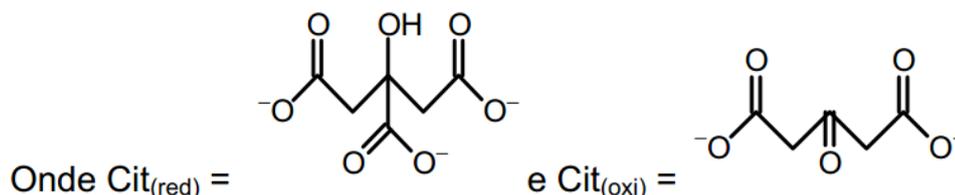
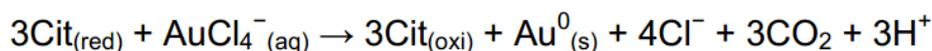


Figura 1 - Equação da reação de óxido redução em meio aquoso do Citrato e o Ácido Cloroáurico.

O método Turkevich tem a característica de ser bem rápido, fácil de reproduzir, com a capacidade de produzir nanopartículas de tamanho aproximado de 20 nm, é um método seguro, pois é feito em meio aquoso e também barato comparado a outros tipos. A grande vantagem desse método, é devido ao comportamento do anion como redutor do sal metálico e estabilizador das nanopartículas, não se fazendo necessário a utilização de substâncias estabilizadoras. O citrato, não é o único agente redutor utilizado nesse método, pode-se também empregar o ácido tartárico ou mesmo o ácido ascórbico (VICENTINI, 2013).

Um dos métodos muito utilizado na síntese de nanopartículas é feito através da redução com borohidreto de sódio, com a utilização de íons citrato como substância estabilizante (TURKEVICH et al., 1951). Dessa forma, o borohidreto é absorvido na superfície das nanopartículas, que ficam carregadas negativamente, dificultando assim, através da repulsão entre elas, a agregação das nanopartículas, como por exemplo, numa oxidação-redução (VICENTINI, 2013).

O método de Brust, atualmente, tem sido muito utilizado no processo de obtenção de nanopartículas de ouro, onde a reação de redução ocorre em meio bifásico entre o Ácido Cloroáurico e borohidreto de sódio, com a presença de um alcanotiol. Através desse processo possibilita obter nanopartículas de Au com tamanho aproximado de 1 a 3 nm, que ficam estáveis durante semanas, sem ocorrer agregação ou decomposição das suas propriedades (BRUST et al., 1994).

O campo da genética tem empregado as nanopartículas de ouro como sondas de sinalização no processo de detecção ultrasensível de material genético. Dentre os materiais nanoparticulados, as nanopartículas de ouro são muito utilizadas para detecção de ácidos nucleicos em pesquisas com *Mycobacterium sp*, Vírus da gripe H5N1 e *Escherichia coli*, por apresentarem propriedades ópticas e notória capacidade de funcionalização com diversas biomoléculas (ROSA et al., 2013).

As nanopartículas metálicas por apresentarem propriedades eletrônicas e químicas, como estabilidade química e elevada atividade catalítica, são potencialmente bem empregadas no ramo tecnológico e científico, de modo que, a comunidade científica tem demonstrado muita aplicabilidade dessas nanopartículas nas áreas ópticas, magnéticas, fotocatalises, catálises e eletrônicas, por isso o emprego da síntese e reprodução de nanopartículas metálicas estáveis é extremamente importante (FRANZOI et al., 2011).

As dimensões reduzidas das nanopartículas metálicas possibilita uma grande atividade cinética, possibilitando muita interatividade com o substrato, porém é necessário a estabilidade dessas nanopartículas, para impedir um processo de aglomeração (AIKEN et al., 1999). Existem diversos métodos para o controle da estabilidade das nanopartículas metálicas, pois quando colocadas em solução, é importante a proteção estérica ou eletrostática por meio da utilização de polímeros

dissolvidos na água, surfactantes, sais de amônia quaternária e polioxoânions (DUPONT et al., 2002).

A nanotecnologia tem avançado bastante na área da medicina, seja no segmento de diagnósticos mais eficientes de doenças, na percepção de agentes patogênicos causadores de doenças bacterianas (FERREIRA, 1994), no tratamento de tecidos lesionados ou mesmo no aprimoramento de processos compatibilidade de tecidos implantados (GOMES, 2009). Mas além da medicina, outras áreas como a indústria se beneficiam pela aplicação da nanotecnologia, pois são capazes de produzir tecidos mais resistentes, com propriedades antibacterianas ou mesmo a prova de água (SAHIN et al., 2005), já indústria de alimentos usa lipossomos na produção de alimentos eficazes na contaminação de microrganismos, também produz alimentos mais ricos em nutrientes, com novas texturas e sabores (KAUFMAN et al., 2007). Os cosméticos e filtros solares são desenvolvidos atualmente, baseados em pesquisas relacionadas a nanociência, com o intuito de melhorar esses produtos e ampliar a sua posterior comercialização (GOMES, 2009).

A comercialização de produtos em nanoescala é uma realidade atual, em destaque estão o ouro, prata, cobre, dióxido de titânio, nanotubos de carbono, dentre outros. Essas nanopartículas tem a potencialidade de melhorar outros produtos, sendo colocadas no mercado com o intuito de melhorar a qualidade de vida das pessoas (RASHBA et al., 2003).

As nanopartículas de ouro apresentam como características marcantes, uma excelente funcionalização, que possibilita uma maior especificidade para a ligação de proteínas diversas, possibilitando assim, a formação de nanobioconjugados com distintas funções e propriedades, podendo ser aplicadas na produção de biossensores (YOU et al., 2006).

O ponto principal da nanotecnologia é a possibilidade de trabalhar em nível molecular, atômico e macromolecular como o intuito de criar dispositivos, materiais e sistemas com propriedades e aplicabilidades inovadoras (ROCO, 2001). O objeto de estudo são os átomos, moléculas, nanopartículas, nanocamadas, nanofios ou mesmo nanotubos. Sendo assim, os estudiosos nessa área, podem atingir escalas bem além da sua limitação normal de tamanho e podem trabalhar de forma direta com os blocos de matéria. É importante o alcance do controle do nível de

nanoescala e também na integração para obtenção de escalas macros (GAI et al., 2002). O desenvolvimento de habilidades para reorganizar a matéria em nanoescala é potencialmente um método econômico para a obtenção de sua funcionalidade, visando um produto com elevado valor agregado (FERREIRA et al., 2009).

O ouro é um metal nobre e denso, encontrado puro na natureza, apresenta grande inércia, não sendo assim oxidado por agentes oxidantes fortes, como o ácido nítrico (BROWN et al., 2005), por essas suas características foi um dos primeiros materiais manipulados pelo homem, esse metal tem coloração dourada, aspecto brilhante, é resistente a corrosão, maleável e dúctil (MAAR, 2008). Os egípcios em tempos remotos, já utilizavam nanopartículas de ouro em suspensão, como um elixir de longevidade, sendo uma bebida com capacidade de alongar a juventude e estimular a mente (JUNQUEIRA et al., 2012).

O ouro pode ser empregado como fármaco na forma de auranofina, sendo eficaz no tratamento de artrite reumatoide (MEYER et al., 2011), também esse metal pode ser utilizado como antitumorais, na eliminação de tumores sólidos, diagnóstico do câncer, pois faz uma análise e localização eficaz de tumores internos, além disso, as nanopartículas de ouro, são utilizadas para detectar a *salmonella* e gravidez (JUNQUEIRA et al., 2012).

No âmbito industrial, o ouro é bastante aplicado devido as suas propriedades excelentes de reflexão de raios solares, na confecção de satélites, em visores de trajes espaciais, também esse metal é muito empregado em computadores, chaves elétricas e telefones, por ser extremamente resistente a agentes corrosivo e alta capacidade de condução de energia elétrica e calor. Os eletrodos de ouro são utilizados no campo eletroanalítico e eletroquímico (JUNQUEIRA et al., 2012).

As nanopartículas de ouro coloidal em óxido de zinco com densidade de área bem caracterizada geram um efeito plasmônico com uma extensão espacial de 20 nm. Estes resultados são consistentes em simulações experimentais que mostram uma redistribuição do campo óptico no interior da célula pela presença de nanopartículas de ouro, resultando numa redução no campo óptico na camada ativa (WANG et al., 2012). As nanopartículas de ouro podem ser empregadas como novos agentes de contraste para a detecção óptica devido as suas excelentes características. A utilização dessas nanopartículas na medicina é um caminho muito importante que a

nanotecnologia está seguindo neste momento. Estudos demonstram que nanobastões de ouro apresentam forte absorção e espalhamento de luz infravermelha, facilitando a identificação de células cancerígenas em processos terapêuticos (HUANG et al., 2006).

2.3 Características da Andiroba (*Carapa guianensis*)

A andiroba (*Carapa guianensis*) é uma espécie amazônica muito popular, devido seus diversos usos. A utilização madeireira dessa planta tem se intensificado devido à retirada predatória e conseqüente escassez de outras madeiras de “lei”, tais como cedro (*Cedrela sp.*) e mogno (*Swietenia macrophylla*) (MELLINGER, 2006), sua madeira é de coloração avermelhada, pesada e bastante resistente à ação de cupins, muito utilizada para fabricar móveis, barcos e construção civil (NEVES et al., 2004). A espécie *Carapa guianensis* foi descrita primeiramente no ano de 1775, na Guiana Francesa, pelo botânico francês Jean-Baptiste Christopher Fuseé Aublet (MENEZES, 2005).

O termo andiroba é oriundo dos indígenas (“landi”, óleo e “rob”, amargo) e denomina as espécies do gênero *Carapa* que são pertencentes a família do Mogno (DA SILVA, 2005). O extrato extraído da andiroba tem finalidade medicinal e cosmética, além disso, sua casca também apresenta propriedades medicinais (MELLINGER, 2006), produtos extraídos da planta, que pode ser administrado de forma tópica ou via oral na forma de chá, não existem registros em literaturas referentes à sua ação tóxica no organismo (COSTA-SILVA et al., 2007).

A andiroba não apresenta produtos que podem ser empregado na alimentação (DA SILVA, 2005), a utilização da planta é simples e manual, feita nas casas de diversas comunidades amazônicas, normalmente por mulheres (TONINI et al., 2008). Com relação à pesquisa agrícola, se faz necessária uma melhor instrumentação ou talvez o desenvolvimento de procedimentos mais eficazes para utilização dessa planta, também é importante ressaltar o processo de fermentação, que quando não é desenvolvido de forma correta, se torna limitante nessa atividade extrativista, que apesar de lucrativa, é bastante trabalhosa. Devido a grande procura pelos insumos provenientes da andiroba e seus altos preços, muitas vezes seus produtos são adulterados, então seria pertinente a produção de indicadores para

evitar fraudes, que poderiam até colocar em risco a saúde das pessoas que adquirem e usam esse produto (MENEZES, 2005). Das folhas das andirobeiras e cascas são feitos chás, que auxiliam o combate de doenças de pele e de outras infecções (TONINI et al., 2008), componentes dessa planta tem ação anti-inflamatória comprovada, analgésica, antialérgica, também é usado como repelente de insetos (FERRARI et al., 2007), como apresenta excelente potencial farmacêutico, é utilizado no tratamento de ferimentos, contusões, infecções na garganta, reumatismo, artrite, infecção de ouvido e até é empregado no tratamento de células cancerígenas no útero (COSTA-SILVA et al., 2007), inclusive essa prática é tradição de algumas comunidades amazônicas e etnias indígenas. A utilização da *Carapa guianensis* tem relação com os costumes locais dessas comunidades, assim como a densidade da Andiroba na região, nas áreas com menor densidade é mais comum a extração da madeira, já em áreas com maior densidade é mais percebido a extração do óleo das sementes. Essa espécie, comparada às demais tropicais, apresenta-se em maior densidade, porém é percebido que a pequena quantidade de espécies que atingem a vida adulta, dificulta a exploração sustentável nessas regiões. Mesmo com o apelo mercadológico e sua alta densidade em florestas tropicais, a *C. guianensis* não apresenta dados precisos sobre aspectos econômicos e ecológicos sobre a extração e processamento dos seus produtos, assim como impactos relacionados a dispersão e predação de sementes por mamíferos terrestres e insetos (TONINI et al., 2009).

No Brasil colônia o uso da Andiroba foi difundido pelos indígenas, sendo que eles já utilizavam os benefícios dessa planta há muito tempo. Na Europa essa espécie era conhecida por fornecer benefício medicinal, combustível e madeira bem resistente. (TONINI et al., 2009). Os índios representantes da etnia Munducurús desde a época do descobrimento do Brasil, também já usavam a andiroba como ingrediente para mumificar a cabeça dos inimigos abatidos em confrontos, que depois eram expostas e serviam como troféu de bravura após as batalhas (NEVES et al., 2004).

Na Amazônia o uso da Andiroba é bastante antigo, principalmente pelos nativos, no Século XIX foi vastamente usado para iluminar a cidade de Belém. Porém devido a crise do querosene na Primeira Guerra Mundial, esse recurso foi

novamente empregado em diversas cidades da Amazônia até a descoberta do petróleo era muito comum o uso de óleos de procedência animal e vegetal (MENEZES, 2005).

As Andirobeiras são encontradas em abundância na floresta Amazônica, porém o uso abusivo desse recurso vem provocado uma escassez crescente, principalmente depois que houve uma difusão de novas fontes de energia para a iluminação, fazendo com que a madeira da Andiroba seja mais explorada, mesmo com a proibição por parte de entidades governamentais. Essa planta por apresentar propriedades benéficas variadas, desperta o interesse de diversas empresas internacionais, inclusive no ano de 1999 a Rocher Yves Biolog Vegetale registrou e patenteou a composição farmacêutica e cosmética contendo extrato de Andiroba, nos países: Estados Unidos, União Européia, França e Japão. No mesmo ano a empresa Morita Masaru, fez a aquisição no Japão, da patente sobre aditivos repelentes de insetos mediante produtos da andiroba. Após denúncias na imprensa nacional, o governo federal editou uma medida provisória que condiciona o acesso a recursos naturais à autorização da União e prevê a partilha de benefícios, caso haja comercialização ou uso. É importante salientar, que o controle da biopirataria é feito a partir de tratados e acordos que impossibilitam a patente de recursos naturais que não apresentam com clareza sua procedência (MENEZES, 2005).

Em 2002, a vela de andiroba foi desenvolvida e colocada no mercado pela Fundação Oswaldo Cruz, com a finalidade de combater o vetor transmissor da dengue e febre amarela (FREIRE et al., 2006). O bagaço residual da extração da andiroba é utilizado como matéria prima na produção dessas velas, e a FioCruz liberou a fabricação delas para dez empresas, que são fiscalizadas periodicamente para garantir a correta aplicação dessa tecnologia desenvolvida (MENEZES, 2005). A andiroba pode ser empregado como larvicida de moscas (*Musca domestica*), pois tem ação fitoterapêutica e controla as superpopulações desse inseto (FARIAS et al., 2009). Na composição da andiroba podemos encontrar fibras, lipídios, minerais e ácidos graxos (PEREIRA et al., 2012).

A espécie *C. guianensis* pertence à família Meliaceae, normalmente cresce agrupada, em locais alagadiços e ambientes de várzeas, mas também podem se desenvolver em ambientes de terra-firme, ela é encontrada na América Central e na

América do Sul, nos países: Brasil, Peru, Venezuela, Equador e Colômbia (MELLINGER, 2006), nessas regiões endêmicas, a andiroba apresenta elevada densidade populacional (RAPOSO et al., 2007). Geralmente desenvolvem-se próximas a seringueira, árvores de jaboti, ucuuba, pracaxi, dentre outras (MENEZES, 2005). No gênero *Carapa* encontra-se duas espécies distintas, que são *C. guianensis* e *C. procera*, a espécie *Carapa procera* ocorre também na América do Sul e na África, sendo que ambas, podem ser encontradas na região amazônica e principalmente no estado do Amazonas e são vulgarmente chamadas de iandiroba, carapinha e andirova (FERRARI et al., 2007).

Essa espécie arbórea de grande porte, apresentando uma média de 25-35 m de altura (MELLINGER, 2006), podendo até alcançar 55 metros e 200 cm de diâmetro, é uma árvore decídua, seu fuste é reto e cilíndrico, algumas vezes apresentando sapopemas, a casca do tronco é grossa e de sabor amargo, desprendendo-se com facilidade em placas grandes (TONINI et al., 2008), sua copa é mediana, composta e bastante densa, com ramos eretos e pouco curvados, as folhas são paripinidas, compostas e alternadas.

A *Carapa guianensis* é encontrada na floresta tropical, normalmente em locais bem variados com relação à luminosidade, sendo que a intensidade de luz não interfere no seu desenvolvimento inicial, pois suas sementes apresentam reservas nutritivas que ampliam a resistência, são assim, por um bom período, independentes da fotossíntese (MELLINGER, 2006).

Essa espécie apresenta crescimento rápido, porém suas taxas de fotossínteses em condições ideais de luz, disponibilidade de CO₂ e umidade relativa do ar, foram baixas, em comparação a outras espécies arbóreas que indicam igual crescimento, demonstrando que a taxa de assimilação é influenciada por outros fatores, tais como taxas de respiração, a eficiência em translocação de assimilados e a superfície da folha (COSTA et al., 2007).

A *Carapa guianensis* é cultivada no Brasil habitualmente em solo tipo latossolo amarelo, ácido, argiloso, com profundidade, bem poroso, considerável drenagem, mas com pobreza de nutrientes. A região onde essa planta é cultivada é quente e úmido, com aproximadamente as taxas pluviométricas de 2.937 mm

anuais, temperatura média de 27.8 °C, a umidade relativa do ar é em torno de 89% (NEVES et al., 2004).

2.4 Síntese Verde de Nanopartículas de Ouro

As sínteses de nanopartículas metálicas apresentam como dificuldades principais a estabilidade de suspensões coloidais, pois essas nanopartículas apresentam uma elevada energia superficial, possibilitando uma rápida agregação das partículas na formação de metal-metal (PARK et al., 2004). Sendo assim, são necessários nesses processos de sínteses a utilização de estabilizadores, que são adsorvidas nas superfícies dessas nanopartículas, formando uma camada que impossibilita a fusão. Nesses processos são muito utilizados os estabilizadores: poli (vinilpirrolidona), ácido poliacrílico e poli (Álcool vinílico), pois apresentam, na sua constituição, sítios básicos de Lewis com elevada afinidade pelas nanopartículas metálicas, e também cadeias orgânicas longas que impedem interações entre as referidas partículas. A verificação da estabilidade das suspensões é muito relevante devido a finalidade de observar fenômenos físicos nas nanopartículas de ouro nesse determinado meio (MELO JR et al., 2012). Para isso, é necessário a realização de testes de estabilidade nessas amostras, com a adição de substâncias que tem a possibilidade de interferir nessa estabilidade do meio reacional. Por exemplo, a adição da cistamina que apresenta centros básicos de Lewis posicionados em diferentes extremidades da molécula, possibilita a criação de uma ponte que tem a função de possibilitar a junção das nanopartículas de ouro presente no meio (OLIVER-HOYO et al., 2007).

Para que ocorra a redução de Au^{3+} para Au^0 é necessário a ação do agente de redução citrato de sódio, que possibilita então a formação de nanopartículas com rede cúbica de face centralizada, com seu tamanho definido pela concentração de citrato de sódio encontrado no meio. A introdução dos íons Au^{3+} ao meio reacional é feita com o auxílio do ácido tetracloroárico (MELO JR et al., 2012). Em processos de formação desse tipo, é observado uma mudança de coloração do meio reacional, que vai do incolor até o lilás, depois adquire a cor vermelha, que se intensifica até finalizar a síntese (MCFARLAND et al., 2004).

O cientista Michael Faraday foi o pioneiro no estudo aprofundado das nanopartículas de ouro, no ano de 1857, ele desenvolveu o primeiro método de síntese em escala nanométrica, que se baseia no processo de redução do Ácido Cloroáurico em meio bifásico aquoso/dissulfeto de carbono. Durante um bom tempo as nanopartículas de ouro foram usadas de forma ínfima pelos estudiosos da área, porém na década de 40, surgiu um inovador método de síntese de nanopartículas, desenvolvido por Turkevitch et al, que consiste na redução do Ácido Cloroáurico por íons citratos que atuam como estabilizadores e assim evitam processos de agregação dos materiais nanoparticulados (BONIFÁCIO, 2005).

Atualmente com o avanço da nanociência, as nanopartículas de ouro retomaram seu destaque em diversos campos da pesquisa, se tornando uma referência na área de nanomateriais. Mais recentemente, outro método de síntese foi desenvolvido, possibilitando ainda mais o avanço em pesquisas com nanopartículas de ouro, pois é um mecanismo eficiente na aquisição de nanoparticulados de ouro com tamanho reduzido. Esse método tomou como base a síntese desenvolvida por Michael Faraday, que utilizou o Borohidreto de Sódio como agente de redutor e alcanotióis em meio bifásico de tolueno e água (BONIFÁCIO, 2005).

O processo de funcionalização de biopolímeros com as nanopartículas de ouro, pode ser utilizada na criação de biossensores empregados na detecção de compostos orgânicos, como DNA, RNA e proteínas (DANIEL et al., 2004). Também a funcionalização dessas nanopartículas com alcanotióis e amidoferrocenilalcanotiol, possibilita identificar em solução grupos de ácidos fosfóricos e ácidos sulfúricos (GUO et al., 2007).

Os nanomateriais funcionalizados apresentam grande potencial nas aplicações em síntese de coloides, procedimentos fotoquímicos, na catálise, na criação de biossensores, no ramo da medicina, eletrônica, controle ambiental e no desenvolvimento de medicamentos (TANSIL et al., 2006). Os nanotubos de carbono e nanopartículas de ouro, dentre os nanomateriais, são considerados bastantes promissores em aplicações de catálise na nanociência. Por exemplo, os catalizadores de ouro apresentam efeitos comprovados dessas nanopartículas no desempenho catalítico (HELLAND et al., 2008). É importante salientar que até a

década de 80, o ouro era considerado um material inerte para a catálise, porém Haruta e col. demonstraram o contrário, devido as partículas de ouro com tamanho menor que 10 nm se ativavam em reações de oxidação do CO, isso em temperaturas baixas. Em bibliografias anteriores, o ouro era considerado inferior a outros metais nobres no aspecto catalítico, mesmo apresentando potencial seletivo em diversas reações observadas (FERREIRA et al., 2009).

O ponto de fusão do ouro, em comparação com outros metais, como platina e paládio, é mais baixo, sendo assim, quando se utilizava o método convencional de impregnação, acaba dificultando o depósito de ouro sobre óxidos metálicos, que apresentam dispersões altas (VAN HARDEVELD et al., 1969), porém tudo isso mudou, quando surgiu a possibilidade de depositar ouro nanoparticulado sobre óxidos metálicos, utilizando os métodos de deposição, precipitação e coprecipitação (HARUTA, 2004).

O ouro em alguns estudos recentes, apresenta a característica de ser cataliticamente ativo, em diversas reações como: oxidação seletiva de alcoóis, epoxidação do propileno (LANDON et al., 2002), síntese do cloreto de vinila (NKOSI et al., 1991), reações de acoplamento de ligações carbono com carbono e síntese de peróxido de hidrogênio, dentre outras. Além disso, o ouro apresenta um baixo preço no mercado internacional, em comparação a outros metais como paládio e a platina, ficando mais disponível no comércio, sendo empregado em catalisadores e vários processos catalíticos (CORTI et al., 2005).

As nanopartículas são a grande aposta na geração de novos materiais com propriedades mais otimizadas e controladas, em diferentes aplicações, sobretudo na catálise. Referente a isso, é desejado o alcance de atividades e seleção perfeitas, parecidas àquelas das enzimas. Os nanocatalisadores apresentam diversas estruturas complexas, comparados aos materiais em larga escala, são mais reativos, devido as suas propriedades particulares. Como por exemplo, os catalisadores de ouro são altamente ativos em diversas reações. Porém, se conhece ainda pouco sobre os sítios catalíticos, não tendo então, muitas bibliografias para referendar essas reações (FERREIRA et al., 2009).

Em pesquisas atuais, é necessário caracterizar de forma sistemática a morfologia, uniformidade e distribuição de forma e tamanho das nanopartículas, pois

o maior controle sobre estes parâmetros possibilitará a utilização destes materiais em diversas áreas do conhecimento (DAI et al., 2006). No processo de síntese química, é usual a redução do sal de ouro pela adição de agentes redutores. Em alguns métodos pode-se adicionar um agente estabilizador, que por sua vez se liga à superfície da nanopartícula de ouro formada e evita o processo de agregação na solução coloidal. Porém, em alguns procedimentos o agente estabilizador é o mesmo composto redutor, por exemplo o ácido cítrico (SPERLING et al., 2008).

O método mais utilizado para síntese de nanopartículas de ouro é realizado através da redução dos íons de ouro por citrato em sistema aquoso, onde possibilita controle do tamanho médio da nanopartículas de ouro pela razão entre agentes estabilizadores e redutores aplicados (TURKEVICH et al., 1951).

Nos dias atuais, a utilização de extratos de plantas ou microrganismos no processo de síntese de nanopartículas tornou-se um dos métodos alternativos diante dos métodos mais convencionais existentes. A escolha desta metodologia de síntese é atrelada a grande necessidade de desenvolvimento de protocolos de experimentos com visão ambientalista, que utilizam materiais renováveis e biocompatíveis, sendo também menos nocivos para a natureza como os solventes tóxicos e produtos químicos (SHARMA et al., 2009). Os métodos de biossíntese podem ser empregados na forma intracelular e extracelular, porém dependem dos microrganismos ou extratos, assim como suas respectivas concentrações e também os íons metálicos empregados no experimento. A biossíntese de Ouro utilizando extratos de plantas possibilita o beneficiamento do efeito sinérgico dos variados compostos redutores e assim fornece uma metodologia de síntese sem compostos químicos tóxicos .

A utilização de extratos de plantas como reagentes no processo de formação e nanopartículas de ouro tem sido amplamente empregados em experimentos de biossíntese (CHANDRAN et al., 2006), possibilitando que estas partículas apresentem diversos tamanhos inferiores a 100 nm e formatos variados, tais como: triangular, cúbico, esférico e pentagonal, dependendo do tipo de planta que foi utilizada, pois estas características dos materiais nanoparticulados são influenciados pelas moléculas biológicas existentes e extraídas do vegetal estudado (ANDREIA, 2010). Os compostos flavonoides e a aglicona de apiin são os agentes redutores

mais promissores no processo de redução utilizando extratos de plantas (BILIA et al., 2008).

O processo de nanopartículas metálicas leva em consideração três importantes fatores, que são: o agente que será utilizado na redução, o meio que a redução irá acontecer e o agente estabilizador da reação de síntese, onde as nanopartículas que são sintetizadas biologicamente apresentam formato esférico (RAI, 2013).

As plantas são capazes de gerar biomoléculas funcionas que fazem a redução ativa de íons de metais, também, elas protegem e estabilizam as nanopartículas. Vale ressaltar que, praticamente toda a estrutura da planta pode ser utilizada de modo eficiente no processo de síntese de nanopartículas, usam-se as folhas, sementes, látex e outras partes. A planta depois que morre pode também ser utilizada em processos de síntese, assim como compostos bioativos que são provenientes de plantas, tais como alcaloides, terpenos, polifenólicos e flavonoides (HUANG et al., 2007)

Os nanomateriais provenientes de biossínteses são bastante úteis no campo da medicina, bem como na agricultura. A transferência de genes de plantas, voltadas para o melhoramento da agricultura tem como base a síntese de nanopartículas, pois as técnicas de nanotecnologia utilizando o material genético já foram comprovadas pela categoria científica (RAI, 2013).

A utilização de métodos físicos e químicos na síntese de nanopartículas gera subprodutos tóxicos, prejudiciais ao meio ambiente e, sobretudo, são métodos que demandam de muito tempo. Sendo assim, são mais utilizados, atualmente, como alternativas ecologicamente corretas, os métodos de biossínteses, através do uso de microrganismos ou usando extrato vegetal. Algumas plantas são bio-redutoras e estabilizadoras de nanopartículas, pois contêm alcaloides, taninos, compostos aromáticos, dentre outros. Os principais materiais utilizados na fabricação de nanoprodutos são a prata, carbono, titânio, silício, zinco e ouro, esses produtos são bem empregados nas sínteses de nanopartículas com extrato de plantas (GOGOI, 2013).

2.5 Caracterizações do Ouro Coloidal e Extrato de Andiroba

Em ambientes aquosos, a acidez é sem dúvida uma das propriedades mais importante nos processos químicos, biológicos e físicas que se pode observar (CRANS et al., 2012). De acordo com literatura, o comportamento de nanopartículas de ouro em processos de sínteses físico-químicas que inicia na superfície de polimerização radical são dependentes do pH específicos, podendo essas nanopartículas terem um comportamento reversível, ou seja, algumas nanopartículas revertidas por proteínas enxertadas com polímeros termo sensíveis exibem um comportamento também termo sensível dependente de um pH ideal para esse processo (STROZYK et al., 2012).

Um dos métodos mais comuns no processo de detecção e caracterização das nanopartículas de ouro em extratos de plantas é a espectroscopia de UV-Vísivel (UV-Vis), porém pode-se empregar diversas outras técnicas que também fornecem informações relevantes na compreensão das suas características físico-químicas. O UV-Vis é uma técnica simples e direta para detectar nanopartículas de ouro, pois o fenômeno de ressonância plasmônica superficial é extremamente eficaz nessa metodologia (ANDREIA, 2010).

O espectro UV-Vis é uma das propriedades ópticas exibidas por nanopartículas metálicas. Os elétrons livres presentes no metal oscilam sua posição de equilíbrio, onde as cargas positivas de metais (núcleo atômico) ligam o conjunto do elétron livre, esta oscilação está localizada na superfície ou interface. Então, quando o vetor de onda da luz incidente corresponde ao comprimento de onda plasmonica de superfície, ocorre à ressonância de elétrons, estas ressonâncias são registradas por espectroscopia UV-Vis. De acordo com a literatura, a formação de nanopartículas de metais, são detectadas pelo espectrômetro de UV-Vis em diferentes tamanhos na escala nanométrica, sendo assim, os resultados encontrados no UV-Vis pode ser comparado a outros relatos de experimentos similares (CORBARI et al., 2008).

O potencial zeta é um termo científico utilizado para potencial eletrocinético em sistemas coloidais que tem um efeito importante sobre as propriedades de vários sistemas de materiais nanoparticulados. Atualmente, a utilização de transportadores coloidais na escala nanométrica está se expandindo em um ritmo crescente, devido

ao seu alto potencial para superar desafios antigos, como por exemplo, a baixa solubilidade de drogas. Além disso, eles demonstram uma capacidade ilimitada no campo da segmentação de substâncias. As propriedades de nano-medicamentos, tais como a partir de formas de dosagem de libertação em sítios específicos, bem como a circulação de drogas e de absorção em membranas de corpo são bem afetadas por algumas características físicas e químicas de nano-drogas, onde o tamanho das partículas e suas cargas são dois fatores principais que poderiam desempenhar papéis-chave a este respeito. Portanto, o efeito do potencial zeta em diferentes propriedades de sistemas que transportam substâncias deve ser bem estudado (HONARY et al., 2013).

Os espectros de infravermelho de uma amostra gerados a partir da técnica de espectroscopia de infravermelho contêm diversas informações no que diz respeito à estrutura molecular, permitindo assim caracterizar melhor essa determinada amostra em questão (DAZZI et al., 2012). A espectroscopia tornou-se um método popular de medição de espectros de amostras biomédicas e para outras finalidades, devido ao baixo custo em comparação com outras técnicas de caracterização, também apresenta uma absorbância mais elevada devido a uma dupla passagem através da mesma amostra de aproximadamente duplicando o comprimento do caminho eficaz (BASSAN et al., 2013).

A cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) tem colaborado na determinação de classes de compostos fenólicos. Nos últimos anos alguns novos métodos normais de HPLC de fase com várias detecções de sistemas, incluindo a espectrometria de massa, UV e de fluorescência (FLD), têm sido empregados, onde a maioria destes métodos só pode ser utilizado para analisar alguns compostos. Recentemente, um novo método de fase normal HPLC tem sido desenvolvido, o qual permite que a precisão na avaliação cromatográfica de todas as classes de moléculas, em massas fenólicas. A disponibilidade de um método de referência pode ser utilizada para investigar a veracidade das informações obtidas pelos métodos espectroscópicos, que são vulgarmente utilizados para caracterizar alguns fenóis (VRHOVSEK et al., 2015). Um método simples, específico, sensível e reproduzível, que é considerada a cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) (DHIMAN et al., 2015).

A síntese de partículas nanométricas com propriedades antibacterianas é de grande interesse no desenvolvimento de novos produtos farmacêuticos, nanopartículas metálicas são conhecidos por terem efeitos inibitórios e bactericidas. De acordo com a literatura, a atividade antibacteriana de nanopartículas metálicas, podem ser medidas pelo método de Kirby-Bauer, onde os resultados mostraram atividade bactericida razoável contra *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Staphylococcus aureus*. (GUZMAN et al., 2012).

As propriedades antibacterianas de insumos de plantas e seus componentes são utilizados na produção de suplementos de alimentos e produtos diversos, portanto esses produtos naturais são muito importantes como matéria prima nas indústrias. Suas toxicidades são relativamente baixas em comparação com a maioria dos intensificadores de penetração sintéticos. O rápido desenvolvimento de resistência aos agentes patogênicos mais conhecidos, os antibióticos, está se tornando um grave problema de saúde. Diante dessa problemática, o desenvolvimento de agentes antimicrobianos eficazes e potentes de uma fonte natural é uma área de grande importância para a ciência farmacêutica (MAJUMDER et al., 2014).

A hemólise é a destruição das hemácias por rompimento da membrana plasmática. A hemoglobina liberada apresenta efeitos adversos em relação ao sistema renal e cardiovascular, sendo assim, a indicação da atividade hemolítica nos extratos de plantas é de suma importância na caracterização desse redutor verde de nanopartículas.

Entre as características moleculares de hemoglobina extracelular é a translocação da molécula no espaço extravascular, ação oxidativa e reações do óxido nítrico na liberação hemina e também os efeitos de sinalização de hemina moleculares parecem ser o mais crítico no organismo (SCHAER et al., 2013).

3 MATERIAL E MÉTODO

3.1 Coleta das Folhas da Andiroba (*Carapa guianensis*)

A coleta das folhas de Andiroba (*Carapa guianensis*) foi realizada no dia 20 de Outubro de 2014, na estrada BR 364, km 26, coordenadas: 10°00'45.5"S 67°43'53.9"W, Rio Branco, Acre.

3.2 Obtenção do Extrato da Andiroba

O material coletado foi selecionado, para retirada das folhas injuriadas e separadas dos talos, sendo em seguida colocada na estufa de secagem a uma temperatura de 60 ° C por um período de 24 horas.

Após esse procedimento as folhas foram trituradas num processador, em seguida foi pesados 200 g de folhas trituradas, colocadas num balão volumétrico de 1000 mL na presença de 800 mL de água destilada e aquecida a 100^o C por 40 minutos sob agitação magnética, numa manta aquecedora; depois de resfriada à temperatura ambiente, é feito a filtragem para separação das partículas maiores e coloca-se o filtrado no ultra freezer a -80 °C até o congelamento total; depois esse material é liofilizado por 48 horas, finalmente o extrato liofilizado é acondicionado num pote de vidro âmbar e armazenado na geladeira para preservar suas propriedades. O procedimento para aquisição do extrato da *Carapa guianensis* foi realizado no Laboratório de Nanotecnologia da UFAC.

3.3 Preparação do Ácido cloro áurico tri-hidratado (HAuCl₄.3H₂O)

Dissolveu-se 100 mg de ouro metálico em 1,0 mL de água régia (1 volume de ácido nítrico concentrado: 3 volumes de ácido clorídrico concentrado) em um becker de 5,0 mL; aquecendo-se em banho-maria, por 15 minutos, à temperatura de 90 °C, até a evaporação total da solução de água régia, teve-se o cuidado para que a temperatura da solução não ultrapasse a esse valor a fim de evitar a decomposição do produto.

O ácido cloro áurico assim obtido se apresenta como cristais amarelos em forma de agulhas, o que depois foram dissolvidos os cristais em 100 mL de água bidestilada.

3.4. Síntese da Nanopartículas de Ouro com Extrato de Andiroba

O extrato de andiroba foi utilizado para a síntese de nanopartículas de ouro (AuNP). No processo de preparação das AuNP, primeiro foi pesado 30 mg do extrato liofilizado de Andiroba e diluído em 5,0 mL de água destilada (**Figura 2a**), sendo em seguida agitado no vortex por 3,0 minutos (**Figura 2b**) para homogeneizar o extrato; em seguida o material foi centrifugado, ficando no fundo do tubo de ensaio as partículas não diluídas do extrato (**Figura 3a**); depois o sobrenadante foi transferido para outro tubo de ensaio, com o auxílio de uma pipeta e essa fração utilizada para síntese das AuNP (**Figura 3b**).

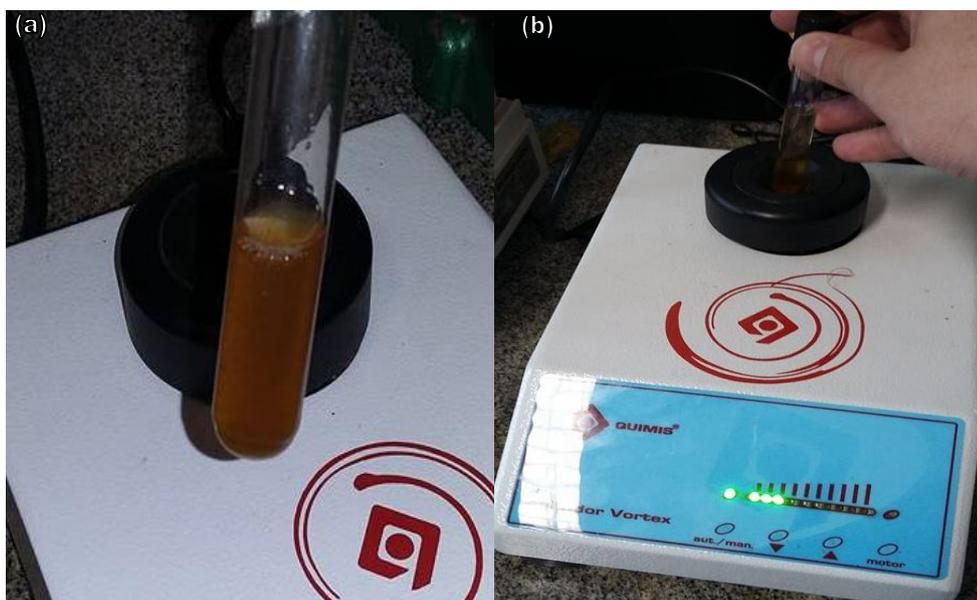


Figura 2 – (a) Extrato de Andiroba diluído em água destilada. (b) Agitação do extrato diluído.

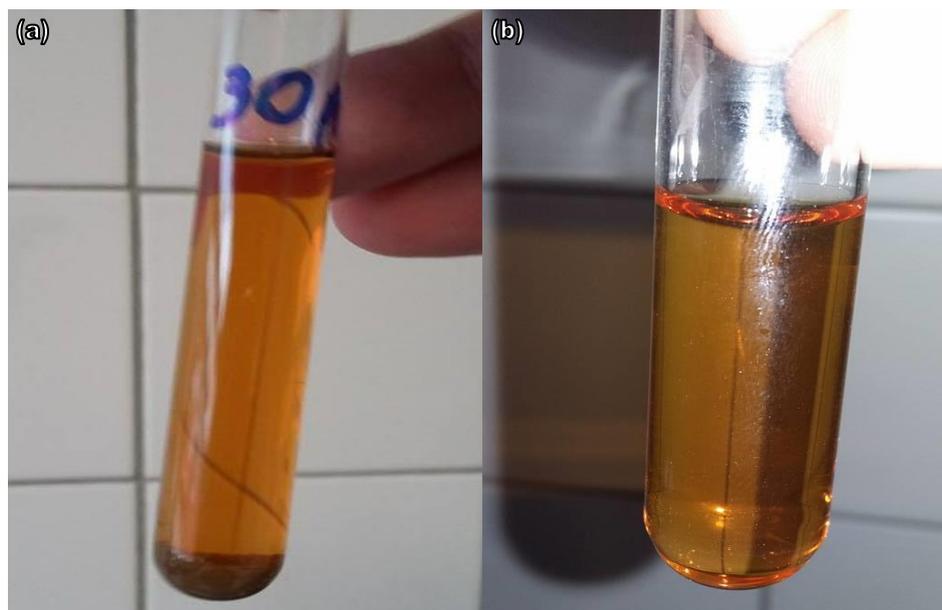


Figura 3 – (a) Extrato após centrifugação. (b) Extrato sem resíduos de partículas maiores.

Na etapa seguinte foram adicionados 400 μl de ouro coloidal (ácido cloroáurico) (**Figura 4**) ao extrato da planta, após alguns minutos o ouro reage com o extrato e a coloração da mistura torna-se lilás (**Figura 5**) indicando a síntese das Nanopartículas de ouro (AuNPs).

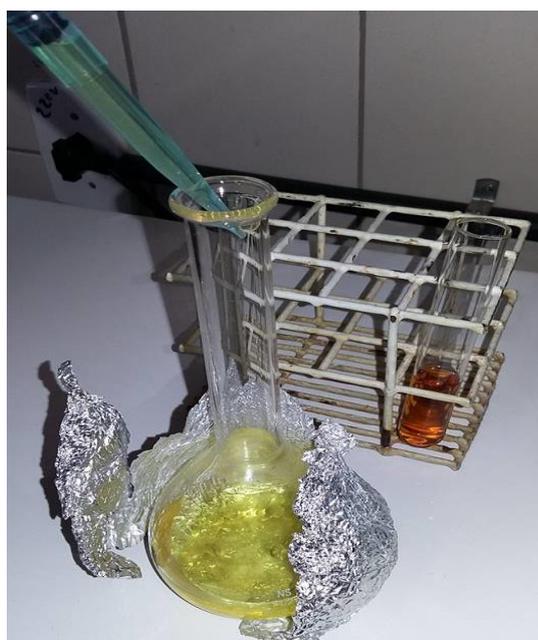


Figura 4 - Ouro coloidal (ácido cloroáurico).



Figura 5 - Ouro coloidal e extrato de Andiroba.

3.4 Caracterizações das Amostras do Nanopartículas de Ouro e Extrato de Andiroba

3.4.1 Determinação do pH

A medida do pH do extrato de Andiroba foi realizada através de papel tornassol, por meio de gotejamento de pequenas quantidades do extrato da planta diluído em água destilada nesse papel, assim como foi verificado o pH do mesmo extrato com a adição do ouro diluído (nanopartículas de ouro) após aguardar alguns segundos já é possível fazer a comparação com os valores indicados na tabela da embalagem desse material. Foi necessária a realização de triplicata para uma confirmação mais aproximada do resultado real, utilizando a metodologia desenvolvida anteriormente de (CHAIYANA et al., 2010).

3.4.2 UV-visível

A Espectrofotometria de UV-Visível é uma das técnicas mais utilizadas na análise de nanopartículas associadas a extratos de plantas, pois mede a quantidade de radiação ultravioleta ou visível que é absorvida por uma determinada substância em solução coloidal. Esse instrumento tem a capacidade de medir a relação, ou função da razão da intensidade de dois feixes de luz na região do UV-visível (BEHERA et al., 2012).

Os procedimentos operacionais são para obtenção do espectro e também para determinação do comprimento de onda máximo de absorção. Antes do procedimento com as amostras é necessário ajustar o comprimento de onda para varredura, tendo as soluções preparadas é feito a calibração com o branco, colocando água destilada na cubeta e levando para o equipamento que será devidamente calibrado. Após essa calibração é verificado todas as configurações do aparelho para o procedimento de obtenção dos espectros.

A cubeta deve ser lavada com água destilada, sem deixar resíduos, finalmente coloca-se a cubeta com as amostras no equipamento para obtenção dos espectros. Nas caracterizações de UV-vis feitas com as amostras do extrato da *Carapa guianensis* e o ouro coloidal, utilizou-se o aparelho modelo UV/VIS/NIR Spectrometer – Lambda 950, marca PerkinElmer (**Figura 6**), no laboratório de Nanotecnologia da UFAC.



Figura 6 – Espectrômetro UV-Visível Lambda 950.

Utilizando como referencial o estudo realizado por (RISTIĆ et al., 2006), onde fez a análise de produtos de plantas através da espectroscopia UV-Vis, sendo assim, foi feita as diluições das amostras do extrato da Andiroba, depois colocado em um equipamento da Spectrometer – Lambda 950, marca PerkinElmer devidamente calibrado com a curva padrão, no Laboratório de Bioprospecção e Síntese de Nanocompostos da Universidade Federal do Acre (UFAC), com o intuito de fazer as medições dos espectros para cada valor adquirido.

3.4.3 Espectroscopia de Raio-X

A amostra obtida da mistura do extrato da *Carapa guianensis* com nanopartículas de ouro foi submetida na espectroscopia de Raio-X, esse procedimento foi realizado no Laboratório de nanotecnologia na Universidade Federal de Brasília - UnB, Brasília, DF.

Para realizar a espectroscopia de raio-X, foi necessário preparar o extrato de andiroba contendo 30 mg de extrato liofilizado da planta diluído em 5 ml de água destilada, depois a amostra é homogeneizada no vortex, centrifugada, é descartado os resíduos que ficam no fundo do tubo de ensaio, retirando 4 ml da parte mais homogênea da mistura, após isso é acrescido 2 ml de ouro coloidal, espera-se a mudança da coloração da solução, chegando a cor lilás escuro, após isso é acrescido mais 8 ml de água destilado, que são depositados num tudo de falcon para a etapa de congelamento no tambor de nitrogênio líquido, ficando por cerca de 10 minutos, em seguida a amostra é colocada no liofilizador com temperatura aproximada de – 60°C. Os 15 ml da amostra fica liofilizando por cerca de 4 dias, pois é necessário que a amostra esteja em forma de cristais para a análise da espectrometria de Raio X.

3.4.4 Potencial Zeta Size

O potencial Zeta foi determinado mediante a medição da velocidade das partículas prontamente carregadas a partir da aplicação de um campo elétrico externo. O processo de medição das partículas emprega o mecanismo de espalhamento de luz dinâmica das referidas partículas em contrapartida a um determinado feixe de luz que é emitido por um raio laser com específica intensidade e comprimento, que atinge então as nanopartículas que são iluminadas e emitem luz proporcionalmente ao seu movimento. De acordo com os dados coletados, foi determinada a frequência de espalhamento dessas partículas, que define então o potencial zeta da amostra.

3.4.5 Espectroscopia de Infravermelho

A espectroscopia de Infravermelho do extrato da planta *Carapa guianensis* foi realizada através do aparelho FT-IR/NIR Spectrometer Frontier, marca PerkinElmer (**Figura 7**), por meio do seguinte procedimento: as referidas amostras do extrato diluído em água destilada, do extrato da andiroba liofilizado (pó), do ouro coloidal e do extrato da andiroba acrescida do Ácido cloroáurico, cada uma das amostras foram colocadas de maneira que preenchessem por completo o local (**Figura 8**) onde tem o prisma de cristal como acessório, assim a medição dos valores individualizado de cada amostra foi trabalhada na faixa de espectro de luz Infravermelho do aparelho utilizado. Esse método foi utilizado para caracterização do extrato Andiroba com nanopartículas de ouro, no laboratório de nanotecnologia da Universidade Federal do Acre – UFAC.



Figura 7 – Equipamento espectrômetro de Infravermelho.



Figura 8 – Prisma de cristal do espectrômetro onde as amostras são depositadas.

3.4.6 Atividade antibacteriana

As amostras obtidas foram submetidas ao ensaio de atividade antimicrobiana utilizando a técnica de difusão em disco segundo o NCCLS (2003). Para tanto, as bactérias patogênicas *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumoniae*, *Escherichia coli* e *Klebsiella pneumoniae* foram crescidas a 37°C por 4-6 h sendo sua turbidez ajustada para escala 0,5 de McFarland.

As bactérias então foram inoculadas em placas de Petri contendo meio Muller-Hinton, depositados sobre estes discos de papel e sobre estes 20 µL das amostras e incubados a 37 °C por 24 h. Posteriormente ao processo de incubação, foram considerados com atividade antibacteriana, as amostras que não permitiram o crescimento bacteriano ao redor do disco. Os halos de inibição produzidos foram medidos com ajuda de paquímetro digital.

Os ensaios feitos com a Amostra 1 que tinha o extrato da Andiroba diluído em água destilada, e amostra 2 contendo além do extrato, o ácido cloroáurico (nanopartículas de ouro), foram identificados como E1 (ensaio 1), E2 (ensaio 2) e E3 (ensaio 3), para ambas as amostras. A referida atividade antibacteriana das Amostras 1 e 2 foram feitas em triplicata, para fornecer repetitividade, também é importante ressaltar que os ensaios aconteceram em dias diferentes para observar de forma mais eficiente a reprodutibilidade das bactérias utilizadas. Sendo assim, os ensaios foram identificados com códigos específicos, tais como:

- ✓ ATCC 12508 (AS) – Bactéria *Staphylococcus aureus*;
- ✓ ATCC 11733 (SP) – Bactéria *Streptococcus pneumoniae*;
- ✓ ATCC 10536 (EC) – Bactéria *Escherichia coli*;
- ✓ ATCC 700603 (KP) – Bactéria *Klebsiella pneumoniae*.

Nessa atividade antibacteriana foram utilizados dois grupos distintos de bactérias: duas do tipo gram positivas (*Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumoniae*.) e duas gram negativas (*Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*), com o intuito de perceber a ação dos antibióticos através do espectro de ação, também para verificar se as amostras reagem, nos diferentes tipos de ensaios e grams de bactérias. Foi feito no Laboratório de Microbiologia da Universidade Federal do Acre (UFAC).

3.4.7 HPLC do extrato da Andiroba

A caracterização da amostra contendo o extrato de *Carapa guianensis* utilizou-se o Cromatograma de HPLC C18 em gradiente com água: ACN (0:100%), em temperatura ambiente, no Laboratório de Pesquisa de Produtos Naturais da Fundação de Tecnologia do Estado do Acre – FUNTAC.

3.4.8 Hemólise do extrato da Andiroba

As folhas das plantas foram secas, pulverizadas e percoladas por solução hidralcoólica, posteriormente o percolado foi congelado em - 80 graus e liofilizado no laboratório de nanobiotecnologia da Universidade Federal do Acre - UFAC. O material liofilizado foi pesado e solubilizado em tampão fosfato (PBS) 0,2M (pH 7,4) obtendo-se uma solução a 10mg/ml, em seguida foi feita clarificação a 3000 rpm por 10 minutos em ultracentrifuga refrigerada. 150 µl do sobrenadante foram coletados e usados para os ensaios.

Foi feita a coleta de amostras sanguíneas de humanos em anticoagulante (EDTA), que foram lavados com tampão PBS 0,2 M (pH 7,4) por centrifugação a 3500 rpm por 5 minutos (repetido 3 vezes). Com as hemácias lavadas foi preparada uma solução a 5% em tampão. As amostras de extratos foram adicionadas à solução de hemácias na proporção de 10%, e em seguida foram incubadas a 37°C por 5 minutos e centrifugadas a 3500 rpm durante cinco minutos. O sobrenadante foi coletado e analisado no espectrofotômetro a 545 nm. Para controle positivo foi usado o TRITON X - 100 a 10% e para o controle negativo foi utilizado tampão PBS.

4 RESULTADO E DISCUSSÃO

4.1 Determinação do pH

A medida do pH do extrato de folha da (*Carapa guianensis*) apresentou um valor de um ácido fraco (pH=5), já o extrato de Andiroba acrescido do ácido cloroáurico (nanopartículas de ouro) indicaram o pH= 1 (**Figura 9**), que é característica de ácido forte, ambos os resultados foram comparados as referências de valores (**Figura 10**).

É importante salientar que o pH é um dos parâmetros fundamentais na avaliação de extratos de plantas, devido as suas indicações de características químicas e de polaridades, também pode atuar como um sensor de estabilidade de um possível medicamento produzido por esse extrato, sendo assim, o pH de uma solução pode ser um excelente sinalizador de eventuais alterações químicas.

No caso do pH ácido, pode inibir o acesso de microrganismos patógenos presentes em medicações aquosas. Sendo assim, os valores observados nas amostras de extrato de andiroba dissolvido em água e também do extrato mais nanopartículas de ouro é possível compreender a influência das suas substâncias sobre o pH de possíveis líquidos extratores (LONGHINI et al., 2007).

As nanopartículas de ouro em solução tampão utilizadas no processo de redução de nitrofenol podem apresentar também o pH = 5, ácido fraco, que indica um pico irreversível relacionado à redução do grupo nitro a hidroxilamina, por meio de observações em voltametria cíclica (SIMON et al., 2012).

Estudos recentes demonstraram que a planta *Carapa guianenses* administrada em grande quantidade em ferimentos chega a desenvolver nos tecidos um efeito corrosivo, onde esse processo de dano tecidual pode ter sido atribuído a acidez da andiroba, que é de aproximadamente (pH = 4,4), apresentando então um efeito negativo em lesões (TEIXEIRA et al., 2012).



Figura 9 - Medida pH do Extrato de Andiroba diluído em meio aquoso/Extrato de Andiroba acrescido de nanopartículas de ouro.

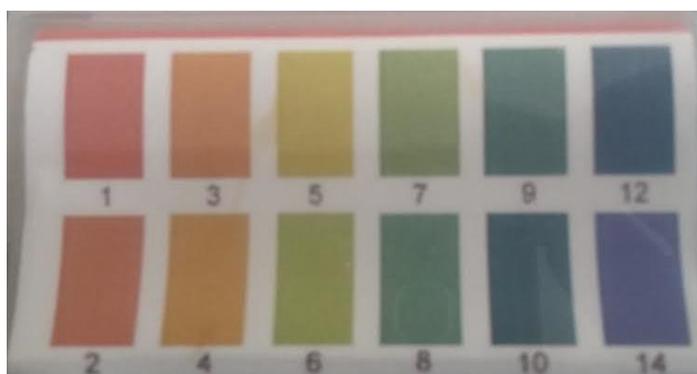


Figura 10 - Valores de referências do pH.

4.2 Ultravioleta Visível (Uv-Vis)

A utilização de UV-vis como caracterização do extrato de andiroba diluído em água destilada, da solução de ácido clorídrico, assim como do extrato de andiroba acrescido de nanopartículas de ouro, foi necessária para analisar em qual das amostras existe absorção dessas partículas e também comparar esses resultados, através de um teste rápido (HAISS et al., 2007).

Nessa caracterização as amostras que continham o extrato da folha da *Carapa guianensis* diluído em água destilada, nas medidas: 1/10 e 1/20, indicaram que ambas absorveram no mesmo comprimento de onda, no caso 278 nm (Figura 13). Porém, segundo bibliografia, quando os picos apresentam alta absorbâncias, ultrapassando 2, os dados não são aplicáveis, supondo que a transmitância

indicasse 100 % a absorvância máxima seria 2, como na amostra mais concentrada (1/10) houve transmissão acima de 100 %, aproximadamente 2,75, se faz necessário considerar e utilizar somente a amostra menos concentrada (1/20). É importante salientar que foram necessárias várias diluições para que chegasse ao valor de absorvância aceitável, onde apresentou o pico de absorvância de 278 nm.

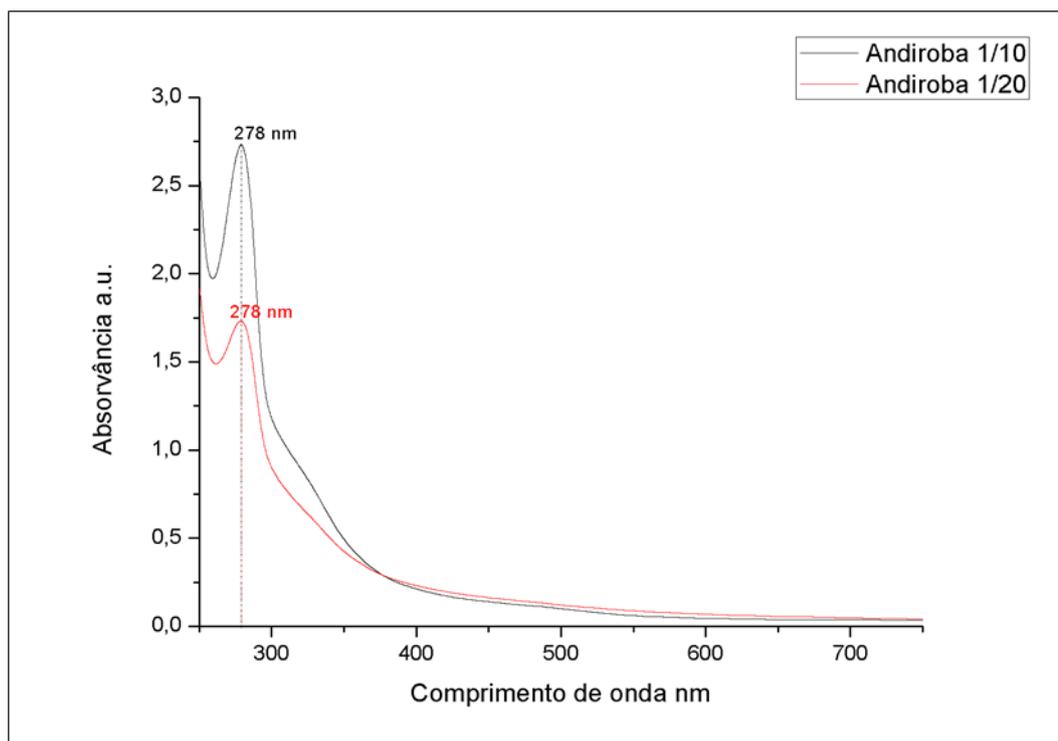


Figura 11 - Ultravioleta visível do extrato de andiroba (*Carapa guianensis*).

As amostras que continham o ouro em forma de ácido cloroaurico nas diluições: 1/20 e 1/8, apresentaram picos de absorvâncias diferentes, no caso (1/20) indicou aproximadamente 290 nm e a amostra (1/8) apresentou valor em torno 293 nm, uma diferença de apenas 2 nm do comprimento de onda onde as amostras absorveram (**Figura 12**).

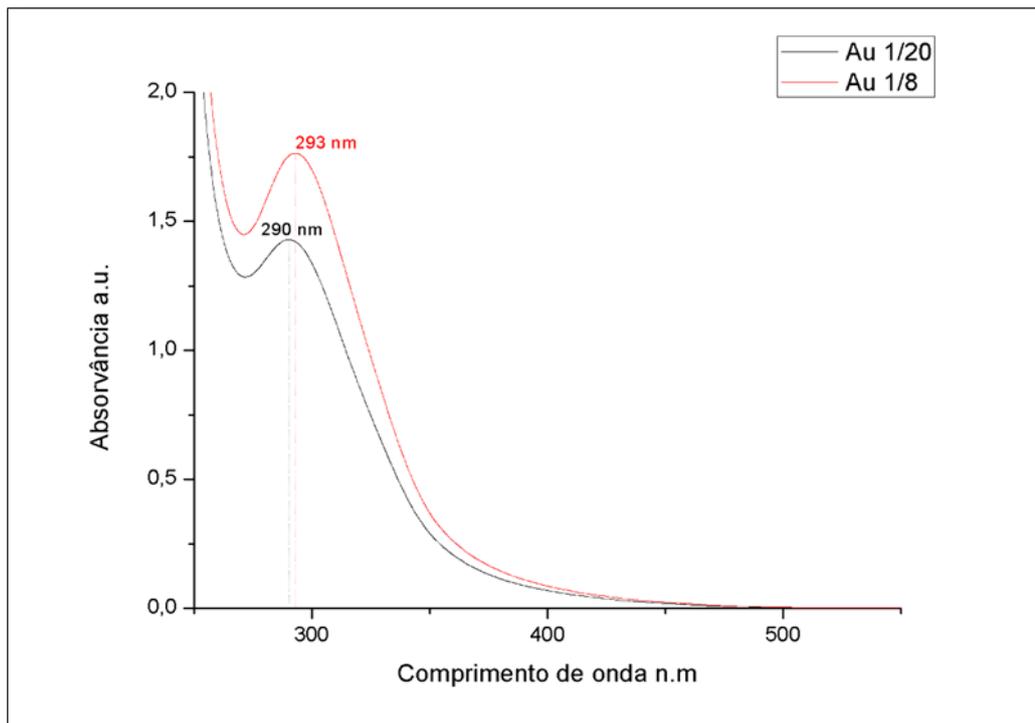


Figura 12 - Ultravioleta visível do ácido cloroáurico.

As amostras que continham a mistura do extrato da andiroba e ouro coloidal indicaram um deslocamento do comprimento de onda (**Figura 13**), portanto isso mostra que houve interação do ouro com os componentes químicos do extrato de andiroba. Isso acontece por que um grupo funcional fez transição eletrônica.

As amostras contendo o extrato de *Carapa guianensis* e as nanopartículas de ouro diluídos em água destilada apresentaram o pico de absorvância em 532 nm de comprimento de onda. Levando em consideração que o extrato de andiroba apresentou o pico de absorvância por volta de 278 nm e o ouro coloidal indicou o pico médio entre 290 - 293 nm, portanto ambos apresentaram valores diferentes de absorvância do espectro de Uv-vísivel, porém quando essas substâncias são misturadas apresentam um pico que não pertence a nenhum dos dois, indicando que aconteceu algo nessa mistura, talvez uma reação química, ou ligação química, que possivelmente resultou na redução das nanopartículas do ouro coloidal pela composição química presente no extrato da referida planta.

Com a finalidade de comprovar se houve mesmo a redução do ácido cloroáurico pelo extrato de andiroba, foi feita a medição do ouro coloidal para ver se aparecem os mesmos picos, sendo assim como foi comprovado que não apresentam os mesmos valores de picos, o redutor verde de andiroba pode ser capaz de reduzir o ouro coloidal. Com o aparecimento de

uma banda em 532 nm, relativo à Ressonância Plasmonica Superficial do ouro com o estrato de andiroba.

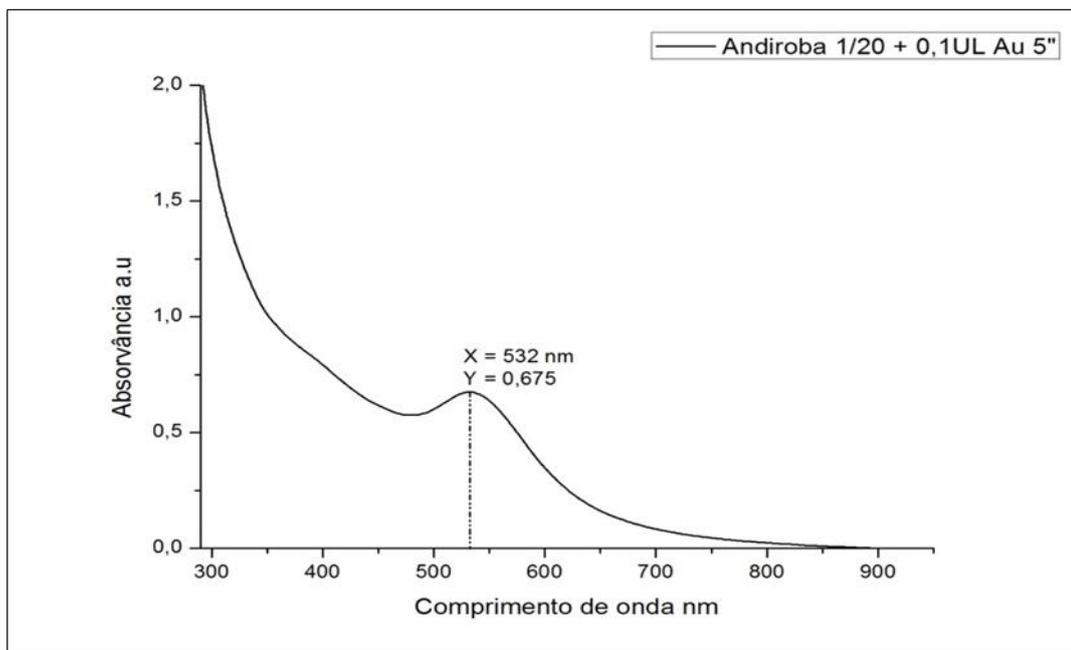


Figura 13 - Ultravioleta visível das AuNPs sintetizados com extrato de andiroba.

4.3 Espectroscopia de Raio-X

As estruturas cristalinas dos produtos sintetizados obtido após a redução de HAuCl_4 utilizando extrato de Andiroba foram identificados utilizando difração de raios-x e os resultados são apresentados na Figura 14. O padrão de raios X indica a natureza cristalina do produto e todas as reflexões são distintamente indexado a uma fase cúbica (FCC) de face centrada AuNPs. Não há picos de outras fases foram detectados, indicando a pureza das amostras sintetizadas.

Os picos de difração eram consistentes com os arquivos de dados padrão para todas as reflexões. Estes resultados corroboram com literatura publicada anteriormente (MUKHERJEE et al., 2012)

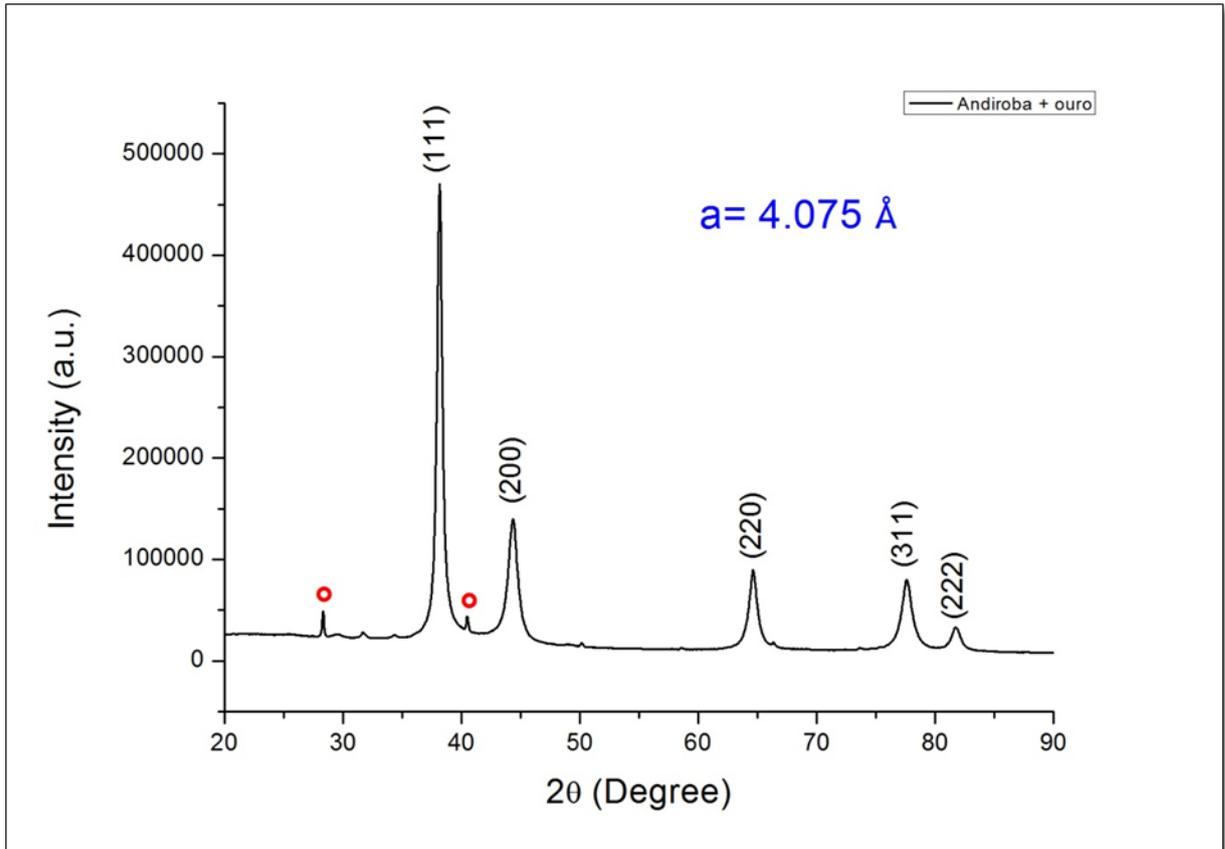


Figura 14 – Difração de Raio-X do ouro.

4.4 Potencial Zeta Size

A repulsão eletrostática das partículas coloidais é chave para a compreensão da estabilidade de qualquer dispersão. A medida da mobilidade electroforética, mesmo em solventes não polares, fornece informações valiosas. As características das amostras foram estudadas através de curvas de potencial zeta.

O potencial zeta do extrato de Andiroba em solução de ouro coloidal foi feito através de triplicata e os resultados estão representados nas Figuras 15, 16 e 17, que indicam o potencial médio das amostras de -27 (mV).

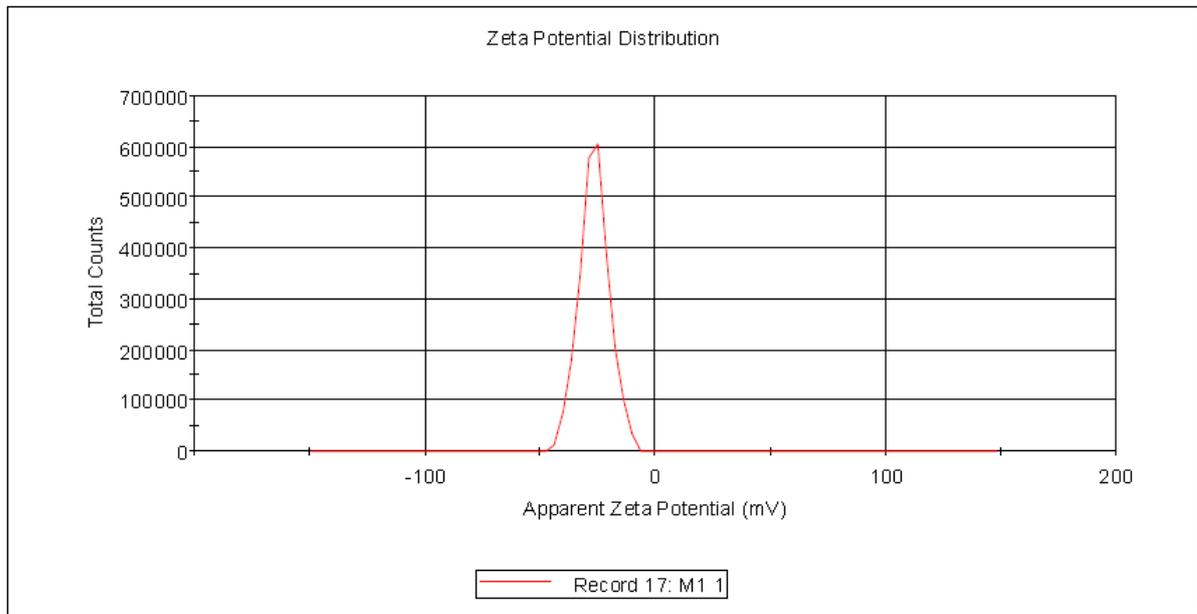


Figura 15 - Potencial zeta do extrato de andiroba em solução de ouro coloidal (amostra 1).

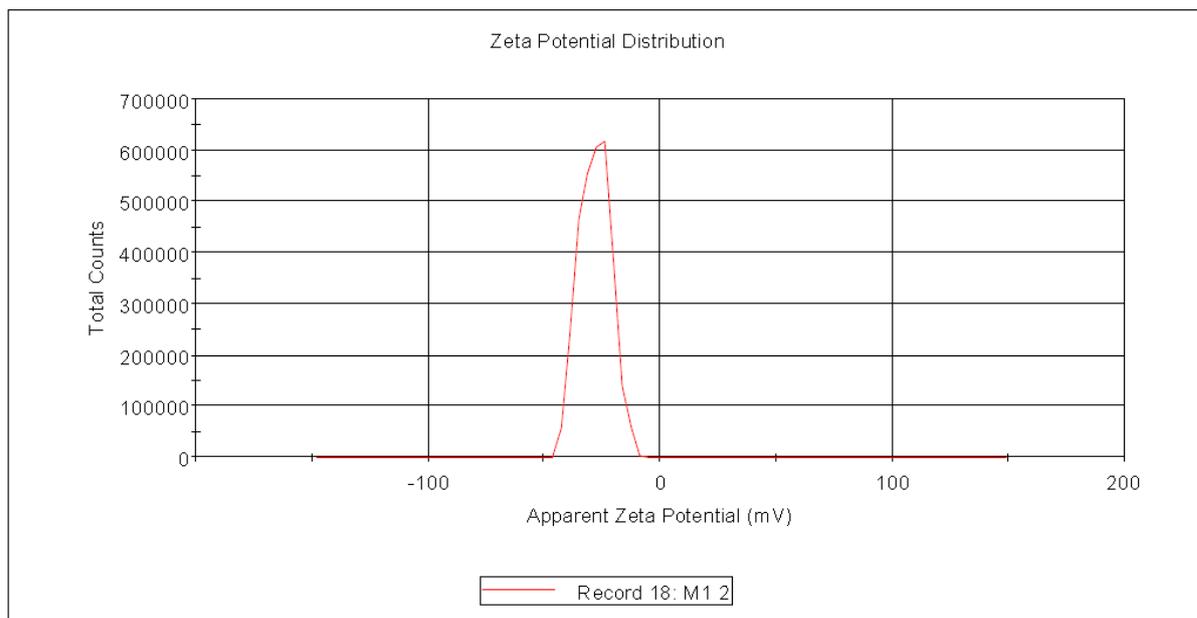


Figura 16 - Potencial zeta do extrato de andiroba em solução de ouro coloidal (amostra 2).

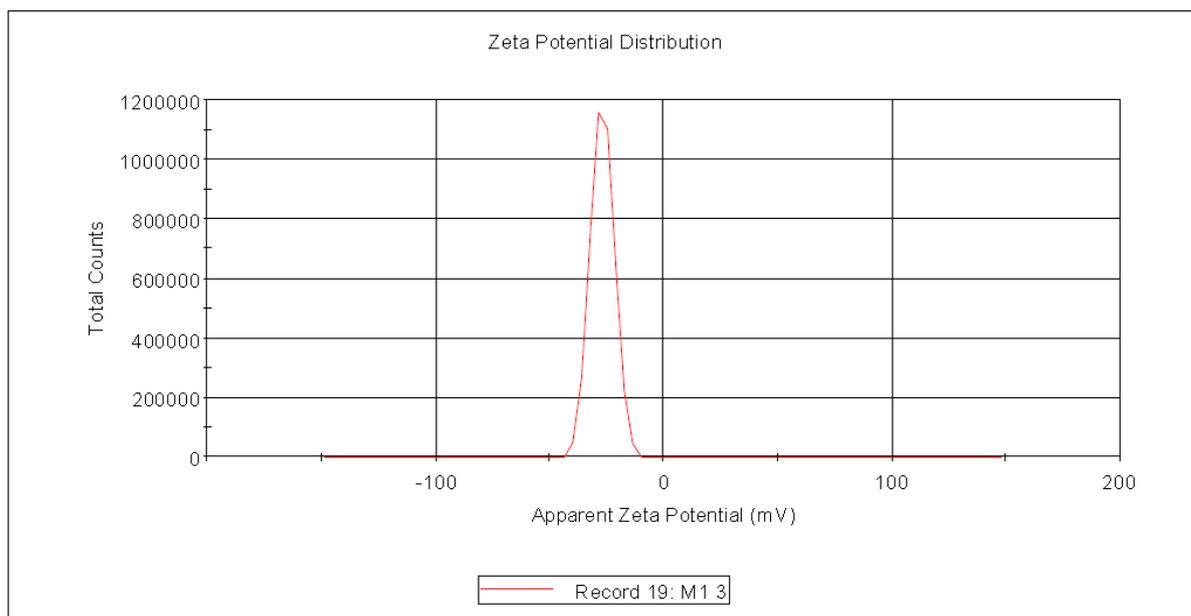


Figura 17 - Potencial zeta do extrato de andiroba em solução de ouro coloidal (amostra 3).

As nanopartículas que apresentam valores de potencial zeta próximos a ± 30 mV possuem boa estabilidade coloidal em solução (MOHANRAJ et al., 2007).

Tabela 01 – Resultado do potencial zeta da solução de ouro coloidal com extrato da andiroba.

	Amostra 1	Amostra 2	Amostra 3
Potencial Zeta (mV)	- 26,3	- 27,8	- 26,9
Zeta Deviation (mV)	6,45	6,68	5,12
Condutibilidade (mS/cm)	0,0309	0,0313	0,0309

Os resultados apresentados na Tabela 1 mostram que as amostras de extrato de *Carapa guianensis* em solução de ouro coloidal apresentaram condutibilidades compatíveis com suspensões coloidais (MELO et al., 2010), além de que os valores de potencial zeta destas amostras apresentam uma boa estabilidade em solução (GUTERRES et al., 1995).

4.5 Espectroscopia de Infravermelho

A técnica de espectroscopia na região do infravermelho foi usada para caracterizar as amostras do extrato da Andiroba em pó liofilizada (gráfico 1), do extrato dissolvido em meio aquoso (gráfico 2), do ouro coloidal (gráfico 3) e finalmente o extrato da *Carapa guianensis* em solução de ouro coloidal (gráfico 4), a análise dos grupos funcionais evidenciou a existência de alguns componentes no espectro infravermelho para estas estruturas..

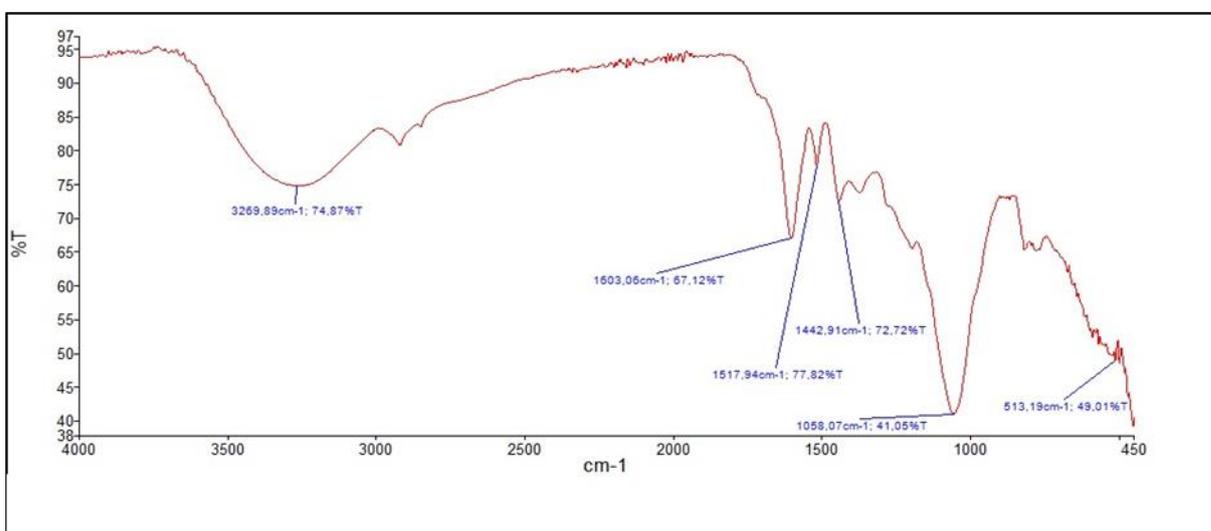


Gráfico 1 – Espectro Infravermelho de andiroba em pó (liofilizada).

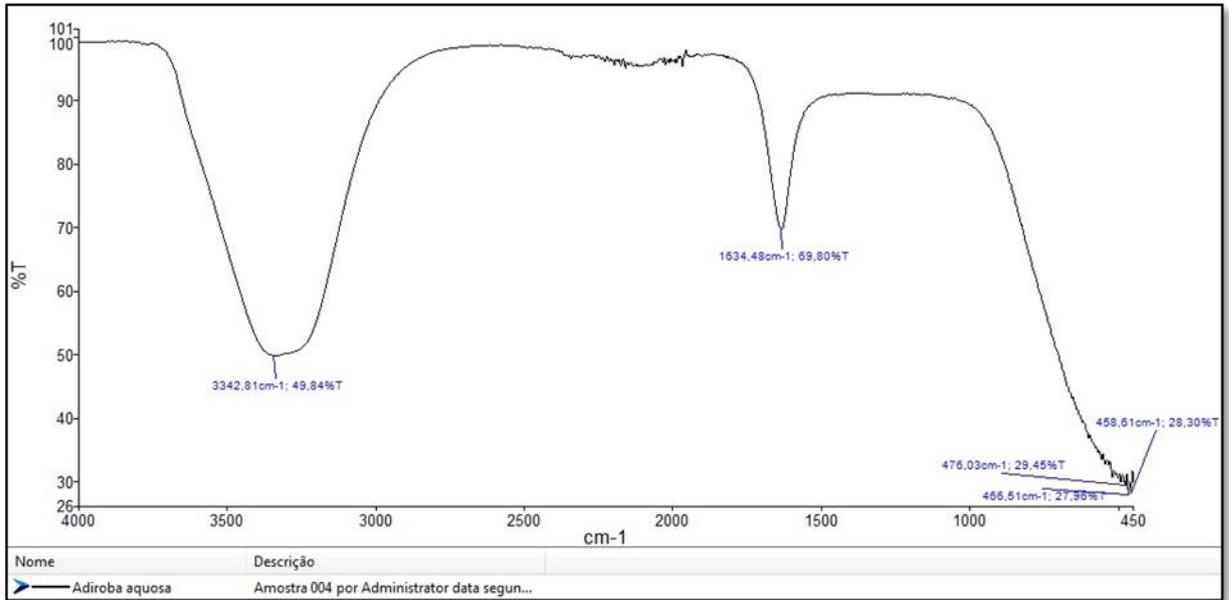


Gráfico 2 – Espectro Infravermelho de andiroba dissolvida em meio aquoso.

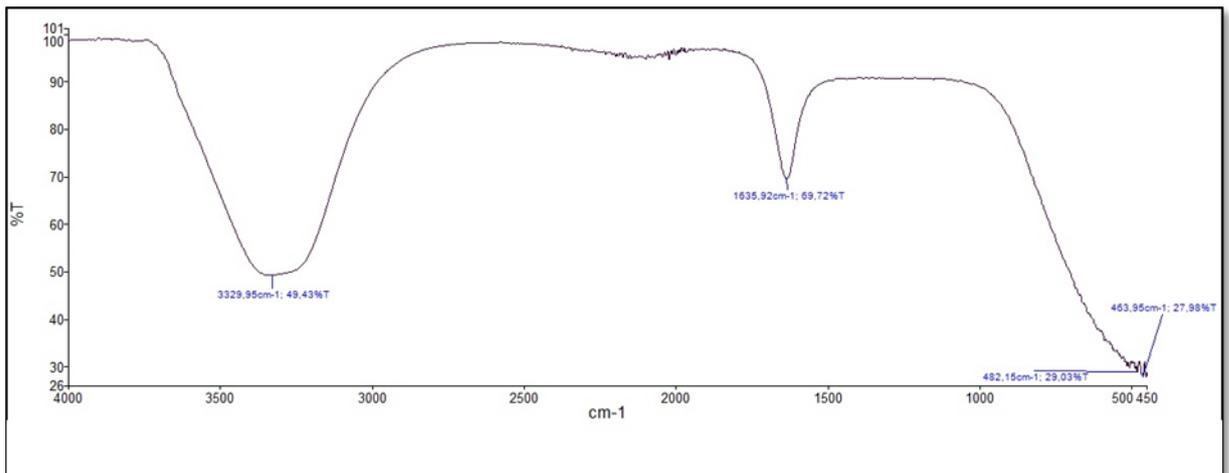


Gráfico 3 – Espectro Infravermelho do ouro coloidal (nanopartículas).

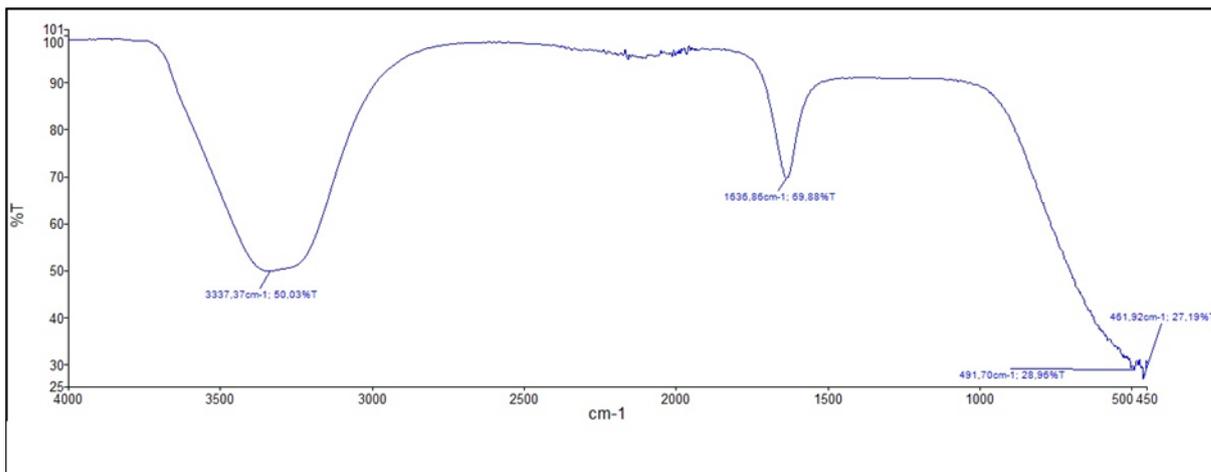


Gráfico 4 – Espectro Infravermelho do extrato da Andiroba em solução de ouro coloidal.

As amostras representadas nos gráficos 7 à 10 mostram os espectros de infravermelho e quatro substâncias que, foram analisadas de acordo com esquema para interpretação de espectros de substâncias na região do infravermelho (LOPES et al., 2004).

Tabela 02 – Bandas de absorção para os picos e análise funcional da andiroba em pó.

Número de onda (cm ⁻¹)	Atribuições
3269,89	Amina (N-H) / Alcino (CH)
1603,06 a 1442,91	Arene (C-H) / Aromáticos
1058,08	Amina (C-H)
513,19	Halenos de C-H alquila

Tabela 03 – Bandas de absorção para os picos e análise funcional da andiroba dissolvida em meio aquoso.

Número de onda (cm ⁻¹)	Atribuições
3.342,81	Amina (N-H)
1.634,48	Alceno (C=C)
458,61 a 478,03	Deformação de Si-O em caulinita

Tabela 04 – Bandas de absorção para os picos e análise funcional do ouro coloidal.

Número de onda (cm ⁻¹)	Atribuições
3.329,95	Amina (N-H)
1.635,92	Alceno (C=C)
463,95 a 482,15	Deformação de Si-O em caulinita

Tabela 05 – Bandas de absorção para os picos e análise funcional do extrato de Andiroba em solução de ouro coloidal.

Número de onda (cm ⁻¹)	Atribuições
3.337,37	Amina (N-H)
1.635,85	Alceno (C=C)
461,92 a 491,08	Deformação de Si-O em caulinita

4.6 Atividade Antibacteriana

A atividade antibacteriana do extrato de *Carapa guianensis* em solução aquosa (Amostra 01) e extrato de Andiroba em solução de ouro coloidal (Amostra 02) indicaram resultado negativo, portanto, as respectivas amostras não apresentam atividades como potencial antibactericida, mesmo em diferentes ensaios, conforme está representado na Tabela 6.

Tabela 6 - Resultado da atividade antibacteriana.

Amostra	EC	KP	SP	SA
01	E1=Neg	E1=Neg	E1=Neg	E1=Neg
	E2=Neg	E2= Neg	E2= Neg	E2= Neg
	E3=Neg	E3= Neg	E3= Neg	E3= Neg
02	E1=Neg	E1=Neg	E1=Neg	E1=Neg
	E2= Neg	E2= Neg	E2= Neg	E2= Neg
	E3= Neg	E3= Neg	E3= Neg	E3= Neg

Legenda da Tabela 6

SA – *Staphylococcus aureus* (ATCC 12598)

SP – *Streptococcus pneumoniae* (ATCC 11733)

EC – *Escherichia coli* (ATCC 10536)

KP – *Klebsiella pneumoniae* (ATCC 700603)

4.7 HPLC do Extrato da Andiroba

Segundo os dados obtidos a partir do Cromatograma de HPLC (**Gráfico 5**), a amostra de extrato de *Carapa guianensis* é bastante hidrofílica, também foram detectados os picos de comprimentos de ondas de 214 nm que representa uma ligação amida, de 254 nm ligação alcaloides, de 260 nm representam os ácidos nucleicos e 280 nm representam as ligações aminas.

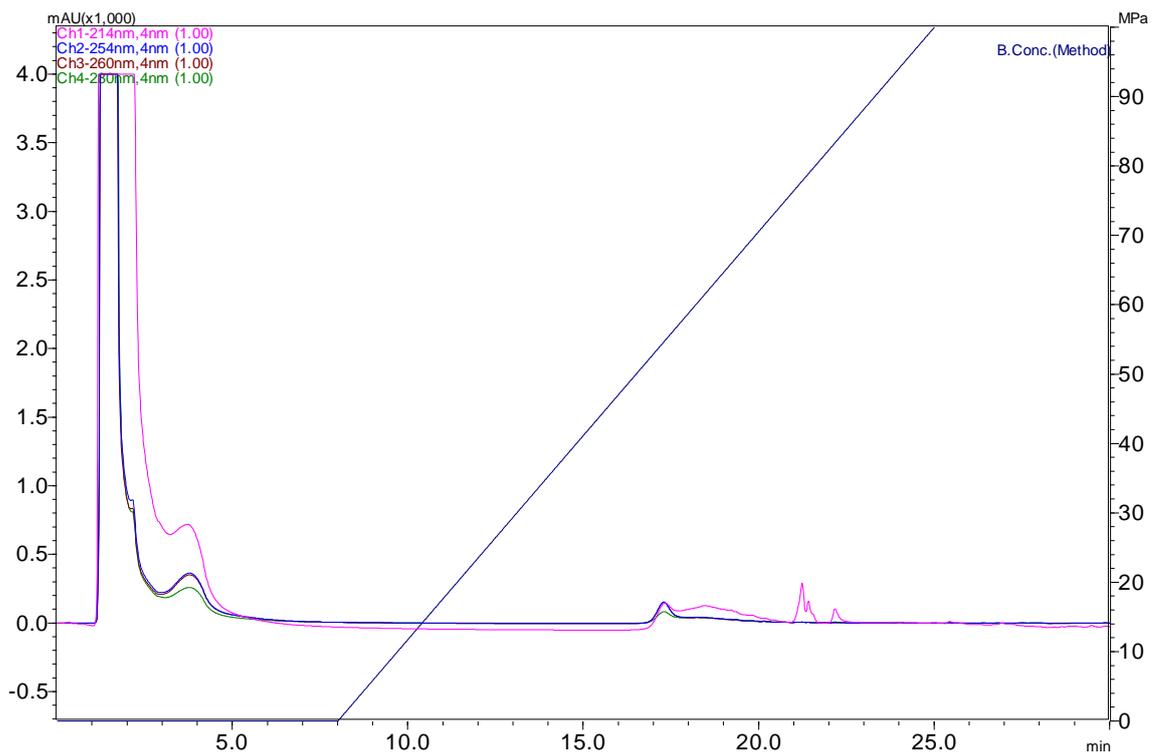


Gráfico 5 – Resultado de HPLC do extrato de Andiroba.

4.8 Hemólise do Extrato da Andiroba

O extrato de *Carapa guianensis* não apresentou atividade hemolítica, onde o teste de hemólise in vitro foi útil na avaliação preliminar do referido extrato, tal resultado, não exclui a existência de citotoxicidade das plantas que não apresentaram atividade hemolítica uma vez que concentrações maiores de extrato ainda não foram testadas e poucos estudos são encontrados na literatura científica com as espécies. Fazendo um comparativo a respeito da atividade hemolítica de plantas medicinais, podemos perceber que a Andiroba não apresenta possíveis danos às hemácias.

5 CONCLUSÕES

No estudo da **Síntese de Nanopartículas de Ouro Coloidal (AuNPs) para Uso Biológico com a Espécie *Carapa guianensis*** pode-se concluir que :

A medida do pH do extrato de folha da (*Carapa guianensis*) apresentou valores tipo de ácidos fraco (pH=5), já o extrato de Andiroba acrescido do ácido cloroáurico (pH= 1) característica de ácido forte. Sendo fundamental na avaliação de extratos de plantas para a síntese de nanopartículas de ouro, em função de sua atividade eletrolítica;

As determinações espectroscópicas de UV-Vis comprovaram a redução do ácido cloroáurico pelo extrato de Andiroba com a presença dos picos característicos do extrato isolado de Andiroba, da solução de ácido cloro áurico e das nanopartículas de ouro coloidal sintetizadas (AuNPs);

Há presença de nanopartículas de ouro com o aparecimento de uma banda em 532 nm, relativo à Ressonância Plasmônica de Superfície, próprias das nanopartículas de ouro, que foram sintetizadas com extrato de Andiroba;

As análises do Potencial Zeta demonstraram que as AuNPs sintetizadas com extrato de *Carapa guianensis* apresentaram condutibilidades compatíveis com suspensões coloidais, demonstrando boa estabilidade química;

A técnica de espectroscopia na região do infravermelho foi capaz de predizer grupos químicos funcionais responsáveis pela redução do Au^{+3} para Au^0 ;

A atividade antibacteriana do extrato de *Carapa guianensis* em solução aquosa, extrato de Andiroba em solução de ouro coloidal indicaram resultado negativo para as espécies SA – *Staphylococcus aureus* (ATCC 12598), SP – *Streptococcus pneumoniae* (ATCC 11733), EC – *Escherichia coli* (ATCC 10536), KP – *Klebsiella pneumoniae* (ATCC 700603), portanto não apresentam atividades como potencial bactericida;

A Análise do extrato de Andiroba submetidos à HPLC pode-se comprovar a condição de bastante hidrofílicidade, também foram detectados os picos de comprimentos de ondas de 214 nm que representa uma ligação amida, de 254 nm

ligação alcaloides, de 260 nm representam os ácidos nucleicos e 280 nm representam as ligações aminas;

O extrato de *Carapa guianensis* não apresentou atividade hemolítica, onde o teste de hemólise in vitro foi útil na avaliação preliminar do referido extrato, tal resultado, não exclui a existência de citotoxicidade das plantas que não apresentaram atividade hemolítica uma vez que concentrações maiores de extrato ainda não foram testadas e poucos estudos são encontrados na literatura científica com as espécies. Fazendo um comparativo a respeito da atividade hemolítica de plantas medicinais, podemos perceber que a Andiroba não apresenta possíveis danos às hemácias.

6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AIKEN, J. D.; FINKE, R. G. A review of modern transition-metal nanoclusters: their synthesis, characterization, and applications in catalysis. **Journal of Molecular Catalysis A: Chemical**, v. 145, n. 1, p. 1-44, 1999.

ANDREIA, A. G. D. S. Biossíntese, caracterização e citotoxicidade de nanopartículas de ouro usando extracto de lúcia-lima e erva de São Roberto. 2010.

ARORA, S. K. et al. Capturing new developments in an emerging technology: an updated search strategy for identifying nanotechnology research outputs. **Scientometrics**, v. 95, n. 1, p. 351-370, 2013.

BALAKUMAR, K.; RAGHAVAN, C. V.; ABDU, S. Self nanoemulsifying drug delivery system (SNEDDS) of Rosuvastatin calcium: design, formulation, bioavailability and pharmacokinetic evaluation. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 112, p. 337-343, 2013.

BASSAN, P. et al. The inherent problem of transflection-mode infrared spectroscopic microscopy and the ramifications for biomedical single point and imaging applications. **Analyst**, v. 138, n. 1, p. 144-157, 2013.

BEHERA, S. et al. UV-visible spectrophotometric method development and validation of assay of paracetamol tablet formulation. **J Anal Bioanal Techniques**, v. 3, n. 151, p. 2, 2012.

BILIA, A. et al. HPLC–DAD–ESI–MS analysis of the constituents of aqueous preparations of verbena and lemon verbena and evaluation of the antioxidant activity. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 46, n. 3, p. 463-470, 2008.

BONIFÁCIO, L. D. S. **Processos de agregação e fusão de nanopartículas de ouro: Uma abordagem química**. 2005. Universidade de São Paulo

BROWN, T. L. et al. **ciência central**: Pearson-Prentice Hall, 9ª Edição, São Paulo 2005.

BRUST, M. et al. Synthesis of thiol-derivatised gold nanoparticles in a two-phase liquid–liquid system. **J. Chem. Soc., Chem. Commun.**, n. 7, p. 801-802, 1994.

CHAIYANA, W. et al. Characterization of potent anticholinesterase plant oil based microemulsion. **International journal of pharmaceutics**, v. 401, n. 1, p. 32-40, 2010.

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

CORBARI, L. et al. Iron oxide deposits associated with the ectosymbiotic bacteria in the hydrothermal vent shrimp *Rimicaris exoculata*. **Biogeosciences Discussions**, v. 5, n. 2, p. 1825-1865, 2008.

CORTI, C. W.; HOLLIDAY, R. J.; THOMPSON, D. T. Commercial aspects of gold catalysis. **Applied Catalysis A: General**, v. 291, n. 1, p. 253-261, 2005.

COSTA-SILVA, J. et al. Acute and subacute toxicity of the *Carapa guianensis* Aublet (Meliaceae) seed oil. **Journal of ethnopharmacology**, v. 116, n. 3, p. 495-500, 2008.

COSTA-SILVA, J. H. et al. Estudo toxicológico reprodutivo da *Carapa guianensis* Aublet (Andiroba) em ratas Wistar. **Acta Farmacéutica Bonaerense**, v. 25, n. 3, p. 425, 2007.

COSTA, G. D.; MARENCO, R. A. Fotossíntese, condutância estomática e potencial hídrico foliar em árvores jovens de andiroba (*Carapa guianensis*). **Acta amazônica**, v. 37, n. 2, p. 229-234, 2007.

CRANS, D. C.; LEVINGER, N. E. The conundrum of pH in water nanodroplets: sensing pH in reverse micelle water pools. **Accounts of chemical research**, v. 45, n. 10, p. 1637-1645, 2012.

DA SILVA, C. L. M. **Obtenção de ésteres etílicos a partir da transesterificação do óleo de andiroba com etanol**. 2005. Universidade Estadual de Campinas UNICAMP

DAI, X. et al. Electroanalysis using macro-, micro-, and nanochemical architectures on electrode surfaces. Bulk surface modification of glassy carbon microspheres with gold nanoparticles and their electrical wiring using carbon nanotubes. **Analytical chemistry**, v. 78, n. 17, p. 6102-6108, 2006.

DANIEL, M.-C.; ASTRUC, D. Gold nanoparticles: assembly, supramolecular chemistry, quantum-size-related properties, and applications toward biology, catalysis, and nanotechnology. **Chemical reviews**, v. 104, n. 1, p. 293-346, 2004.

DAZZI, A. et al. AFM-IR: combining atomic force microscopy and infrared spectroscopy for nanoscale chemical characterization. **Applied spectroscopy**, v. 66, n. 12, p. 1365-1384, 2012.

DHIMAN, V.; MURTHY, N. S. VALIDATED RP-HPLC/UV METHOD FOR THE QUANTITATION OF DIPHENHYDRAMINE IN FORMULATION VEHICLE AND ITS APPLICATION TO HOMOGENECITY AND STABILITY IN DOSE FORMULATION VEHICLE. 2015.

DOMINGUEZ-MEDINA, S. Interaction of Colloidal Gold Nanoparticles with Model Serum Proteins: The Nanoparticle-Protein 'Corona' from a Physico-Chemical Viewpoint. 2015.

DUPONT, J. et al. Transition-metal nanoparticles in imidazolium ionic liquids: recyclable catalysts for biphasic hydrogenation reactions. **Journal of the American Chemical Society**, v. 124, n. 16, p. 4228-4229, 2002.

FARIAS, M. P. O. et al. Eficácia do óleo da semente de andiroba (*Carapa guianensis*) sobre larvas de *Musca domestica* (Diptera: Muscidae) por meio do teste de imersão. **Rev. Inst. Med. Trop. S. Paulo**, v. 46, n. 2, p. 97-101, 2009.

FERRARI, M. et al. Determinação do fator de proteção solar (FPS) in vitro e in vivo de emulsões com óleo de andiroba (*Carapa guianensis*). **Rev Bras Farmacogn**, v. 17, n. 4, p. 626-30, 2007.

FERRARO, M. J. **Performance standards for antimicrobial disk susceptibility tests**. NCCLS, 2000. ISBN 1562383930.

FERREIRA, G. C. Mammalian ferrochelatase. Overexpression in *Escherichia coli* as a soluble protein, purification and characterization. **Journal of Biological Chemistry**, v. 269, n. 6, p. 4396-4400, 1994.

FERREIRA, H. S.; RANGEL, M. D. C. Nanotecnologia: aspectos gerais e potencial de aplicação em catálise. **Química Nova**, v. 32, n. 7, p. 1860-1870, 2009.

FRANZOI, A. C. et al. Incorporação de líquidos iônicos e nanopartículas metálicas na construção de sensores eletroquímicos. **Quim. Nova**, v. 34, n. 6, p. 1042-1050, 2011.

FREIRE, D. D. C. B.; BRITO-FILHA, C. R. D. C.; CARVALHO-ZILSE, G. A. Efeito dos óleos vegetais de andiroba (*Carapa sp.*) e Copaíba (*Copaifera sp.*) sobre forídeo, pragas de colméias, (Diptera: Phoridae) na Amazônia Central. **Acta Amazonica**, v. 36, n. 3, p. 3-8, 2006.

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

GHOSH, A. et al. Preparation and stabilization of gold nanoparticles formed by in situ reduction of aqueous chloroaurate ions within surface-modified mesoporous silica. **Microporous and mesoporous materials**, v. 58, n. 3, p. 201-211, 2003.

GOGOI, S. **Green synthesis of silver nanoparticles from leaves extract of ethnomedicinal plants-Pogostemon benghalensis (B) O. Ktz**: Advances in Applied Science Research 2013.

GOMES, I. I. F. Interação de proteínas com superfícies nanoestruturadas e nanopartículas de metais nobres. 2009.

GUO, S.; WANG, E. Synthesis and electrochemical applications of gold nanoparticles. **Analytica Chimica Acta**, v. 598, n. 2, p. 181-192, 2007.

GUO, W.-J. et al. Redox active gold nanoparticles modified with tetrathiafulvalene derivative via direct sulfur bridge. **Inorganic Chemistry Communications**, v. 8, n. 11, p. 994-997, 2005.

GUTERRES, S. et al. Poly (DL-lactide) nanocapsules containing diclofenac: I. Formulation and stability study. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 113, n. 1, p. 57-63, 1995.

GUZMAN, M.; DILLE, J.; GODET, S. Synthesis and antibacterial activity of silver nanoparticles against gram-positive and gram-negative bacteria. **Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine**, v. 8, n. 1, p. 37-45, 2012.

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

HARUTA, M. Nanoparticulate Gold Catalysts for Low-Temperature CO Oxidation. **ChemInform**, v. 35, n. 48, 2004.

HELLAND, A.; KASTENHOLZ, H. Development of nanotechnology in light of sustainability. **Journal of Cleaner Production**, v. 16, n. 8, p. 885-888, 2008.

HONARY, S.; ZAHIR, F. Effect of zeta potential on the properties of nano-drug delivery systems-a review (Part 1). **Tropical Journal of Pharmaceutical Research**, v. 12, n. 2, p. 255-264, 2013.

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

HUANG, X. et al. Cancer cell imaging and photothermal therapy in the near-infrared region by using gold nanorods. **Journal of the American Chemical Society**, v. 128, n. 6, p. 2115-2120, 2006.

JUNQUEIRA, J. S. S.; SILVA, P. P.; GUERRA, W. Ouro. **Química Nova Na Escola**. v. 34, p. 45-46, 2012.

KAUFMAN, E. D. et al. Probing protein adsorption onto mercaptoundecanoic acid stabilized gold nanoparticles and surfaces by quartz crystal microbalance and ζ -potential measurements. **Langmuir**, v. 23, n. 11, p. 6053-6062, 2007.

KIM, C. K. et al. Gold-nanoparticle-based miniaturized laser-induced fluorescence probe for specific DNA hybridization detection: studies on size-dependent optical properties. **Nanotechnology**, v. 17, n. 13, p. 3085, 2006.

KNOBEL, M. O futuro da nanotecnologia no Brasil: vinte anos não são nada? **Ciência e Cultura**, v. 57, n. 1, p. 4-5, 2005.

L'AZOU, B. et al. In vitro effects of nanoparticles on renal cells. **Particle and fibre toxicology**, v. 5, n. 1, p. 1, 2008.

LANDON, P. et al. Direct formation of hydrogen peroxide from H₂/O₂ using a gold catalyst. **Chemical Communications**, n. 18, p. 2058-2059, 2002.

LONGHINI, R. et al. Obtenção de extratos de própolis sob diferentes condições e avaliação de sua atividade antifúngica. **Rev Bras Farmacogn**, v. 17, n. 3, p. 388-95, 2007.

LOPES, W. A.; FASCIO, M. Esquema para interpretação de espectros de substâncias orgânicas na região do infravermelho. **Química Nova**, v. 27, n. 4, p. 670-673, 2004.

MA, X. et al. Synthesis of gold nano-catalysts supported on carbon nanotubes by using electroless plating technique. **Materials chemistry and physics**, v. 97, n. 2, p. 351-356, 2006.

MAAR, J. H. **História da química: Dos primórdios a Lavoisier**. Conceito Editorial, 2008. ISBN 8560826262.

MAFUNÉ, F. Structure diagram of gold nanoparticles in solution under irradiation of UV pulse laser. **Chemical physics letters**, v. 397, n. 1, p. 133-137, 2004.

MAJUMDER, M. et al. Evaluation of physico-chemical properties and antibacterial activity of the essential oil obtained from the fruits of *Zanthoxylum acanthopodium* DC. Collected from Meghalaya, India. **TIC**, v. 1, p. e10, 2014.

MCFARLAND, A. D.; HAYNES, C. L.; MIRKIN, R. RP v. Duyne, and HA Godwing. **J. Chem. Educ**, v. 81, p. 544A-544B, 2004.

MCMURRY, J. Química orgânica: combo. **São Paulo: Thomson**, 2005.

MELLINGER, L. L. Aspectos da regeneração natural e produção de sementes de *Carapa guianensis* Aubl.(andiroba) na Reserva de desenvolvimento Sustentável Amanã (RDSA), AM. 2006.

MELO, C. P. D.; PIMENTA, M. Nanociências e nanotecnologia. **Parcerias estratégicas**, v. 9, n. 18, p. 09-22, 2010.

MELO JR, M. A. et al. Preparação de nanopartículas de prata e ouro: um método simples para a introdução da nanociência em laboratório de ensino. **Quim. Nova**, v. 35, n. 9, p. 1872-1878, 2012.

MELO, N. F. S. D. et al. Desenvolvimento e caracterização de nanocápsulas de poli (L-lactídeo) contendo benzocaína. **Química Nova**, p. 65-69, 2010.

MENAA, B. The importance of nanotechnology in biomedical sciences. **J Biotechnol Biomaterial**, v. 1, p. 105e, 2011.

MENEZES, A. D. O histórico do sistema extrativo e a extração de óleo de andiroba cultivado no município de Tomé-Açu, estado do Pará. CONGRESSO DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ECONOMIA E SOCIOLOGIA RURAL, 2005.

MERTENS, P. et al. Catalytic oxidation of 1, 2-diols to α -hydroxy-carboxylates with stabilized gold nanocolloids combined with a membrane-based catalyst separation. **Catalysis letters**, v. 102, n. 1-2, p. 57-61, 2005.

MEYER, N.; SCHUH, E.; MOHR, F. Silver and gold. **Annual Reports Section" A"(Inorganic Chemistry)**, v. 107, p. 233-245, 2011.

MOHANRAJ, V.; CHEN, Y. Nanoparticles-a review. **Tropical Journal of Pharmaceutical Research**, v. 5, n. 1, p. 561-573, 2007.

MUKHERJEE, S. et al. Green chemistry approach for the synthesis and stabilization of biocompatible gold nanoparticles and their potential applications in cancer therapy. **Nanotechnology**, v. 23, n. 45, p. 455103, 2012.

NEVES, O. S. C. et al. Crescimento, produção de matéria seca e acúmulo de N, P, K, Ca, Mg e S na parte aérea de mudas de andiroba (*Carapa guianensis* Aubl.) cultivadas em solo de várzea, em função de diferentes doses de fósforo. **Revista Árvore**, v. 28, n. 3, p. 343-349, 2004.

NKOSI, B.; COVILLE, N.; HUTCHINGS, G. MD Adams, J. Fiedl, and FE Wagner. **J. Catal**, v. 128, p. 333-378, 1991.

NORUZI, M. Biosynthesis of gold nanoparticles using plant extracts. **Bioprocess and biosystems engineering**, v. 38, n. 1, p. 1-14, 2015.

O'NEAL, D. P. et al. Photo-thermal tumor ablation in mice using near infrared-absorbing nanoparticles. **Cancer letters**, v. 209, n. 2, p. 171-176, 2004.

OLIVER-HOYO, M.; GERBER, R. W. From the research bench to the teaching laboratory: Gold nanoparticle layering. **Journal of chemical education**, v. 84, n. 7, p. 1174, 2007.

PARK, J. et al. Ultra-large-scale syntheses of monodisperse nanocrystals. **Nature materials**, v. 3, n. 12, p. 891-895, 2004.

PEREIRA, F. C. et al. Aplicações de nanoelectrodos como sensores na Química Analítica. **Química Nova**, v. 29, n. 5, p. 1054, 2006.

PEREIRA, F. C. et al. Características ópticas e morfológicas de nanoestruturas de ouro. **Química Nova**, v. 30, n. 7, p. 1550, 2007.

PEREIRA, M. R. N.; TONINI, H. Fenologia da andiroba (*Carapa guianensis*, Aubl., Meliaceae) no sul do estado de Roraima. 2012.

PLENTZ, F.; FAZZIO, A. Considerações sobre o Programa brasileiro de Nanotecnologia. **Ciência e Cultura**, v. 65, n. 3, p. 23-27, 2013.

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

RAPOSO, A. et al. Diversidade genética de populações de andiroba no Baixo Acre. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 42, n. 9, p. 1291-1298, 2007.

RASHBA, E.; GAMOTA, D. Anticipatory standards and the commercialization of nanotechnology. **Journal of Nanoparticle Research**, v. 5, n. 3-4, p. 401-407, 2003.

RISTIĆ, M. S. et al. Setting a Standard for the essential oil of chamomile originating from Banat. I International Symposium on Chamomile Research, Development and Production 749, 2006. p.127-140.

ROCO, M. C. International strategy for nanotechnology research. **Journal of Nanoparticle Research**, v. 3, n. 5-6, p. 353-360, 2001.

ROSA, J. M. A. et al. Diagnóstico molecular da leishmaniose visceral canina através da técnica de sonda de nanopartículas de ouro (AuNPprobes). **Semina: Ciências Agrárias**, v. 34, n. 6Supl2, p. 3777-3786, 2013.

ROSSI-BERGMANN, B. A nanotecnologia: da saúde para além do determinismo tecnológico. **Ciência e Cultura**, v. 60, n. 2, p. 54-57, 2008.

SAHIN, O.; KAYACAN, O.; BULGUN, E. Y. Smart textiles for soldier of the future. **Defence Science Journal**, v. 55, n. 2, p. 195, 2005.

SCHAER, D. J. et al. Hemolysis and free hemoglobin revisited: exploring hemoglobin and hemin scavengers as a novel class of therapeutic proteins. **Blood**, v. 121, n. 8, p. 1276-1284, 2013.

SHARMA, Y. et al. Removal of Cr (VI) from wastewater by adsorption on iron nanoparticles. **The Canadian Journal Of Chemical Engineering**, v. 87, n. 6, p. 921-929, 2009.

SILVA, C. G. D. Nanotecnologia: o desafio nacional. **Parcerias Estratégicas**, v. 9, n. 18, p. 05-08, 2010.

SIMON, I. A. et al. Efeito catalítico de nanopartículas de ouro adsorvidas sobre matriz híbrida na redução química e eletroquímica de 4-nitrofenol. 2012.

SMITH, G. et al. Nanoparticle-doped polymer foils for use in solar control glazing. **Journal of Nanoparticle Research**, v. 4, n. 1-2, p. 157-165, 2002.

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

STOLERU, V. G.; TOWE, E. Plasmon resonant Au nanospheres and nanorods in anodic alumina matrix. **Microelectronic engineering**, v. 81, n. 2, p. 358-365, 2005.

STROZYK, M. S. et al. Protein/Polymer-Based Dual-Responsive Gold Nanoparticles with pH-Dependent Thermal Sensitivity. **Advanced Functional Materials**, v. 22, n. 7, p. 1436-1444, 2012.

SUN, T. et al. Improving mechanical stability and density distribution of hepatocyte microcapsules by fibrin clot and gold nano-particles. **Journal of biotechnology**, v. 111, n. 2, p. 169-177, 2004.

TANSIL, N. C.; GAO, Z. Nanoparticles in biomolecular detection. **Nano Today**, v. 1, n. 1, p. 28-37, 2006.

TEIXEIRA, R. K. C. et al. Efeito do óleo de andiroba na sobrevida de camundongos submetidos à sepse abdominal. **Rev Bras Clin Med**, v. 10, n. 5, p. 407-9, 2012.

TOKONAMI, S. et al. Synthesis and bioanalytical applications of specific-shaped metallic nanostructures: A review. **Analytica chimica acta**, v. 716, p. 76-91, 2012.

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

TONINI, H.; DA COSTA, P.; KAMISKI, P. E. Estrutura, distribuição espacial e produção de sementes de andiroba (*Carapa guianensis* Aubl.) no sul do estado de Roraima. **Ciência Florestal**, v. 19, n. 3, p. 247-255, 2009.

TONINI, H. et al. Estrutura Populacional e Produção de Castanha-do-brasil (*Bertholletia excelsa* Bonpl.) e Andiroba (*Carapa* sp.) no Sul do Estado de Roraima. **Manejo Sustentável de Produtos Florestais Não-madeireiros na Amazônia**, p. 15, 2008.

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

VAN HARDEVELD, R.; HARTOG, F. The statistics of surface atoms and surface sites on metal crystals. **Surface Science**, v. 15, n. 2, p. 189-230, 1969.

VICENTINI, F. C. **DESENVOLVIMENTO DE BIOSSENSORES À BASE DE FILMES POLIMÉRICOS, NANOTUBOS DE CARBONO E NANOPARTÍCULAS DE OURO**. 2013. UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS

VRHOVSEK, U.; MATTIVI, F.; WATERHOUSE, A. L. Analysis of red wine phenolics: comparison of HPLC and spectrophotometric methods. **VITIS-Journal of Grapevine Research**, v. 40, n. 2, p. 87, 2015.

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

WANG, J. et al. Effect of plasmonic Au nanoparticles on inverted organic solar cell performance. **The Journal of Physical Chemistry C**, v. 117, n. 1, p. 85-91, 2012.

WANG, L. et al. Self-assembly of gold nanoparticles for the voltammetric sensing of epinephrine. **Electrochemistry communications**, v. 8, n. 6, p. 1035-1040, 2006.

XIA, Y. et al. Shape-Controlled Synthesis of Metal Nanocrystals: Simple Chemistry Meets Complex Physics? **Angewandte Chemie International Edition**, v. 48, n. 1, p. 60-103, 2009.

YOU, C.-C.; VERMA, A.; ROTELLO, V. M. Engineering the nanoparticle–biomacromolecule interface. **Soft Matter**, v. 2, n. 3, p. 190-204, 2006.

ZHANG, L. et al. Layer-by-layer self-assembly of films of nano-Au and Co (bpy) $3 \cdot 3+$ for the determination of Japanese B encephalitis vaccine. **Biochemical engineering journal**, v. 28, n. 3, p. 231-236, 2006.