



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
Instituto de Ciências Biológicas
Programa de Pós-graduação em Biologia Vegetal

Leandro de Paula Sales

PRIMEIRO REGISTRO DE NANOPARTÍCULAS METÁLICAS
PRODUZIDAS POR ALGAS EM SISTEMAS NATURAIS

Belo Horizonte
2023

Leandro de Paula Sales

**PRIMEIRO REGISTRO DE NANOPARTÍCULAS
METÁLICAS PRODUZIDAS POR ALGAS EM SISTEMAS
NATURAIS**

Dissertação de mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biologia Vegetal do Instituto de Ciência Biológicas da Universidade Federal de Minas Gerais como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Biologia Vegetal.

Linha de pesquisa: Botânica – Ecologia e Fisiologia Vegetal

Orientação: Prof. Dr. Cleber Cunha Figueredo

Coorientação: Prof. Dr. Leonardo César de Moraes Teixeira

Belo Horizonte
2023

043

Sales, Leandro de Paula.

Primeiro registro de nanopartículas metálicas produzidas por algas em sistemas naturais [manuscrito] / Leandro de Paula Sales. – 2023.

46 f. : il. ; 29,5 cm.

Orientador: Prof. Dr. Cleber Cunha Figueredo. Coorientador: Prof. Dr. Leonardo César de Moraes Teixeira.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Minas Gerais, Instituto de Ciências Biológicas. Programa de Pós-Graduação em Biologia Vegetal.

1. Nanotecnologia. 2. Nanopartículas Metálicas. 3. Microalgas. I. Figueredo, Cleber Cunha. II. Teixeira, Leonardo César de Moraes. III. Universidade Federal de Minas Gerais. Instituto de Ciências Biológicas. IV. Título.

CDU: 581



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS

INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS - PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA VEGETAL

ATA DE DEFESA DE DISSERTAÇÃO

ATA nº 207

LEANDRO DE PAULA SALES

DATA DA DEFESA: 29/11/2023 NÚMERO DE MATRÍCULA: 2021702353

ENTRADA: 2021/2

CPF: 073.486.836-73

" PRIMEIRO REGISTRO DE NANOPARTÍCULAS METÁLICAS PRODUZIDAS POR ALGAS EM SISTEMAS NATURAIS "

Às 14 horas do dia 29 de novembro de 2023, reuniu-se a Comissão Examinadora de Dissertação indicada pelo Colegiado do Programa para julgar, em exame final, o trabalho intitulado **" PRIMEIRO REGISTRO DE NANOPARTÍCULAS METÁLICAS PRODUZIDAS POR ALGAS EM SISTEMAS NATURAIS "**, requisito final para obtenção do grau de Mestre em Biologia Vegetal, área de concentração em Fisiologia Vegetal e Ecologia, pelo discente **Leandro de Paula Sales**. Abrindo a sessão, o Presidente da Comissão, professor Cleber Cunha Figueredo, após dar conhecimento aos presentes do teor das Normas Regulamentares do Trabalho Final, passou a palavra ao candidato para apresentação de seu trabalho. Seguiu-se a arguição pelos examinadores, com a respectiva defesa do candidato. Logo após, a comissão reuniu-se, sem a presença do candidato e do público, para julgamento e expedição do resultado. Foram atribuídas as seguintes indicações:

Comissão Examinadora - Resultado

Dr. Cleber Cunha Figueredo (UFMG) - aprovado

Dra. Gabriela von Rückert Heleno (UEMG) - aprovado

Dra. Maria Rita Scotti Muzzi Marques Leitão (UFMG) - aprovado

Pelas indicações, o candidato foi considerado **aprovado**.

O resultado foi comunicado publicamente ao candidato pelo Presidente da Comissão. Nada mais havendo a tratar, o Presidente encerrou a reunião e lavrou-se a presente ata, que será assinada por todos os membros participantes da Comissão Examinadora.

Belo Horizonte, 29 de novembro de 2023.

Assinatura dos membros da banca examinadora:



Documento assinado eletronicamente por **Maria Rita Scotti Muzzi Marques Leitao, Professora do Magistério Superior**, em 29/11/2023, às 17:24, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Gabriela von Rückert Heleno, Usuária Externa**, em 29/11/2023, às 17:26, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Cleber Cunha Figueredo, Professor do Magistério Superior**, em 29/11/2023, às 17:33, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Juliane Karine Ishida, Coordenador(a)**, em 01/12/2023, às 08:34, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site https://sei.ufmg.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador **2724234** e o código CRC **BBD0FBE3**.

AGRADECIMENTOS

À minha mãe, Sandra, e família, pelo suporte e confiança. Às minhas irmãs Deborah e Lara pelo apoio.

À minha tia Maria e primos, principalmente a Rízia, Fabrício e Lucas pelo exemplo a ser seguido.

Às inspirações Ariadne, Felipe Teles, Gustavo Abrantes, Renato, Arthur e Samuel Siriani, pelo conhecimento e entendimento do planeta Terra.

Aos melhores amigos Marlon, Daniel, Carlos Gabriel, Johny Presley, Guilherme Lemos, Rafael Fernandes e restante dos amigos, pela confiança, resenha futebolística e companheirismo no decorrer dessa etapa.

Aos excelentes professores do ICB, principalmente Luzia Valentina, Fernando Vale, Rosy Isaias, Alexandre Salino e João Renato.

À todos os membros do laboratório de Ficologia: Lucas Chagas, Scarlet, Mariela, Franciele, Jeremias, Isabela e Michele, que me apoiaram e me ensinaram ao longo desse processo.

À todos os amigos Biólogos, principalmente Igor, Graciele, Ana Cordeiro, Euler, Paulo Vítor e Pierre pela ajuda e companheirismo ao longo desses anos.

Agradecimentos à Anne Felicity Taylor, Eduardo Aguiar, Lucas e Luciene Carrara do Parque Nacional Serra do Cipó, pelo auxílio.

Ao Douglas Henrique pelo auxílio no Parque Natural da Serra do Caraça.

Ao meu coorientador, Leonardo César, pela paciência, compreensão e enorme aprendizado durante o mestrado.

Ao meu orientador, tutor, mentor, ensinador, Cleber, a mais absoluta admiração, por me ajudar a enxergar as coisas invisíveis da vida, pelo exemplo de ser humano e por me ajudar a ser um pesquisador um pouco melhor. “O correr da vida embrulha tudo, a vida é assim: esquenta e esfria, aperta e daí afrouxa, sossega e depois desinquieta. O que ela quer da gente é coragem”.

A todos que participaram direta ou indiretamente da minha jornada, muito obrigado.

RESUMO

A nanotecnologia é definida como o desenvolvimento, síntese, caracterização e aplicação de materiais de dimensões nanométricas, denominados nanomateriais e é um conceito relacionado ao da nanociência, que corresponde ao estudo de estruturas e moléculas com dimensões entre 1 e 100 nm. Recentemente, houve um aumento no interesse pela nanotecnologia, uma vez que os nanomateriais podem ser úteis em várias atividades humanas, incluindo aplicações catalíticas em muitos processos industriais, produção de biocombustíveis e de eletrônicos, purificação de água, usos medicinais e aplicações em biotecnologia de um modo geral. Os elementos-chave para a nanotecnologia são os nanomateriais, que podem ter diferentes formas, como nanobastões, nanopartículas ou nanofolhas, e que podem ser caracterizados com base em sua dimensionalidade. As nanopartículas (NPs) apresentam tamanho que varia de 1 a 100 nanômetros, uma única dimensão e podem ser compostas somente por átomos de carbono, por este elemento na forma de matéria orgânica, por metais ou óxidos metálicos. Mais especificamente, as nanopartículas metálicas (MeNPs), são sintetizadas a partir de precursores metálicos, do uso de algum agente redutor e de ligantes orgânicos que estabilizam a estrutura da NP, podendo também funcionar como redutores. Existem três tipos de abordagens principais para a síntese de NPs: a física, a química e a biológica. A abordagem física, também chamada de *Top-Down*, utiliza processos físicos para reduzir estruturas à escala nanométrica, enquanto as abordagens químicas e biológicas são processos de construção conhecidos como *Bottom-up*, partindo da escala atômica até a escala nanométrica. No presente trabalho foi utilizado o método de Síntese Verde para a obtenção das nanopartículas metálicas, realizado por microalgas, organismos eucarióticos, uni ou pluricelulares, capazes de realizar o processo de fotossíntese. Os métodos convencionais de síntese podem ser nocivos ao ambiente, caros e ter alto gasto energético para serem realizados. Os resultados obtidos por técnicas de microscopia especializada, mostrou a presença de MeNPs formadas por vários elementos químicos, o que pode indicar a composição do solo e a afinidade das microalgas da área por esses elementos químicos. Não há registros acadêmicos do processo de biossíntese de MeNPs por microalgas ocorrendo na natureza, sendo assim, esse trabalho tem o objetivo de detectar a ocorrência desse processo em ambiente natural.

Palavras-chave: nanotecnologia; nanopartículas; nanopartículas metálicas; Síntese Verde.

ABSTRACT

Nanotechnology is defined as the development, synthesis, characterization and application of materials with nanometric dimensions, called nanomaterials and is a concept related to nanoscience, which corresponds to the study of structures and molecules with dimensions between 1 and 100 nm. Recently, there has been an increase in interest in nanotechnology, as nanomaterials can be useful in a variety of human activities, including catalytic applications in many industrial processes, biofuel and electronics production, water purification, medicinal uses, and biotechnology applications generally. The key elements for nanotechnology are nanomaterials, which can have different shapes, such as nanorods, nanoparticles or nanosheets, and which can be characterized based on their dimensionality. Nanoparticles (NPs) have a size that varies from 1 to 100 nanometers, a single dimension and can be composed only of carbon atoms, this element in the form of organic matter, metals or metallic oxides. More specifically, metallic nanoparticles (MeNPs) are synthesized from metallic precursors, the use of some reducing agent and organic ligands that stabilize the NP structure, and can also function as reducers. There are three main types of approaches for the synthesis of NPs: physical, chemical and biological. The physical approach, also called Top-Down, uses physical processes to reduce structures to the nanometer scale, while the chemical and biological approaches are construction processes known as Bottom-up, starting from the atomic scale to the nanometer scale. In the present work, the Green Synthesis method was used to obtain metallic nanoparticles, made by microalgae, eukaryotic organisms, uni or multicellular, capable of carrying out the photosynthesis process. Conventional synthesis methods can be environmentally harmful, expensive and require high energy costs to carry out. The results obtained by specialized microscopy techniques showed the presence of MeNPs formed by various chemical elements, what it may indicate the composition of the soil and the affinity of microalgae in the area for these chemical elements. There are no academic records of the biosynthesis process of MeNPs by microalgae occurring in nature, therefore, this work aims to detect the occurrence of this process in a natural environment.

Keywords: nanotechnology; nanoparticles; metal nanoparticles, Green Synthesis.

SUMÁRIO

1. Introdução	10
1.1 Tipos de MeNPs	15
1.2 Métodos de síntese de NPs metálicas.....	16
1.3 Métodos Top-Down / Físicos	18
1.4 Métodos Bottom-up.	20
1.5 Caracterização das NPs metálicas.	23
1.6 Microscopia Eletrônica de Transmissão (TEM).....	23
1.7 Microscopia Eletrônica de Transmissão de Alta Resolução (HRTEM) ..	24
1.8 Microscopia EDS.	25
1.9 Uso de microalgas e cianobactérias na produção de MeNPs. ..	26
2. Materiais e Métodos	28
2.1 Locais de Amostragem	29
2.2 Coleta e Preparo do material algal	30
3. Resultados	32
4. Discussão	38
5. Conclusão	40
6. Referências Bibliográficas	41

1. Introdução

A nanotecnologia é definida como o desenvolvimento, síntese, caracterização e aplicação de materiais de dimensões nanométricas, denominados nanomateriais e é um conceito relacionado ao da nanociência, que corresponde ao estudo de estruturas e moléculas com dimensões entre 1 e 100 nm (Ganesan *et al.*, 2020). O termo "nano" é derivado do grego *nanos* ou do latim *nanus*, termos que significam "anão". O norte americano Richard Feynman foi o precursor do conceito de nanotecnologia, apesar de não ter utilizado esse termo em sua palestra sobre Física, nos EUA, em 1959 (Feynman *et al.*, 1960). Aparentemente, o termo nanotecnologia foi cunhado por Norio Taniguchi, em 1974. Segundo este pesquisador, a nanotecnologia consiste principalmente no processamento, separação, consolidação e deformação de materiais por um átomo ou uma molécula (Taniguchi *et al.*, 1974; Santamaria *et al.*, 2012).

A diferença entre a nanociência e a nanotecnologia é que a nanociência fornece o conhecimento sobre o arranjo dos átomos e suas propriedades básicas em nanoescala, enquanto a nanotecnologia é a tecnologia usada para controlar a matéria em nível atômico para a síntese de novos nanomateriais com características diferentes (Singh *et al.*, 2016). A nanotecnologia abrange as áreas de estudo da física, química, ciência dos materiais, estado sólido e biociências (Kolahalam *et al.*, 2019). Recentemente, houve um aumento no interesse pela nanotecnologia, uma vez que os nanomateriais podem ser úteis em várias atividades humanas, incluindo aplicações catalíticas em muitos processos industriais, produção de biocombustíveis e de eletrônicos, purificação de água, usos medicinais e aplicações em biotecnologia de um modo geral (Ganesan *et al.*, 2020). O interesse econômico na miniaturização de dispositivos está se concentrando principalmente nos campos da medicina e da eletrônica. No futuro,

é provável que a nanotecnologia adquira uma ampla influência na humanidade, nos campos da subsistência, trabalho e comunicação (Kolahalam *et al.*, 2019).

Na década de 80, a nanotecnologia permaneceu apenas como uma área de discussão, mas o conceito de nanotecnologia permaneceu e foi difundido entre os pesquisadores nos últimos anos devido ao seu potencial para diferentes aplicações (Baig *et al.*, 2021). Os elementos-chave para a nanotecnologia são os nanomateriais (Kolahalam *et al.*, 2019). Definições mais detalhadas sobre os nanomateriais e termos associados são discutíveis e ainda não foram completamente estabelecidas, havendo inconsistências na interpretação e classificação dessas estruturas. O estabelecimento desta definição não é tão simples e, na ausência de um conceito mais restrito, os nanomateriais são frequentemente interpretados de diferentes formas. Muitos pesquisadores usaram o termo nanomaterial quando o tamanho da partícula variava de algumas unidades a poucas dezenas de nanômetros, enquanto outros usaram o termo nanomaterial para qualquer partícula menor do que um micrômetro (Baig *et al.*, 2021). A civilização utiliza nanomateriais há muito tempo e para várias aplicações, mesmo que não se saiba que eles possuíssem o conhecimento para isso. Há cerca de 4.500 anos atrás, por exemplo, nanofibras de amianto eram utilizadas para reforçar misturas de cerâmica (Heiligtag *et al.*, 2013) e foi também observado que os antigos egípcios utilizavam nanopartículas de PbS em uma fórmula de tinta para cabelos há cerca de 4.000 anos (Walter *et al.*, 2006; Jeevanandam *et al.*, 2018).

Os nanomateriais podem ter diferentes formas, como nanobastões, nanopartículas ou nanofolhas, que podem ser caracterizados com base em sua dimensionalidade. Os nanomateriais com dimensão zero são denominados nanopartículas (NPs), os unidimensionais são os nanobastões ou os nanotubos, sendo que os bidimensionais são geralmente nanofilmes, nanocamadas e nanocoberturas. Quando há interação entre duas ou mais partículas, suas propriedades físicas são alteradas e essas partículas de diferentes constituições são chamadas nanomateriais de massa ou tridimensionais. Os

nanomateriais são também diferenciados com base em sua morfologia, tamanho, propriedades e composição. Assim, podem ser, por exemplo, nanomateriais de carbono, nanopartículas metálicas, nanomateriais semicondutores, nanomateriais poliméricos e nanomateriais baseados em lipídeos (Kolahalam *et al.*, 2019). Embora apresentem diversas possibilidades de usos, os nanomateriais geralmente são ainda produzidos apenas em escala laboratorial, com muitos não tendo sua comercialização viável devido à complexidade do procedimento de síntese, alto custo e baixa biocompatibilidade. A fim de otimizar a biocompatibilidade, muitos nanomateriais (como as nanopartículas) são revestidos com biopolímeros e/ou anticorpos ou, ainda, caso os ligantes sejam tóxicos, estes devem ser removidos em um processo posterior à síntese (Zayed *et al.*, 2015).

As nanopartículas (NPs) são um tipo de nanomaterial especialmente relevante em vários estudos e aplicações. Elas apresentam tamanho que varia de 1 a 100 nanômetros, uma única dimensão e podem ser compostas somente por átomos de carbono, por este elemento na forma de matéria orgânica, por metais ou óxidos metálicos (Horikoshi *et al.*, 2013). Por suas pequenas dimensões, as nanopartículas possuem uma grande relação superfície:volume, podem ser facilmente transportadas no meio ambiente e podem ainda entrar na cadeia alimentar, penetrando nas células e se acumulando nos órgãos. Tais características resultam em limitações para seu uso, principalmente porque algumas podem ser compostas por materiais tóxicos ou cujos efeitos na saúde humana ou ambiental são pouco conhecidos. O uso de produtos químicos tóxicos limita muito suas aplicações biomédicas, havendo necessidade do desenvolvimento de métodos confiáveis, não tóxicos e ecologicamente adequados para a síntese de nanopartículas, visando expandir sua aplicação neste campo (Li *et al.*, 2011). Sendo assim, as nanopartículas são categorizadas com base em sua forma, tamanho e características químicas, sendo classificadas essencialmente em NPs baseadas em C, NPs de cerâmica, NPs baseadas em lipídios, NPs semicondutoras, NPs poliméricas e NPs metálicas.

Dentre as NPs baseadas em carbono, os fulerenos e nanotubos de carbono (NTCs) são as duas principais subcategorias (Elliott *et al.*, 2013). Os fulerenos são compostos de unidades de C organizadas de modo pentagonal e hexagonal, correspondendo a estruturas esféricas e ocas formadas por sessenta ou mais átomos de carbono (Astefanei *et al.*, 2015). Devido à sua condutância elétrica, alta resistência, tipo de estrutura, afinidade eletrônica e adaptabilidade, eles são de grande interesse econômico (Elliott *et al.*, 2013). Os NTCs são alongados e formam estruturas tubulares de 1 a 2 nm de diâmetro e se assemelham fundamentalmente a folhas de grafite enroladas na forma de um tubo. Os NTCs são referidos como nanotubos de carbono de parede única (NTCPU), de parede dupla (NTCPD) ou de paredes múltiplas (NTCPMs), dependendo de quantas folhas estão presentes nas paredes (Astefanei *et al.*, 2015).

As nanopartículas de cerâmica são feitas de materiais inorgânicos e não metálicos que são tratados termicamente e resfriados de maneira específica para obtenção de propriedades particulares. Essas NPs apresentam vários formatos, podendo ser amorfas, policristalinas, densas, porosas ou ocas. São também conhecidas por sua durabilidade e resistência ao calor. As NPs de cerâmica são usadas em várias aplicações, incluindo seu uso em revestimento de superfícies, como catalisadores de reações e em baterias (Sigmund *et al.*, 2006).

As NPs lipídicas, diferentemente do que foi mencionado para NPs de modo geral, normalmente são maiores, tendo um diâmetro de 10 a 1.000 nm. Elas são esféricas e caracterizadas por possuírem um núcleo lipídico sólido e uma matriz composta por moléculas lipofílicas solúveis (Khan *et al.*, 2019). Essas porções lipídicas fazem com que estas NPs sejam úteis em várias aplicações biológicas, como seu uso em vacinas, na terapia gênica, em antibióticos e em cosméticos (Kolahalam *et al.*, 2019).

As nanopartículas semicondutoras têm propriedades intermediárias às das NPs metálicas e das NPs não-metálicas, podem ser formadas pelos metais Zn e Cd, por exemplo, e têm características

físicas e químicas únicas que as tornam úteis para várias aplicações. Nanopartículas semicondutoras podem, por exemplo, absorver e emitir luz, sendo usadas para fazer células solares mais eficientes ou diodos emissores de luz (LEDs) mais brilhantes. São usadas também para fazer dispositivos eletrônicos menores e mais rápidos, como transistores, e podem ser usadas em bioimagem e tratamentos contra o câncer (Biju *et al.*, 2008).

As nanopartículas poliméricas ou nanopartículas de polímero (NPPs) são frequentemente orgânicas e tem tamanho entre 1 e 1.000 nm e podem conter substâncias ativas adsorvidas. Elas geralmente são observadas na forma de nanoesferas (nanopartículas com formato de esferas), ou nanocápsulas (nanopartículas com formato de cápsulas) (Khan *et al.*, 2019; Zielinska *et al.*, 2020).

As nanopartículas metálicas (MeNPs) são formadas a partir de íons metálicos geralmente organizados em um núcleo cristalino envolto por matéria orgânica. Existem diferentes métodos para a preparação dessas nanopartículas, como os químicos ou fotoquímicos. Ao usar agentes redutores, os íons metálicos são reduzidos, convertendo à sua forma de metal zero, e se agrupando na formação de nanopartículas metálicas. Estas NPs têm elevada razão superfície:volume, otimizando sua capacidade de adsorção de pequenas moléculas. São amplamente utilizadas em diferentes áreas de pesquisa, em aplicações ambientais e outros estudos (Kumar *et al.*, 2018; Mohd *et al.*, 2018). Nanopartículas formadas por dois metais (bimetálica) ou três (trimetálica) podem ser sintetizadas e apresentam elevada capacidade catalítica (Hoseini Chopani *et al.*, 2020).

1.1 Tipos de MeNPs

As nanopartículas metálicas (MeNPs) são sintetizadas a partir de precursores metálicos, do uso de algum agente redutor e de ligantes orgânicos que estabilizam a estrutura da NP, podendo também funcionar como redutores. Devido às características conhecidas de ressonância plasmônica de superfície localizada (RPSL), que é o resultado do confinamento de um plásmon de superfície em uma nanopartícula de tamanho comparável ou menor do que o comprimento de onda da luz usada para excitar o plásmon (Kelly *et al.*, 2002), as MeNPs possuem propriedades optoeletrônicas únicas. Em relação à obtenção de nanopartículas metálicas, a síntese dos nanocristais com controle de seus tamanhos e formas é essencial para as aplicações desejadas atualmente (Dreaden *et al.*, 2012; Khan *et al.*, 2019). Dentre os metais comumente utilizados na síntese de MeNPs, destacam-se prata, zinco, cobre, ouro, alumínio e ferro.

As nanopartículas de prata (AgNPs) apresentam propriedades físicas e químicas únicas e capacidade para absorver e espalhar a luz na faixa do visível e do infravermelho. As AgNPs podem exibir capacidades antimicrobianas adicionais que não são exercidas pela prata iônica (Shenashen *et al.*, 2014). As nanopartículas de zinco são geralmente formadas a partir de óxidos de zinco (ZnONPs), apresentando capacidades catalíticas (Chen e Tang, 2007), elétricas, optoeletrônicas e fotoquímicas, sendo amplamente utilizadas (Kumar S.S. *et al.*, 2013).

As nanopartículas de cobre (CuNPs) podem ser preparadas por processos naturais ou através de síntese química (Heiligtag *et al.*, 2013). Estas nanopartículas são especialmente interessantes e são aplicadas há algum tempo como agentes corantes e biomédicos, bem como antimicrobianos (Ermini *et al.*, 2021). Dentre os métodos de síntese física, o *electro exploding wire* (EEW) tem sido usado para criar nanopartículas de cobre. O EEW é realizado enviando uma corrente de 1.010 A/m^2 através de um

fio de cobre fino que entra em contato com uma placa de cobre e ocasiona uma explosão que resulta na liberação de CuNPs (Siwach e Sen, 2008).

As nanopartículas de ouro (AuNPs) possuem propriedades físicas e químicas únicas e podem absorver e espalhar a luz na faixa do visível e do infravermelho próximo (Rad *et al.*, 2011; Compostella *et al.*, 2017). As AuNPs são objetos de extensa investigação devido às suas capacidades de reconhecimento óptico, elétrico e molecular, com vários usos prospectivos em muitos campos, como eletrônica, nanotecnologia, microscopia eletrônica, ciência de materiais e biomedicina (Rad *et al.*, 2011). Nanopartículas de alumínio (AlNPs) por outro lado, têm forte reatividade, o que as tornam promissoras para aplicação em composições de alta energia, na geração de hidrogênio, em processos de tratamento de água e na síntese de estruturas 2D e 3D de alumina (Lerner *et al.*, 2016).

As nanopartículas de ferro (FeNPs) têm várias aplicações, incluindo em catálise, no armazenamento e conversão de energia, em transporte de agentes químicos e como sensores. Elas também são utilizadas em células fotovoltaicas, na purificação de água e na remediação ambiental. As FeNPs também podem ser usadas em imagens de ressonância magnética (IRM) como agentes de contraste para melhorar a visibilidade de tecidos e órgãos, além de serem usadas em mídia de gravação magnética, como unidades de disco rígido (Zhuang e Gentry, 2011; Jamkhande *et al.*, 2019).

1.2 Métodos de síntese de NPs metálicas

A tecnologia atual é capaz de atribuir diversas funções aos nanomateriais, porém, sua síntese permanece apenas em escala laboratorial e eles não podem ser comercializados, principalmente devido à complexidade dos processos de produção, alto custo e baixa biocompatibilidade. Para melhorar a biocompatibilidade, os nanomateriais devem ser revestidos com biopolímeros e/ou anticorpos para

evitar rejeição pelo organismo (Zayed *et al.*, 2016). Dentre os nanomateriais comumente utilizados, como nanotubos, nanomembranas, fulerenos e nanopartículas, estas últimas são muito relevantes devido às suas interessantes propriedades (Horikoshi *et al.*, 2013). Mais especificamente, as nanopartículas metálicas (MeNPs) são classificadas como inorgânicas e são obtidas a partir de metais precursores que podem ser estabilizados por muitos tipos de moléculas orgânicas (ligantes ou estabilizadores) (Kahn *et al.*, 2005; De la Fuente *et al.*, 2012). As MeNPs possuem propriedades físicas e químicas muito úteis para diversas aplicações (Altammar *et al.*, 2023), incluindo os campos da física, química, biologia, engenharia e medicina (Millstone *et al.*, 2009; Lee, S.H. *et al.*, 2012). Essas propriedades podem ser muito diferentes entre nanopartículas distintas, pois dependem da morfologia, tamanho e estado da superfície da MeNP, sendo todas estas características influenciadas pelo método de síntese utilizado (Moraes *et al.*, 2021). Nesse contexto, é essencial ter controle sobre os métodos e as características dessas nanoestruturas, para um melhor aproveitamento de suas propriedades especiais (Amiens *et al.*, 2016; Horikoshi *et al.*, 2013).

Com base na necessidade de otimizar processos de síntese das NPs, foi necessário o desenvolvimento de métodos de preparação que fornecem uma forma reprodutível de obtenção de nanopartículas. A escolha do método de síntese a ser empregado (condições de reação, temperatura, solvente, etc.) representa um fator determinante para a obtenção de nanopartículas, influenciando diretamente na estrutura final e na reatividade desses sistemas (Moraes *et al.*, 2018). Existem três tipos de abordagens principais para a síntese de NPs: a física, a química e a biológica. A abordagem física também é chamada de abordagem *Top-Down*, enquanto as abordagens químicas e biológicas são coletivamente chamadas de abordagem *Bottom-up* (Altammar *et al.*, 2023). O processo de síntese conhecido como “Top-down” é baseado na desconstrução de macroestruturas até atingirem a escala nanométrica (Madkour *et al.*, 2019), enquanto a abordagem *Bottom-up* é um método de construção

baseado no agrupamento de átomos e/ou moléculas usados como materiais de partida (Isaacoff *et al.*, 2017; Gherbi *et al.*, 2022). O método *Bottom-up* é interessante porque permite um maior controle das propriedades e composição dos blocos individuais (Barhoum *et al.*, 2019). As abordagens física e biológica são chamadas de Síntese Verde de NPs, processo em que os agentes estabilizadores não liberam produtos agressivos ao meio ambiente, e essas abordagens são ainda subcategorizadas em vários tipos que dependem do método adotado (Altammar *et al.*, 2023).

1.3 Métodos Top-Down / Físicos

Na abordagem *Top-down*, o material é desconstruído a partir de estruturas maiores até chegar na escala nanométrica. Este método é tradicionalmente classificado ou mesmo tratado como sinônimo de método físico (Baig *et al.*, 2021). Alguns dos métodos físicos mais utilizados na atualidade são a moagem mecânica, o eletrogiro, a ablação a laser e a pulverização.

O processo de moagem mecânica consiste em expor as macroestruturas à moagem por esferas rígidas em recipientes colocados em agitadores, sendo um processo de impacto com alta energia (Gorrasi e Sorrentino, 2015). Um exemplo de nanopartículas produzidas por este método e que apresentam aplicações relevantes, como remediação ambiental, armazenamento e conversão de energia, são os nanomateriais de carbono moído (Yadav *et al.*, 2012; Lyu *et al.*, 2017). Em relação ao eletrogiro, trata-se de uma técnica geralmente usada para criar fios nanométricos ou nanofibras a partir de vários materiais, na maioria das vezes polímeros (Chronakis, 2010; Ostermann *et al.*, 2011). Esta técnica permite a síntese de materiais do tipo “*core-shell*” e polímero oco, inorgânicos, orgânicos e híbridos (Kumar *et al.*, 2013).

A síntese por ablação a laser é utilizada para produzir nanopartículas atingindo o material alvo com um feixe de laser intenso. Por esta técnica, um microtraço pode ser feito utilizando um feixe de laser para vaporizar um único material (Tran e Wen, 2014). Pela alta intensidade da irradiação de laser utilizada nesse processo, o material de origem ou precursor vaporiza, resultando na produção de nanopartículas (Amendola e Meneghetti, 2009). Este método pode ser usado para criar uma grande variedade de nanomateriais, incluindo nanopartículas metálicas, nanomateriais de carbono, compostos de óxido e cerâmica (Su e Chang, 2018; Baig *et al.*, 2021). A litografia é uma técnica que normalmente usa um feixe concentrado de luz ou elétrons para criar nanopartículas (Pimpin e Srituravanich, 2012), sendo acessível e fácil de aplicar (Brady *et al.*, 2019).

Na pulverização, as micropartículas de um material sólido são expelidas de sua superfície, o que ocorre quando a substância sólida é atingida por plasma intenso ou partículas de gás (Behrisch, 1981). O método de pulverização é intrigante porque é mais acessível do que a litografia por feixe de elétrons e a composição dos nanomateriais pulverizados é semelhante ao material-alvo, mas contendo menos contaminantes (Baig *et al.*, 2021). Na técnica de explosão de elétrons (EEW), mencionada na síntese de CuNPs descrita anteriormente, um fio metálico fino é submetido a um pulso intenso de corrente que causa a explosão, evaporação e ionização do metal, que expande e esfria por reagir com o gás ou meio líquido próximo. O vapor condensado finalmente forma as nanopartículas (Joh *et al.*, 2013). A técnica é conhecida como método de explosão de elétrons porque produz plasma a partir da explosão de um fio metálico, que pode produzir nanopartículas a partir uma solução contendo o metal, por exemplo, sem usar um agente redutor (Joh *et al.*, 2013).

Para explorar a produção de NPs em fluidos (nanofluidos) o processo mais adequado é a sonicação. Após expor o líquido contendo sais do metal à agitação em um agitador magnético, realiza-se a sonicação, por meio um vibrador ultrassônico, por exemplo, e homogeneizador mecânico. Os

sonicadores deste tipo são mais empregados na indústria de síntese de nanopartículas por serem visivelmente mais poderosos e eficazes do que banhos ultrassônicos (Zheng *et al.*, 2010). O método de descarga de arco é realizado a partir de duas hastes que são ajustadas em uma câmara com uma pressão de hélio constante. A descarga de arco entre as extremidades das hastes impulsiona sua vaporização, resultando na síntese das NPs. A criação de vários materiais nanoestruturados pode ser realizada com esta técnica (Berkmans *et al.*, 2014), que é geralmente aplicada para criar materiais à base de carbono como fulerenos, nanochifres de carbono (NCCs), nanotubos (Shi *et al.*, 2000), grafenos de poucas camadas e nanopartículas de carbono esféricas (Kumar *et al.*, 2013).

1.4 Métodos “Bottom-up”

Nesse processo, nanopartículas são construídas de estruturas menores para maiores (Baig *et al.*, 2021) e estão inclusas tanto abordagens químicas quanto biológicas. Existem alguns tipos de abordagens bottom-up que podem ser, por exemplo, um processo químico envolvendo a fase de vapores precursores, onde um revestimento fino é criado na superfície do substrato no processo conhecido como deposição de vapor químico (DVQ) (Dikusar *et al.*, 2009). Nesse processo, precursores são considerados apropriados para a DVQ quando apresentam volatilidade suficiente, alta pureza química, forte estabilidade de evaporação, baixo custo, natureza não perigosa e vida útil longa. Os benefícios deste método incluem a produção de nanopartículas puras rígidas, homogêneas e fortes (Ago, 2015). A DVQ é uma excelente abordagem para criar nanomateriais de alta qualidade (Machac *et al.*, 2020) e também é conhecida por criar nanopartículas bidimensionais (Baig *et al.*, 2021).

Uma abordagem química úmida chamada de método sol-gel, é amplamente utilizada para criar nanomateriais (Das e Srivasatava, 2016; Baig *et al.*, 2021). Por meio dessa técnica alcóxidos metálicos

ou precursores metálicos em solução são condensados, hidrolisados e termicamente decompostos. Dessa forma, o resultado é uma solução chamada de estável ou sol. O material gerado é ambientalmente amigável e apresenta muitos benefícios adicionais (Patil *et al.*, 2021). A qualidade uniforme do material gerado, a baixa temperatura de processamento e a facilidade do método em produzir compostos e nanoestruturas complexas são apenas algumas das muitas vantagens da técnica sol-gel (Parashar *et al.*, 2020). A co-precipitação é uma técnica de deslocamento de solvente e é um processo de procedimento químico úmido. O etanol, a acetona e o hexano são exemplos de solventes utilizados nesse processo. As fases poliméricas podem ser sintéticas ou naturais. Os resultados de estresse interfacial em duas fases resultam na formação das nanopartículas (Das e Srivasatava, 2016).

As NPs metálicas podem ainda ser produzidas usando o método de condensação de gás inerte ou condensação molecular em grandes quantidades sendo que essa técnica tem sido amplamente difundida. A uma determinada temperatura, os metais evaporam ritmicamente, geralmente em ambiente isolado contendo um determinado tipo de gás. As nanopartículas de cobre, por exemplo, são criadas pela vaporização de cobre metálico dentro de um recipiente contendo argônio, hélio ou néon. Em seguida, nitrogênio líquido é usado para resfriar os gases, formando nanopartículas com dimensões na faixa de 2–100 nm (Pérez-Tijerina *et al.*, 2008; Patil *et al.*, 2021).

As técnicas de síntese de MeNPs utilizando agentes bioativos, incluindo materiais vegetais, micróbios e vários resíduos biológicos, como resíduos vegetais, resíduos de cascas de frutas, cascas de ovos, resíduos agrícolas, algas, são exemplos de “Síntese Verde” de nanopartículas (Kumari *et al.*, 2021). A “Síntese Verde” de nanopartículas tem várias vantagens, como ser acessível, produzir NPs de alta estabilidade em pouco tempo, produzir subprodutos não tóxicos ao meio ambiente e ser prontamente voltada para a síntese em larga escala (Malhotra e Alghuthaymi, 2022).

Recentemente tem ocorrido um aumento do interesse pela “Síntese Verde”. Isto ocorre principalmente porque as substâncias químicas comumente utilizadas para a manutenção e estabilização de nanopartículas na síntese química são geralmente tóxicas e geram subprodutos nocivos aos ecossistemas, além de enorme gasto energético. Assim, dentre os métodos de “Síntese Verde”, ocorre um aumento de interesse em novas metodologias biológicas que não liberam esses compostos para o meio ambiente (Singhal *et al.*, 2011). Os materiais sintetizados desta forma são adequados para aplicações biológicas, como reconhecimento e terapia de diferentes tipos de câncer. Por exemplo, nanopartículas de metais nobres, como ouro e prata, são utilizados devido às suas propriedades plasmônicas principalmente para fins de detecção, enquanto nanopartículas magnéticas são empregadas especialmente em terapias, como a hipertermia (Thakkar *et al.*, 2010; Mohanpuria *et al.*, 2008).

A Síntese Verde pode ser física, por meio de micro-ondas e ablação a laser, por exemplo, ou biológica, pelo uso de extratos de organismos. Nesse processo, geralmente são utilizadas bactérias, leveduras, fungos, algas ou plantas, com o intuito de reduzir íons metálicos em NPs metálicas menos tóxicas (Kumar *et al.*, 2008; Fayaz *et al.*, 2010; Ahmed *et al.*, 2015). Essa abordagem pode ocorrer por duas vias: enzimática (redução ativa) ou não enzimática (redução passiva) (Tobin *et al.*, 1994; Kumar *et al.*, 2007). Na redução ativa, enzimas como a sulfito redutase, proteases, hidrogenases ou citocromo c3, por exemplo, podem atuar como agentes redutores de íons metálicos. Na redução passiva, os agentes redutores são os grupos funcionais de compostos não enzimáticos, como fenóis, vitaminas e minerais (Tobin *et al.*, 1994; Kumar *et al.*, 2007). Atualmente, a síntese biológica de nanopartículas metálicas pode ser realizada a partir de recursos naturais, como plantas (*Azadirachta indica*, *Camellia sinensis*, *Sesbania drummondii*, *Aloe vera*) e substâncias que estas produzem, como borracha natural, extratos diversos de folhas e amido (Vijayaraghavan *et al.*, 2012). Além disso, microrganismos, como

fungos (Raina *et al.*, 2020), algas (Kalaiarasi *et al.*, 2010), cianobactérias (Hamouda *et al.*, 2019) e bactérias heterotróficas (Ahmed *et al.*, 2021), vem sendo empregados na produção de MeNPs.

1.5 Caracterização das NPs metálicas

Uma vez que as nanopartículas metálicas são detectadas, elas passam pelo processo de caracterização, que utiliza algumas técnicas de microscopia, como *Microscopia Eletrônica de Transmissão*, *Microscopia Eletrônica de Transmissão de Alta Resolução* juntamente com *Transformada Rápida de Fourier* e *Energia Dispersiva por Raio-X*, que determinam sua dispersão espacial, cristalinidade, morfologia e tamanho.

1.6 Microscopia Eletrônica de Transmissão (TEM)

A microscopia eletrônica de transmissão tem sido usada há muito tempo na ciência dos materiais como uma poderosa ferramenta analítica (Brunelli *et al.*, 2003; Armigliato *et al.*, 1979). A distribuição de tamanho das nanopartículas é importante para suas aplicações, pois as nanopartículas exibem diferentes propriedades físicas e químicas relacionadas a seu tamanho. Os métodos de síntese que geram materiais de tamanho e formato uniformes estão cada vez mais visados e a TEM é um dos métodos mais utilizados para estudar essas características (Rauwel *et al.*, 2014).

A TEM é utilizada para gerar imagens a partir de um feixe de elétrons transmitidos através de uma amostra fina, permitindo a visualização detalhada da amostra. Esta técnica de microscopia tem sido amplamente utilizada em pesquisas nanomédicas e é capaz de revelar as finas relações entre nanopartículas e componentes de células/tecidos devido às informações únicas fornecidas pela sua alta

resolução. A TEM também possui algumas desvantagens, pois os microscópios e os equipamentos relacionados apresentam custo elevado, além do processamento ser demorado e exigir alta qualificação do profissional que analisa as amostras (Malatesta *et al.*, 2021).

1.7 Microscopia Eletrônica de Transmissão de Alta Resolução (HRTEM)

A microscopia eletrônica de transmissão de alta resolução (HRTEM) é uma técnica primordial para determinação da estrutura cristalina das MeNPs. A resolução pontual de um microscópio eletrônico pode atingir menos de 1 Å (um Ångström) (Haider *et al.*, 2010; Smith, 2012; Kisielowski *et al.*, 2008), que é menor que a distância entre átomos adjacentes na maioria dos cristais. Entretanto, somente a alta resolução não é suficiente para revelar a estrutura do material examinado, pois torna-se necessário a realização, mutuamente, das análises de Transformada Rápida de Fourier (FFT) e Energia Dispersiva por Espalhamento (EDS) para auxiliar na caracterização inequívoca do material. Outras duas condições importantes também precisam ser satisfeitas durante o processo de obtenção da imagem: a amostra necessita estar com espessura suficientemente fina e há restrições quanto às condições específicas de luminosidade (Scherzer, 1949).

A geração da imagem HRTEM prossegue em duas etapas primárias: primeiro, os elétrons interagem com a amostra, resultando em uma onda na superfície, segundo, essa onda se propaga através do sistema óptico eletrônico e as ondas difratadas interagem entre si durante a propagação, produzindo as imagens. Dois efeitos relacionados à espessura da amostra precisam ser considerados durante a formação da imagem - o efeito dinâmico, ou seja, o multiespalhamento de elétrons pela amostra durante a transmissão, e o efeito não linear (Ishizuka, 1980), isto é, a interferência não linear entre os feixes difratados durante o processo de formação da imagem (Li *et al.*, 2020). Complementar

à técnica de HRTEM, a Transformada Rápida de Fourier (FFT) visa determinar a natureza cristalina das nanopartículas metálicas por meio de cálculos das distâncias planares. Dessa forma é possível saber se a MeNP é cristalina ou policristalina.

1.8 Microscopia de Energia Dispersiva por Espalhamento (EDS)

A microanálise EDS é uma técnica de análise elementar baseada na geração de raios X em faixas características dos átomos da amostra a partir da incidência de um feixe de elétrons (Samuelson *et al.*, 1998). Depois do impacto com os átomos, dois eventos físicos fundamentais ocorrem: o espalhamento elástico e o inelástico. O espalhamento elástico é uma mudança da direção do elétron sem perda de energia perceptível, geralmente causada por interações com o núcleo que compreende o material, enquanto o espalhamento inelástico é a perda de energia sem nenhuma mudança perceptível na direção, sendo geralmente gerado a partir de interação com os elétrons ligados e o núcleo nos átomos (Morgan *et al.*, 1085). A emissão de raios X em diferentes comprimentos de onda pode então ser medida por um detector sensível à energia de fótons. Esses raios X são característicos dos elementos químicos dos quais se originam e contêm informações sobre esses elementos que estão presentes na amostra. Esta técnica, porém, implica em algumas limitações na análise elementar. Em primeiro lugar, os raios-X não são capazes de distinguir entre espécies iônicas e não-iônicas. Em segundo lugar, é necessário que todas as amostras sejam analisadas sob vácuo e, obviamente, isso tem sérias implicações para a preparação das amostras porque os elétrons e os raios X são fortemente absorvidos pelo ar (Scimeca *et al.*, 2018).

1.9 Microalgas e cianobactérias: produtoras potenciais de MeNPs

Microalgas e cianobactérias (estas últimas não são abordadas nesse trabalho), são microrganismos com a maquinaria celular adequada para produzir nanopartículas. Além disso, apresentam vantagens por tolerarem amplas faixas de temperatura, de salinidade, de luminosidade, de pH, podendo até mesmo ocorrer sob as condições extremas de desertos e ainda podem crescer em simbiose com outros organismos (Barsanti *et al.*, 2008). As algas são classificadas em vários filos, e, quanto ao tamanho, são denominadas macroalgas ou microalgas. As macroalgas são relativamente grandes (com tamanho que varia de poucos milímetros a até 30 metros) e geralmente multicelulares, enquanto as microalgas são organismos microscópicos, uni ou pluricelulares e eucarióticos (Khan *et al.*, 2018).

Apesar da ausência de estruturas e órgãos complexos quando comparadas com as plantas, as microalgas são capazes de realizar fotossíntese usando luz solar, dióxido de carbono e água devido à presença de pigmentos fotossintetizantes, como clorofilas, em suas células. As microalgas são encontradas individualmente ou em colônias em águas doces, marinhas ou hipersalinas, no solo, etc. Elas são utilizadas para enriquecimento nutricional de produtos alimentícios, ração animal e também têm sido utilizadas em áreas como medicina farmacêutica, agricultura, aquacultura, cosméticos e em várias outras áreas comerciais (Lee *et al.*, 2008; Johansen *et al.*, 2011; Borowitzka *et al.*, 2013; Fon Sing *et al.* 2013). As microalgas proporcionaram diversas oportunidades de utilização pela humanidade em diferentes setores (Randrianarison *et al.*, 2017). Elas têm aplicações para o tratamento de águas de esgoto e redução da concentração de CO₂ atmosférico, além de produzirem uma ampla gama de bioprodutos, incluindo polissacarídeos, lipídios, pigmentos, proteínas, vitaminas, compostos bioativos e antioxidantes (Brennan *et al.*, 2010).

O interesse nas microalgas nos levou a novas técnicas de melhoria do cultivo e engenharia genética utilizadas para melhorar o seu potencial como futura fonte de energia renovável de bioprodutos. As microalgas são capazes de crescer rapidamente e sua alta eficiência fotossintética, aliada à capacidade de acumular uma grande quantidade de bioprodutos em suas células, fazem delas um candidato adequado para servir como matéria-prima industrial (Randrianarison *et al.*, 2017). Além disso, o cultivo de microalgas não requer terra fértil, agrotóxicos e, quando comparado com outras culturas e, portanto, não estará competindo por recursos (Khan *et al.*, 2018). O cultivo de microalgas também pode ser realizado utilizando águas residuais e efluentes da moagem de óleos vegetais, que podem auxiliar na biorremediação desse tipo de água (Selmani *et al.*, 2013; Posadas *et al.*, 2017).

As microalgas contêm uma grande quantidade de biomoléculas de grande importância para o processo de Síntese Verde (Corrêa *et al.*, 2021), no entanto, uma vez que a maioria dos compostos estão localizados dentro da parede rígida da célula, a extração de compostos bioativos de microalgas envolve ruptura celular para liberar o conteúdo intracelular, para que possa ser acessado e purificado. Vários processos de extração foram desenvolvidos para retirar esses compostos bioativos da biomassa de microalgas. Esses métodos de extração convencionais podem ser classificados da seguinte forma: (I) extração mecânica, utilizando, por exemplo, pulsos elétricos, ondas de calor ou outros métodos para abalar a estrutura celular (Lee *et al.*, 2017); (II) extração química que utiliza diferentes tipos de solventes, orgânicos polares ou não polares, dióxido de carbono supercrítico e líquidos iônicos para extrair os compostos intracelulares (Mubarak *et al.*, 2015); (III) a extração física, que aplica as microondas e operações de ultrassom (Kapoores *et al.*, 2018) e, por último, (IV) as lises enzimáticas, que empregam enzimas como a tripsina para digerir a parede celular rígida das microalgas (Ranjith *et al.*, 2015).

Uma vez que foi observado que as microalgas são capazes de sintetizar nanopartículas metálicas sob condições controladas em laboratório, é relevante avaliar se esta síntese também ocorre em ambientes naturais, representando algum tipo de mecanismo de interação das algas com os metais. Neste estudo, foram realizadas amostragens de algas em corpos d'água localizados na Cordilheira do Espinhaço, com o objetivo de detectar se esses organismos produzem nanopartículas metálicas por meio do processo de Síntese Verde. Para isso foi escolhida uma região geológica localizada no estado de Minas Gerais, Brasil, caracterizada por altas concentrações de elementos metálicos. Foram escolhidos três locais de coleta: Parque Natural Serra do Caraça (ambiente pristino), Parque Nacional Serra do Cipó (ambiente pristino) e município de Itabira, distrito de Ipoema (ambiente impactado por ações antrópicas).

2. Materiais e Métodos

2.1 Locais de Amostragem

Para a coleta de material algal, duas expedições de campo foram realizadas em 2022, em dias diferentes e em diferentes épocas do ano, sendo uma em 17 de junho (estação seca) e outra em 12 de outubro (estação chuvosa). As amostragens foram realizadas em três localidades distintas, dentro do estado de Minas Gerais, a leste do Quadrilátero Ferrífero, sendo que duas delas são parques naturais e a outra é um ambiente antropizado. O primeiro local de coleta foi a Serra do Caraça (**20° 5' 54" S, 43° 29' 17" W**) que é um parque nacional da serra do Espinhaço; o segundo local de coleta foi o Córrego Criciúma (**19° 36' 33" S, 43° 18' 5" W**) que é um local caracterizado por atividades agropastoris em Itabira, MG, e o terceiro local de coleta foi a Serra do Cipó (**19° 22' 1" S, 43° 32' 17" W**) que é um

sítio preservado, localizado na parte sul da serra do Espinhaço. A escolha por dois tipos de ambientes distintos (antrópico e pristino), se deve ao fato de que é possível determinar com mais precisão a origem das MeNPs por meio de contraste. As localidades mencionadas estão indicadas na Figura 1.

As coletas na Serra do Caraça foram realizadas em três pontos distintos: um localizado em área de Mata Atlântica – Trilha da Capelinha, (**CR1**), e os outros dois localizados em área de Cerrado – Trilha da Cascatinha e Rio Cascudo, (**CR2** e **CR3** respectivamente). Esses pontos ficam a cerca de 2km da entrada do Parque, que é um conhecido ponto turístico da região. A segunda localidade em que as coletas foram realizadas foi o município de Itabira, que segundo o IBGE, é constituída majoritariamente por terrenos acidentados (70%), seguidos por terrenos ondulados (20%) e o restante por áreas planas (10%). As coletas nesse município foram realizadas no local conhecido como Córrego Criciúma, indicados pelos pontos **CC1**, mais à jusante, **CC2**, e **CC3**, mais à montante, caracterizados como Mata Atlântica e Cerrado. A terceira localidade escolhida para a coleta foi o Parque Nacional Serra do Cipó, que tem despertado o interesse de pesquisadores ao longo dos anos devido às suas características únicas, principalmente pelo fato de esta região conter a transição entre dois biomas importantíssimos que são hotspots de biodiversidade: o Cerrado e a Mata Atlântica (Ribeiro *et al.*, 2009). As coletas foram realizadas nos pontos **SC1**, **SC2** e **SC3**, caracterizados como Mata Atlântica e Cerrado. Este Parque também é local de ocorrência de grande número de espécies vegetais e animais, sendo um dos mais biodiversos do mundo e o distrito leva o nome da formação geológica natural onde é localizado.

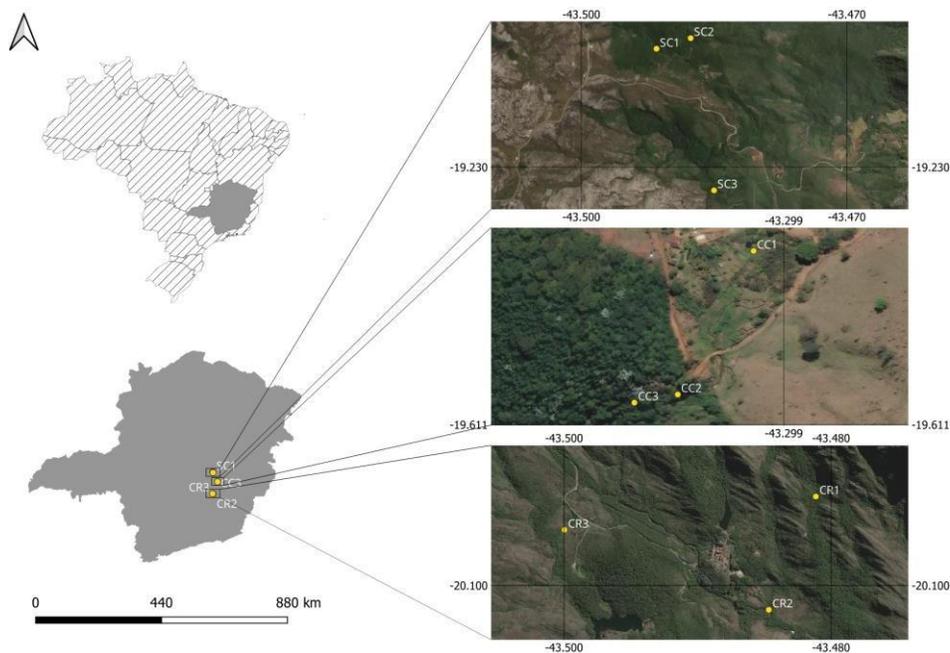


Figura 1 – Imagens de satélite dos três sítios de coleta. **a** – Serra do Cipó (SC) , **b** –Itabira (CC) e **c** – Serra do Caraça (CR).

2.2 Coleta e preparo do material algal

Dentro dos sítios de coleta, coletamos algumas amostras de algas com a técnica de raspagem, que consiste em friccionar uma escova de plástico nas pedras para retirar o material algal fixado, e essas amostras foram analisadas posteriormente em laboratório. As amostras foram coletadas de rochas que estavam na parte bentônica, em córregos com profundidade de ~30 a 50 cm. Algas flutuantes, como *Spyrogyra* sp. e *Mougeotia* sp., foram diretamente recolhidas da coluna d'água em áreas de remanso. Além disso, a alga perifítica *Batrachospermum* sp. foi cuidadosamente recolhida de rochas com o auxílio de escovas plásticas. Todos esses materiais foram transferidos para garrafas plásticas devidamente identificadas (Figura 2b), armazenadas em bolsa térmica para transporte até seu processamento. Cada amostra foi dividida em duas frações, destinadas a diferentes finalidades: (1) fração fixada com lugol (8 mL) usada para identificação das algas. A identificação foi realizada no

Laboratório de Ficologia do ICB-UFMG (Figura 2a), com o auxílio do microscópio Olympus CH30.

(2) Fração *in natura* usada para detecção de nanopartículas. Para enfocar algas de maior biomassa e maiores dimensões, os indivíduos dos gêneros mencionados foram mantidos fixos enquanto eram lavados com água destilada (5x) de modo a tentar eliminar partículas e microrganismos aderidos às superfícies das algas de interesse. Em seguida, as amostras das algas macroscópicas foram maceradas, sendo o material resultante ressuspensionado em água destilada (10 mL) (Figura 2b). Essa suspensão foi depositada, gota a gota, em uma grade de cobre específica para análises de TEM (Microscopia Eletrônica de Transmissão).

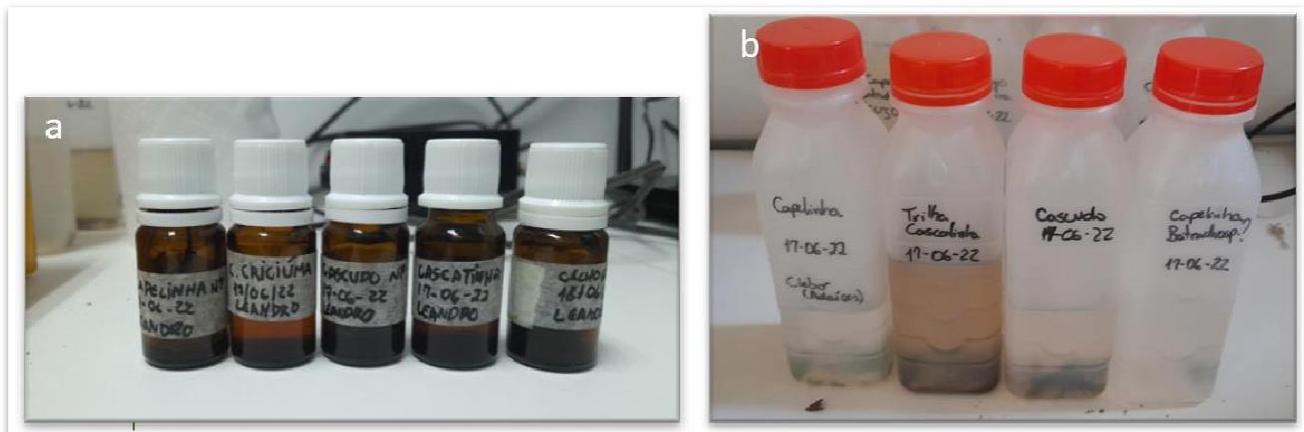


Figura 2 – Material algal coletado nos sítios de amostragem. **(a)** Garrafa de vidro, cor âmbar, com o material algal fixado com lugol para identificação. **(b)** Garrafas de plástico com o material algal enviado para a caracterização no centro de microscopia.

A microscopia eletrônica de transmissão (TEM), uma técnica eficiente e frequentemente utilizada nesse tipo de análise, foi utilizada na detecção de nanopartículas metálicas nas amostras. Por meio dessa técnica, conseguimos determinar o tamanho e a morfologia das nanopartículas metálicas pelo processo onde a amostra analisada é irradiada por um feixe de elétrons que é transmitido através dela, então os elétrons transmitidos interagem fortemente com os átomos da amostra causando sua dispersão, assim os elétrons dispersos mudam de direção e a imagem é formada (Moraes *et al.*, 2018).

A microscopia eletrônica de alta resolução (HRTEM) baseia-se no mesmo princípio da técnica TEM, utilizando o microscópio FEI Tecnai G2–20 S-TWIN, porém permite a determinação da estrutura cristalina e a composição química das nanopartículas encontradas.

A espectroscopia de raios X por energia dispersiva (EDS) foi utilizada para determinar a composição química das nanopartículas metálicas. Esta técnica baseia-se na detecção dos raios X emitidos por uma determinada amostra como consequência da interação desta com um feixe de elétrons de alta energia. Essa interação causa uma excitação de elétrons localizados em níveis internos de baixa energia, propiciando a geração de orbitais vazios que passam a ser ocupados por elétrons de níveis externos de alta energia. Essa transferência eletrônica ocasiona a liberação de energia na forma de raios-X. A determinação da composição química das nanopartículas metálicas se deve ao princípio fundamental de que cada elemento possui sua própria estrutura atômica. Assim, a técnica EDS, realizada por meio de um detector “silicon drift”, da Oxford Instruments, forneceu os valores correspondentes a cada elemento presente na amostra, de acordo com a emissão de raios-X característica.

3. Resultados

A tabela 1 exibe os pontos de coleta deste trabalho, assim como as espécies de microalgas encontradas em cada um deles. As espécies marcadas com um círculo vermelho apresentaram maior densidade (o que é possível de se verificar a olho nu) volumétrica e foram escolhidas para o preparo do material algal. As demais espécies (sem o círculo vermelho) estavam presentes nas amostras, porém em menor densidade.

	Mougeotia	Spyrogyra	Batrachospermum	Pinnularia	Navicula	Actinotaenium	Euglena	
Capelinha			X	X	X		X	
Cascatinha	X							
Cascudo	X		X			X		
C. C. Criciú.		X		X	X	X		
S. do Cipó			X					
	Netrium	Cosmarium	Eunotia	Stauroneis	Ulnaria ulna	Cymbella	Oedogonium	Phormidium
Capelinha			X	X				
Cascatinha								
Cascudo						X		
C. C. Criciú.	X	X			X			X
S. do Cipó								

Tabela 1. Relação dos locais de coleta das amostras com as espécies de microalgas e cianobactéria encontradas.

Com a técnica de microscopia eletrônica de transmissão de alta resolução (HRTEM) foi possível determinar a estrutura cristalina das MeNPs encontradas nos locais de coleta mencionados anteriormente (Materiais e Métodos, item 2.3). Nesses locais, as amostras coletadas apresentaram predominância das espécies *Batrachospermum sp.*, *Spyrogyra sp.*, e *Mougeotia sp.*, de acordo com a devida identificação das mesmas (Materiais e Métodos, item 2.1). A amostragem realizada na Serra do Cipó não apresentou resultados detectáveis de biossíntese de nanopartículas metálicas. As imagens HRTEM correspondentes às amostras da Trilha da Cascatinha (CR2 - Figura 3a) e do Rio Cascudo (CR3 - Figura 3c), mostraram a presença de nanopartículas metálicas policristalinas nos preparados algais de *Mougeotia sp.* e *Batrachospermum sp.* O caráter policristalino das nanopartículas foi evidenciado pela análise FFT (Figura 3b e 3d).

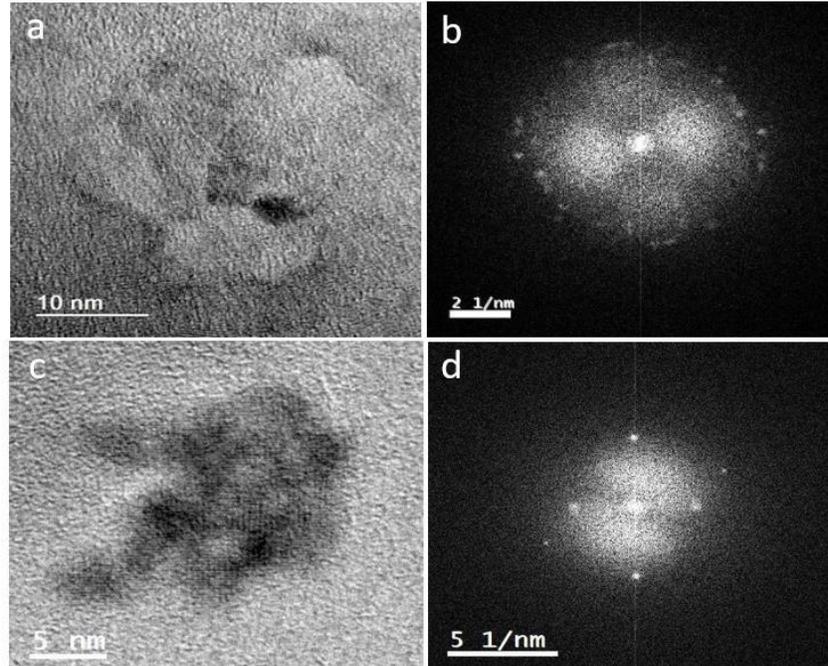


Figura 3 – Imagens da caracterização das nanopartículas metálicas detectadas na Trilha da Cascatinha e Rio Cascudo (Serra do Caraça). **a** e **c** – HRTEM; **b** e **d** – FFT. Material algal produzido de *Mougeotia* sp e *Batrachospermum* sp. respectivamente.

As imagens HRTEM feitas a partir de amostras da Trilha da Capelinha (Figura 4a) indicaram nanopartículas metálicas a partir do preparado algal feito de *Batrachospermum* sp. A análise FFT dessas nanopartículas foram analisadas ao longo do eixo zona [100], com distâncias interplanares características dos planos (020), (02 $\bar{2}$) e (00 $\bar{2}$) na estrutura cúbica de face centrada (fcc), o que confirma a cristalinidade da nanopartícula de ferro (Figura 4b).

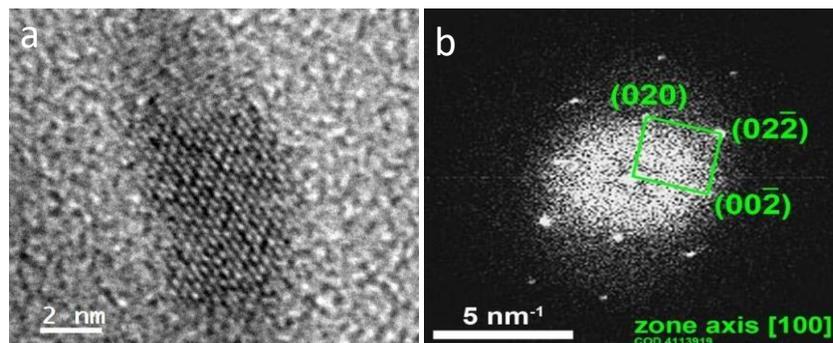


Figura 4 – Imagens da caracterização das nanopartículas detectadas na Trilha da Capelinha (Serra do Caraça). **a** – HRTEM e **b** – FFT. Material algal produzido de *Batrachospermum* sp.

As imagens HRTEM feitas a partir de amostras do Córrego Criciúma (Figura 5a) indicaram nanopartículas metálicas a partir do preparado algal feito de *Spyrogira* sp. A análise FFT dessas nanopartículas foram analisadas ao longo do eixo zona [111], com distâncias interplanares características dos planos (011), (101) e (110) na estrutura cúbica de face centrada (fcc), o que confirma a cristalinidade da nanopartícula de bário (Fig. 5b).

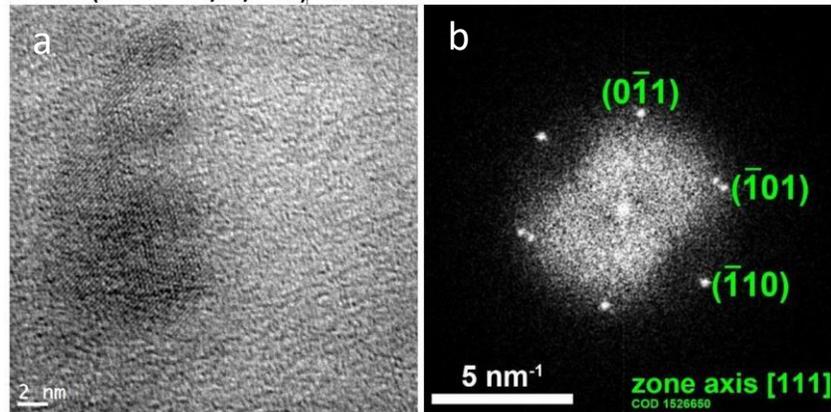


Figura 5 – Imagens da caracterização das nanopartículas detectadas no Córrego Criciúma (Itabira-MG). **a** – HRTEM e **b** – FFT. Material algal produzido de *Spyrogira* sp.

A composição química das MeNPs foi confirmada por espectroscopia de raios X por energia dispersiva (EDS). A análise EDS das NPs encontrados na Trilha da Cascatinha (Fig. 6), indicou a composição química dos elementos Si (52,9%), Fe (33,8%) e Co (13,3%), como está indicado na tabela ao lado. Os espectros de EDS registrados nas nanopartículas da Trilha da Cascatinha mostraram com precisão um pico em 1,9 keV correspondente ao sinal de Si, um pico em 6,2 keV correspondente ao sinal de Fe e um pico em 7,0 keV correspondente ao sinal de Co, como mostrado na figura 6.

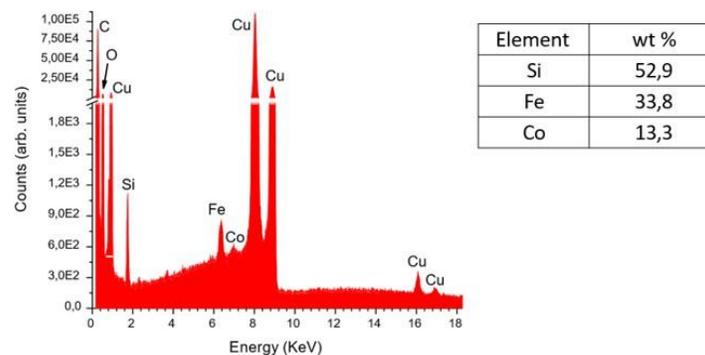


Figura 6 – Espectros de EDS registrados nas amostras coletadas na Trilha da Cascatinha e tabela com os elementos químicos encontrados.

A análise EDS das NPs encontrados no Rio Cascudo (Figura 7), indicou a composição química dos elementos Si (42,0%), Al (26,3%), Fe (14,7%) e 17,0% de outros metais em menor quantidade encontrados nas amostras, como está indicado na tabela ao lado. Os espectros de EDS registrados nas nanopartículas do Rio Cascudo mostraram um pico em 1,7 keV correspondentes ao sinal do Si, um pico em 1,4 keV correspondente ao sinal de Al e picos de 0,4, 6,2 e 7,0 keV correspondentes ao sinal de Fe.

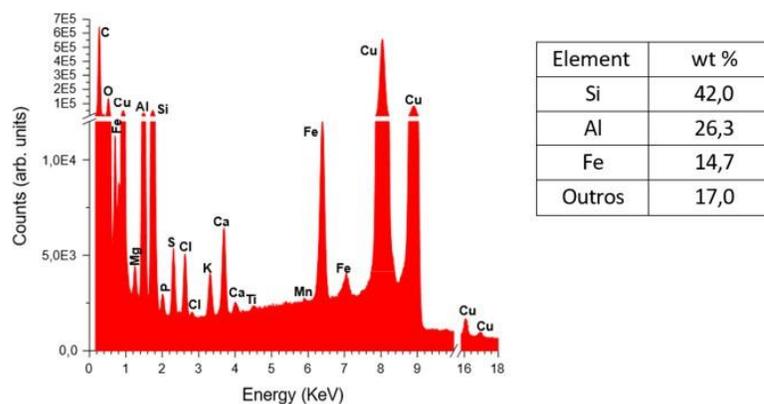


Figura 7 – Espectros de EDS registrados nas amostras coletadas no Rio Cascudo e tabela com os elementos químicos encontrados.

A análise EDS das NPs encontradas Trilha Capelinha (Figura 8), indicou a composição química de Fe (79,7%), Cr (7,3%), Ca (5,9%), Al (4,8%) e Mg (2,2%). Os espectros de EDS registrados nas nanopartículas da Trilha da Capelinha mostraram picos de 0,7, 6,5 e 7,1 keV correspondentes ao sinal de Fe, um pico de 5,3 keV correspondente ao sinal de Cr, um pico de 3,8 keV correspondente ao sinal de Ca, um pico de 1,3 keV correspondente ao sinal de Al e um pico de 1,2 keV correspondente ao sinal de Mg.

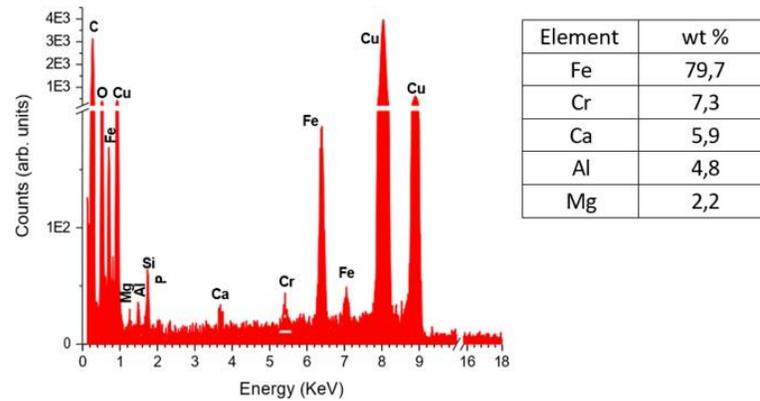


Figura 8 – Espectros de EDS registrados nas amostras coletadas na Trilha da Capelinha e tabela com os elementos químicos encontrados.

A análise EDS das NPs encontradas ponto de coleta Córrego Criciúma (Figura 9), indicou a composição química de Ba (92,1%), Ca (5,1%), S (1,5%) e K (1,3%). Os espectros EDS para as NPs do Córrego Criciúma mostraram picos em 0,9, 4,5, 4,9 e 5,2 keV correspondentes ao sinal de Ba.

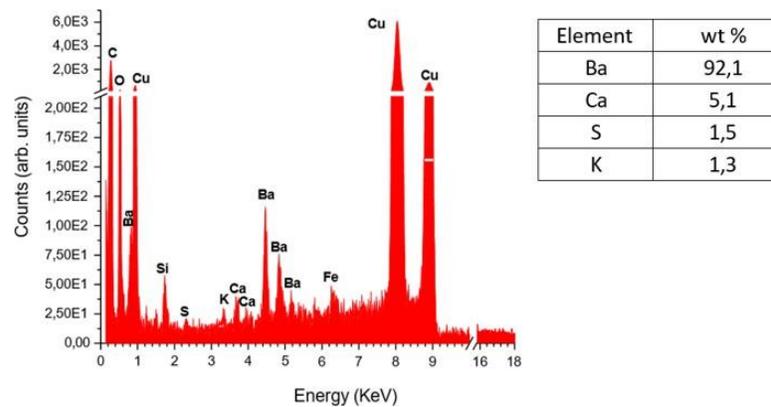


Figura 9 – Espectros de EDS registrados nas amostras coletadas no Córrego Criciúma e tabela com os elementos químicos encontrados.

4. Discussão

As diferenças na composição das NPs entre diferentes algas é um padrão interessante e ainda não mencionado em outros estudos realizados com estes organismos em ambientes naturais. Assim, enquanto *Mougeotia* sp. da Trilha da Cascatinha e do Rio Cascudo sintetizou NPs com maior porcentagem de silício, *Batrachospermum* sp. da Trilha da Capelinha e do Córrego Cascudo apresentaram maior porcentagem de silício e ferro, a microalga *Spyrogyra* sp. encontrada no Córrego Criciúma apresentou maior porcentagem de bário.

O fato dos núcleos das NPs observadas neste estudo, serem compostos por diferentes metais e em diferentes proporções não é facilmente explicável pelas informações disponíveis na literatura. Entretanto, é possível sugerir algumas condições que poderiam ser determinantes na estruturação dessas NPs. Pode-se supor, como visto em outros trabalhos com síntese de MeNPs, que a maior porcentagem de um determinado elemento metálico no núcleo da NP indique sua maior disponibilidade no ambiente, uma maior afinidade da microalga por este metal ou uma maior capacidade da microalga em converter o íon deste metal em sua forma zero. Entretanto, tais hipóteses devem ser testadas em outros estudos.

A limitação da literatura sobre a biossíntese de nanopartículas metálicas na natureza, mencionada acima, é extrema. Além disso, de modo geral, as pesquisas científicas voltadas à biossíntese de NPs são desenvolvidas somente com extratos vegetais, não envolvendo organismos vivos, o que também diferencia esse trabalho. Além do presente estudo, foi encontrado somente um artigo científico no qual organismos vivos foram responsáveis pela síntese de NPs. Trata-se da bactéria *Cupriavidus metallidurans*, capaz de converter íons de ouro (Au) em AuNPs (Bütöf *et al.*, 2018). Portanto, o presente estudo é o segundo registro da biossíntese de nanopartículas utilizando organismos

vivos, o primeiro utilizando microalgas e, ainda mais relevante, o primeiro a demonstrar que essa biossíntese deve ocorrer na natureza.

Os métodos de microscopia refinados foram úteis para confirmar a presença de MeNPs nas amostras. Esses métodos aplicados aqui foram relevantes não apenas para confirmar a presença das nanopartículas, mas também para caracterizá-las. Uma vez que as propriedades físicas e químicas das NPs e, conseqüentemente, sua reatividade, dependem fortemente de seu tamanho e forma (Castro *et al.*, 2013; Ferreira *et al.*, 2017), tal caracterização é relevante para se supor aspectos de sua interação com o meio e possíveis aplicações. O número de nanopartículas metálicas encontradas neste trabalho, foi pequeno e seu tamanho foi de ~4 nm. É conhecido que a composição e a disponibilidade de biomoléculas estabilizadoras podem determinar o tamanho do núcleo metálico (Martínez-Prieto *et al.*, 2015) e há alguns estudos que mostraram, de modo mais específico em relação à biossíntese, que as estruturas da maquinaria celular do organismo podem influenciar a forma e o tamanho das nanopartículas metálicas (Parial *et al.*, 2012; Moraes *et al.*, 2021).

A detecção de NPs em um ambiente antropizado, como o Córrego Criciúma, não permite sugerir se estas resultam de biossíntese no local ou se são contaminantes provenientes de produtos utilizados nas atividades agropecuárias. Essa possibilidade é reforçada pelo fato das NPs detectadas nesse local serem constituídas do elemento químico metálico Ba, também muito utilizado em atividades industriais (USEPA, 2005). Este elemento químico apresenta alto grau de toxicidade quando presente no meio ambiente (Cunha & Machado, 2004). Por outro lado, é provável que as NPs registradas nos ambientes prístinos resultem da biossíntese nos próprios locais de amostragem. Os parques naturais têm maiores chances de apresentar MeNPs produzidas por síntese verde, pois o solo não recebe produtos químicos para o cultivo de lavouras para alimentar o gado, porém essas partículas podem ser transportadas pela atmosfera, por isso não podemos afirmar com certeza sua origem.

5. Conclusão

Este estudo mostrou que nanopartículas metálicas podem ser sintetizadas por microalgas no ambiente, registrando assim, pela primeira vez na literatura científica, esse processo ocorrendo na natureza. As análises mostraram que nanopartículas metálicas compostas por 5 tipos de elementos químicos: Si, Fe, Al, Cr e Ba foram sintetizadas por microalgas dos gêneros *Bathrachospermum* sp., *Spyrogyra* sp. e *Mougeotia* sp. Entretanto há uma possibilidade remota de que essas nanopartículas tenham sido transportadas por meio da atmosfera até os locais de coleta. A composição química das NPs registradas nos locais de amostragem, nos permitiu sugerir que as espécies de microalgas presentes nos locais de coleta tenham afinidade por esses elementos químicos metálicos, ou que esses estejam mais disponíveis nesses ambientes, ou ainda, que essas microalgas tenham maior facilidade em converter esses metais para a sua forma zero.

Referências Bibliográficas:

Ago, H. (2015); CVD growth of high-quality single-layer graphene, in *Frontiers of Graphene and Carbon Nanotubes*, Ed. K. Matsumoto (Berlin: Springer), 3-20.

Ahmed, H. M., Roy, A., Wahab, M., Ahmed, M., Othman-Qadir, G., Elesawy, B. H., ... & Emran, T. B. (2021).; Applications of Nanomaterials in Agrifood and Pharmaceutical Industry. *Journal of Nanomaterials*, 2021.

Ahmed, S.; Ikram, S.; Silver nanoparticles: One pot green synthesis using *Terminalia arjuna* extract for biological application. *J. Nanosci. Nanotechnol.* 2015, 6, 1000309.

Akbarzadeh, H., Abbaspour, M., Mehrjouei, E., Kamrani, M.; Ag-Pd-Pt nanoparticles with different morphologies of cuboctahedron, icosahedron, decahedron, octahedron, and Marks-decahedron: Insights from atomistic simulations. *Inorg. Chem. Front.* 2018, 5, 870-878.

Altammar KA (2023); A review on nanoparticles: characteristics, synthesis, applications, and challenges. *Front. Microbiology.* 14:1155622.

Alzahrani, K.E., Niazy, A.A., Alswieleh, A.M., Wahab, R., El-Toni, A.M., Alghamdi, H.S.; Antibacterial activity of trimetal (Cu-Zn-Fe) oxide nanoparticles. *Int. J. Nanomedicine.* 2018, 13, 77.

Amendola, V., and Meneghetti, M. (2009); Laser ablation synthesis in solution and size manipulation of noble metal nanoparticles. *Phys. Chem. Phys.* 11, 3805-3821.

Amiens, C. D. Ciuculescu-Pradines, K. Philippot; Controlled metal nanostructures: fertile ground for coordination chemists, *Coord. Chem. Rev.* 308 (2016) 409-432.

Arokiyaraj, S., Vincent, S.; Saravanan, M., Lee, Y., Oh, Y.K., Kim, K.H.; Green synthesis of silver nanoparticles using *Rheum palmatum* root extract and their antibacterial activity against *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa*. *Artif. Cells Nanomed. Biotechnol.* 2016, 45, 372–379.

Astefanei, A., Núñez, O., and Galceran, M. T. (2015); Characterisation and determination of fullerenes: a critical review. *Anal. Chim. Acta* 882, 1–21.

Barhoum, A., Jeevanandam, J.; Rastogi, A.; Samyn, P., Boluk, Y.; Dufresne, A., Danquah, M.K., Bechelany, M.; Plant Celluloses, Hemicelluloses, Lignins, and Volatile Oils for the Synthesis of Nanoparticles and Nanostructured Materials. *Nanoscale* 2020, 12, 22845–22890.

Barsanti L, Coltelli P, Evangelista V, Frassanito AM, Passarelli V, Vesentini N, Gualtieri P; Oddities and curiosities in the algal world. In: Evangelista V, Barsanti L, Frassanito AM, Passarelli V, Gualtieri P, editors; *Algal toxins: nature, occurrence, effect and detection*. Dordrecht: Springer; 2008. p. 353-91.

Behrisch, R. (1981); *Sputtering by Particle Bombardment* Springer Verlag. Berlin Heidelberg: Springer.

Berkmans, A. J., Jagannatham, M., Priyanka, S., and Haridoss, P. (2014); Synthesis of branched, nano channeled, ultrafine and nano carbon tubes from PET wastes using the arc discharge method. *Waste Manag.* 34, 2139-2145.

Brady, B., Wang, P. H., Steenhoff, V., and Brolo, A. G. (2019); Nanostructuring solar cells using metallic nanoparticles, in *Metal Nanostructures for Photonics*, eds L. R. P. Kassab, and C. B. De Araujo (Amsterdam: Elsevier), 197-221.

Brennan L, Owende P.; Biofuels from microalgae - a review of technologies for production, processing, and extractions of biofuels and co-products. *Renew Sustain Energy Rev.* 2010; 14:557-77.

Borowitzka MA (2013); High-value products from microalgae their development and commercialisation. *J Appl Phycol* 25:743-756.

Bütof, L. N. Wiesemann, M. Herzberg, M. Altschner, A. Holleitner, F. Reith, D. H. Nies; Synergistic gold-copper detoxification at the core of gold biomineralisation in *Cupriavidus metallidurans*. *Metallomics*, 2018, 10, 278.

Baker, C. A. Pradhan, L. Pakstis, D.J. Pochan, S.I. Shah; Synthesis and antibacterial properties of silver nanoparticles, *J. Nanosci. Nanotechnol.* 5 (2005) 244-249.

Chen, J. C., and Tang, C.T. (2007); Preparation and application of granular ZnO/Al₂O₃ catalyst for the removal of hazardous trichloroethylene. *J. Hazardous Mater.* 142, 88-96.

Chronakis, I. S. (2010); Micro/nano-fibers by electrospinning technology: processing, properties and applications. *Micromanufact. Eng. Technol.* 2010, 264-286.

Compostella, F., Pitirollo, O., Silvestri, A., and Polito, L. (2017); Glyco-gold nanoparticles: synthesis and applications. *Beilstein J. Org. Chem.* 13, 1008-1021.

Corrêa, P.S., Morais Júnior, W.G., Martins, A.A., Caetano, N.S., Mata, T.M; Microalgae Biomolecules: Extraction, Separation and Purification Methods. *Processes* 2021, 9, 10. Pr. 9010010.

Das, S., and Srivasatava, V. C. (2016); Synthesis and characterization of ZnO-MgO nanocomposite by co-precipitation method. *Smart Sci.* 4, 190-195.

David J. Smith; Progress and problems for atomic-resolution electron microscopy, *Micron*, Volume 43, Issue 4, 2012, Pages 504-508, ISSN 0968-4328.

De la Fuente, J.M. V. Grazu; *Nanobiotechnology: Inorganic Nanoparticles Vs Organic Nanoparticles*, Elsevier, Amsterdam, 2012.

Disci-Zayed; Green synthesis of nanoparticles, Duygu (2015).

Dikusar, A., Globa, P., Belevskii, S., and Sidel'nikova, S. (2009); On limiting rate of dimensional electrodeposition at meso-and nanomaterial manufacturing by template synthesis. *Surf. Eng. Appl. Electrochem.* 45, 171-179.

Dreaden, E. C., Alkilany, A. M., Huang, X., Murphy, C. J., and El-Sayed, M. A. (2012); The golden age: gold nanoparticles for biomedicine. *Chem. Soc. Rev.* 41, 2740-2779.

Elliott, J. A., Shibuta, Y., Amara, H., Bichara, C., and Neyts, E. C. (2013); Atomistic modelling of CVD synthesis of carbon nanotubes and graphene. *Nanoscale* 5, 6662–6676.

Ermini, Maria Laura, Voliani, Valerio (2021-04-01); Antimicrobial Nano-Agents: The Copper Age. *ACS Nano.* 15 (4): 6008-6029.

Faraz Mohd, *Mater. Chem. Phys.* 211 (2018) 137-143.

Fayaz, A.M.; Balaji, K., Girilal, M., Yadav, R., Kalaichelvan, P.T., Venketesan, R.; Biogenic synthesis of silver nanoparticles and their synergistic effect with antibiotics: A study against gram-positive and gram-negative bacteria. *Nanomedicine* 2010, 6, 103-109.

Feng, Y., Zhang, J., Ye, H., Li, L., Wang, H., Li, X., Zhang, X., Li, H.; Ni-Cu-Co-O Nanocomposites, Morphology, Controlled Synthesis, and Catalytic Performance in the Hydrolysis of Ammonia Borane for Hydrogen Production. *Nanomaterials* 2019, 9, 1334.

Feynman, R.P.; There's plenty of room at the bottom. *Eng. Sci.* 1960; 23:22-36.

Fon Sing S., Isdepsky A, Borowitzka MA, Moheimani NR, (2013); Production of biofuels from microalgae. *Mitig Adapt Strateg Glob Chang* 18:47-72.

Ganesan, R., Narasimhalu, P., Joseph, A. I. J., and Pugazhendhi, A. (2020); Synthesis of silver nanoparticle from X-ray film and its application in production of biofuel from jatropha oil. *Int. J. Energy Res.* 2020, 1-11.

Ge, S., Zhang, Y.; Zhang, L.; Liang, L.; Liu, H.; Yan, M.; Huang, J.; Yu, J.; Ultrasensitive electrochemical cancer cells sensor based on trimetallic dendritic Au-Pt-Pd nanoparticles for signal amplification on lab-on-paper device. *Sens. Actuators B Chem.* 2015, 220, 665-672.

Gherbi, B., Laouini, S.E., Meneceur, S., Bouafia, A., Hemmami, H., Tedjani, M.L., Thiripuranathar, G., Barhoum, A., Mena, F.; Effect of pH Value on the Bandgap Energy and Particles Size for Biosynthesis of ZnO Nanoparticles: Efficiency for Photocatalytic Adsorption of Methyl Orange. *Sustainability* 2022, 14, 11300.

Giullietti, A. M., 1996; Flora: diversidade, distribuição geográfica e endemismos. In: G. W. Fernandes (ed.), Serra do Cipó: ecologia e evolução. Ed. Vozes, Rio de Janeiro.

Gorrasi, G., and Sorrentino, A. (2015); Mechanical milling as a technology to produce structural and functional bio-nanocomposites. *Green Chem.* 17, 2610-2625.

Guo, D., Xie, G., and Luo, J. (2013); Mechanical properties of nanoparticles: basics and applications. *J. Phys. D* 47:013001.

Gupta, R., Shipra & Singh,. (2016); Introduction to Nanotechnology.

Hamouda, R.A., Hussein, M.H., Abo-elmagd, R.A.; Synthesis and biological characterization of silver nanoparticles derived from the cyanobacterium *Oscillatoria limnetica*. *Sci Rep* 9, 13071 (2019).

Haider M, Hartel P, Müller H, Uhlemann S, Zach J.; Information transfer in a TEM corrected for spherical and chromatic aberration. *Microscopy Microanalysis*. 2010 Aug;16 (4): 393-408.

Heiligtag, Florian J., Niederberger, Markus (2013); The fascinating world of nanoparticle research. *Materials Today*. 16 (7–8): 262-271.

Horikoshi, S., Serpone, N.; *Microwaves in Nanoparticle Synthesis: Fundamentals and Applications*, Wiley-VCH, Weinheim, 2013.

Hoseini Chopani, S.M., Asadi, S., Heravi, M.M.; Application of bimetallic and trimetallic nanoparticles supported on graphene as novel heterogeneous catalysts in the reduction of nitroarenes, homo-coupling, Suzuki-Miyaura and Sonogashira reactions. *Curr.Org. Chem.* 2020, 24, 2216-2234.

Huston, M., DeBella, M., DiBella, M., Gupta, A.; Green Synthesis of Nanomaterials. *Nanomaterials* 2021, 11, 2130.

Isaacoff, B.P., Brown, K.A.; Progress in Top-Down Control of Bottom-Up Assembly. *Nano Lett.* 2017, 17, 6508-6510.

Jeevanandam, J. A. Barhoum, Y.S. Chan, A. Dufresne, M.K. Danquah; Review on nanoparticles and nanostructured materials: history, sources, toxicity and regulations, *Beilstein J. Nanotechnol.* 9 (2018) 1050-1074.

Jia Sen Tan, Sze Ying Lee, Kit Wayne Chew, Man Kee Lam, Jun Wei Lim, Shih-Hsin Ho & Pau Loke Show (2020); A review on microalgae cultivation and harvesting, and their biomass extraction processing using ionic liquids, *Bioengineered*, 11:1, 116-129.

Jamkhande, P. G., Ghule, N. W., Bamer, A. H., and Kalaskar, M. G. (2019); Metal nanoparticles synthesis: An overview on methods of preparation, advantages and disadvantages, and applications. *J. Drug Deliv. Sci. Technol.* 53, 101174.

Johansen MN (ed) (2011); *Microalgae: biotechnology, microbiology and energy*. Nova Science, USA.

John Van N. Door; Geological Survey Professional Paper - Regional Geology of the Quadrilatero Ferrifero, Minas Gerais, Brazil, 1969.

Joh, D.W., Jung, T. K., Lee, H. S., and Kim, D. H. (2013); Synthesis of nanoparticles using electrical explosion of Ni wire in Pt solution. *J. Nanoscience Nanotechnology* 13, 6092-6094.

Kalaiarasi R., Jayalakshmi N., Venkatachalam P.; *Phytosynthesis of nanoparticles and its applications*.

Plant Cell Biotechnol. Mol. Biol. 2010;11:1-16.

Kapooore R, Butler T, Pandhal J; Microwave assisted extraction for microalgae: from biofuels to biorefinery. *Biology (Basel)*. 2018; 7(1):18.

Kelly, K. Lance (21 de dezembro de 2002); *The Optical Properties of Metal Nanoparticles: The Influence of Size, Shape, and Dielectric Environment*. 107: 668-677.

Khan, F. U. Y. Chen, N.U. Khan, Z.U.H. Khan, A.U. Khan, A. Ahmad, K. Tahir, L. Wang, M.R. Khan, P. Wan; Antioxidant and catalytic applications of silver nanoparticles using *Dimocarpus longan* seed extract as a reducing and stabilizing agent, *J. Photochem. Photobiol. B* 164 (2016) 344-351.

Khan, I., Saeed, K., and Khan, I. (2019); *Nanoparticles: Properties, applications and toxicities*. *Arab. J. Chem.* 12, 908-931.

Khan, M.I., Shin, J.H. & Kim, J.D.; The promising future of microalgae: current status, challenges, and optimization of a sustainable and renewable industry for biofuels, feed, and other products. *Microbiology Cell Fact* 17, 36 (2018).

Kahn, M.L., Monge, M., Colli`ere, V., Senocq, F., Maisonnat, A., Chaudret, B.; Size-and-shape-control of crystalline zinc oxide nanoparticles: a new organometallic synthetic method, *Adv. Funct. Mater.* 15 (2005) 458-468.

Kisielowski, C. (2008); Detection of single atoms and buried defects in three dimensions by aberration-corrected electron microscopy with 0.5 Å information limit. *Microsc. Microanal.* 14. 454-462.

Kumar, S. S., Venkateswarlu, P., Rao, V. R., and Rao, G. N. (2013); Synthesis, characterization and optical properties of zinc oxide nanoparticles. *Int. Nano Lett.* 3, 1-6.

Kumar, M. P.; *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 6 (4), (2018), 39.

Kumar, S. A., Abyaneh, M. K, Gosavi, S.W., Kulkarni, S. K., Pasricha, R., Ahmad, A., Khan, M.I.; Nitrate reductase-mediated synthesis of silver nanoparticles from AgNO₃, *Biotechnol. Lett.* 29 (2007) 439-445.

Kumari, S. C., Dhand, V., and Padma, P. N. (2021); Green synthesis of metallic nanoparticles: a review. *Nanomaterials* 2021, 259-281.

Kolahalam, L. A, Kasi Viswanath, I. V., Diwakar, B.S, Govindh, B., Reddy, V., Murthy, Y.L.N.; Review on nanomaterials: Synthesis and applications. *Mater. Tod. Pro.*, 18 (2019), pp. 2182-2190.

Lee, S.H., Sung, J.H., Park, T.H.; Nanomaterial-based biosensor as an emerging tool for biomedical applications. *Ann. Biomed. Eng.* 2012, 40, 1384-1397.

Lee S.Y., Cho J.M., Chang Y.K.; Cell disruption and lipid extraction for microalgal biorefineries: A review. *Bioresour Technol.* 2017; 244:1317-1328.

Lerner, M. I., Glazkova, E. A., Lozhkomoev, A. S., Svarovskaya, N. V., Bakina, O. V., Pervikov, A. V. (2016); Synthesis of Al nanoparticles and Al/AlN composite nanoparticles by electrical explosion of aluminum wires in argon and nitrogen.; *Powder Technol.* 295, 307-314.

Li, S., Chang, Y., Wang, Y., Xu, Q., Ge, B.; A review of sample thickness effects on high-resolution transmission electron microscopy imaging, *Micron*, 130 (2020), Article 102813, 10.1016/J.MICRON.2019.102813.

Malatesta M.; Transmission Electron Microscopy as a Powerful Tool to Investigate the Interaction of Nanoparticles with Subcellular Structures. *Int. J. Mol. Sci.* 2021 Nov 26;22(23):12789.

Machado, M. M. M., 2009; Construindo a imagem geologica do Quadrilátero Ferrífero: conceitos e representações. Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, Brasil, p. 296.

Machac, P., Cichon, S., Lapcak, L., and Fekete, L. (2020); Graphene prepared by chemical vapour deposition process. *Graph. Technol.* 5, 9-17.

Madkour, L.H.; Introduction to Nanotechnology (NT) and Nanomaterials (NMs). *Adv. Struct. Mater.* 2019, 116, 1-47.

Malhotra, S. P. K., and Alghuthaymi, M. A. (2022); Biomolecule-assisted biogenic synthesis of metallic nanoparticles. *Agri-Waste Microb. Product. Sust. Nanomater.* 2022, 139-163.

Millstone, J. E., Hurst, S. J., Métraux, G. S., Cutler, J. I., Mirkin, C.A.; Colloidal gold and silver triangular nanoprisms. *Small* 2009, 5, 646-664.

Moraes, L.C., Figueiredo, R.C., Ribeiro-Andrade, R., Pontes-Silva, A.V., Arantes, M.L., Giani, A.; Figueiredo, C.C.; High diversity of microalgae as a tool for the synthesis of different silver nanoparticles: A species-specific green synthesis. *Colloid Interface Sci. Commun.* 2021, 42, 100420. nanoprisms. *Small* 2009, 5, 646-664.

Moraes, L.C.; Nanopartículas de oro y platino estabilizadas por tionas N-heterocíclicas y aplicaciones catalíticas. Tese (Doutorado em Química) – Universidade de Sevilla. Sevilla, 2018.

Mohanpuria, P. and Rana, N. K. and Yadav. S.K.; Biosynthesis of nanoparticles: technological concepts and future applications, *Journal of Nanoparticle Research*, vol. 10, no. 3, p. 507-517, 2008.

Morgan A.J.; X-ray microanalysis in electron microscopy for biologists. Oxford University Press; 1985.

Mubarak M., Shaija A., Suchithra T.; A review on the extraction of lipid from microalgae for biodiesel production. *Algal Res.* 2015; 7:117-123.

Ostermann, R., Cravillon, J., Weidmann, C., Wiebcke, M., and Smarsly, B. M. (2011); Metal-organic framework nanofibers via electrospinning. *Chem. Commun.* 47, 442-444.

Parashar, M., Shukla, V. K., and Singh, R. (2020); Metal oxides nanoparticles via *sol-gel* method: a review on synthesis, characterization and applications. *J. Mater. Sci.* 31, 3729-3749.

Patil, N., Bhaskar, R., Vyavhare, V., Dhadge, R., Khaire, V., and Patil, Y. (2021); Overview on methods of synthesis of nanoparticles. *Int. J. Curr. Pharm. Res.* 13, 11-16.

Pauli, J.N., Mendoza, J. E., Steffan, S. A., Carey, C. C., Weimer, P. J., Peery, M. Z., 2014; A syndrome of mutualism reinforces the lifestyle of a sloth. *Proc. Royal Soc. B* 281, 20133006.

Pérez-Tijerina, E., Pinilla, M. G., Mejía-Rosales, S., Ortiz-Méndez, U., Torres, A., and José-Yacamán, M. (2008); Highly size-controlled synthesis of Au/Pd nanoparticles by inert-gas condensation. *Faraday Discuss.* 138, 353-362.

Pimpin, A., and Srituravanich, W. (2012); Review on micro-and nanolithography techniques and their applications. *Eng. J.* 16, 37-56.

Posadas E., Alcántara C., García-Encina P.A.; Microalgae-based biofuels and bioproducts. In: Gonzalez-Fernandez C, Muñoz R, editors. *Microalgae cultivation in wastewater*. Woodhead Publishing; 2017. p. 67-91.

Rauwel, P., Siim Küünal, Stanislav Ferdov, Erwan Rauwel; A Review on the Green Synthesis of Silver Nanoparticles and Their Morphologies Studied via TEM, *Advances in Materials Science and Engineering*, vol. 2015, Article ID 682749, 9 pages, 2015.

Rad, A. G., Abbasi, H., and Afzali, M. H. (2011); Gold nanoparticles: synthesising, characterizing and reviewing novel application in recent years. *Phys. Proc.* 22, 203-208.

Raina, S. A. Roy, Bharadvaja, N.; Degradation of dyes using biologically synthesized silver and copper nanoparticles; *Environ. Nanotechnol. Monit. Manage.*, 13 (2020), Article 100278.

Randrianarison G., Ashraf M.A.; Microalgae: a potential plant for energy production. *Geol. Ecol. Landscapes.* 2017;1(2):104-120.

Ranjith Kumar R, Hanumantha Rao P, Arumugam M.; Lipid extraction methods from microalgae: a comprehensive review. *Front Energy Res.* 2015; 2-61.

Ribeiro K.T., Nascimento J.S., Madeira J.A., Ribeiro L.C., 2009; Aferição dos limites da Mata Atlântica na Serra do Cipó, MG, Brasil, visando maior compreensão e proteção de um mosaico vegetal fortemente ameaçado. *Natureza e Conservação* 7: 30-49.

- Rizzini, C. T., 1979; Tratado de fitogeografia do Brasil. Hucitec, Edusp, São Paulo, v. 2, 374p.
- S. Horikoshi, N. Serpone; *Microwaves in Nanoparticle Synthesis: Fundamentals and Applications*, Wiley-VCH, Weinheim, 2013.
- Samuelson D.A.; Energy dispersive Xray microanalysis. *Methods Mol Biol* 1998; 108:413-24.
- Scimeca M., Bischetti S., Lamsira H.K., Bonfiglio R, Bonanno E.; Energy Dispersive X-ray (EDX) microanalysis: A powerful tool in biomedical research and diagnosis. *Eur J Histochem*. 2018 Mar 15; 62(1):2841.
- Selmani N., Mirghani M.E., Alam M.Z.; Study the growth of microalgae in palm oil mill effluent waste water. In *IOP Conference series: earth and environmental science.*; Putrajaya, Malaysia: IOP Publishing; 2013.
- Shi, Z., Lian, Y., Liao, F. H., Zhou, X., Gu, Z., Zhang, Y., (2000); Large scale synthesis of single-wall carbon nanotubes by arc-discharge method. *J. Phys. Chem. Solids* 61, 1031-1036.
- Sigmund, W., Yuh, J., Park, H., Maneeratana, V., Pyrgiotakis, G., and Daga, A. (2006); Processing and structure relationships in electrospinning of ceramic fiber systems. *J. Am. Ceramic Soc.* 89, 395-407.
- Singh, R.G, Shipra M.; *Book Introduction to Nanotechnology* (2016).
- Siwach, O. P., and Sen, P. (2008); Synthesis and study of fluorescence properties of Cu nanoparticles. *J. Nanopart. Res.* 10, 107-114.
- Shenashen, M. A., El-Safty, S. A., and Elshehy, E. A. (2014); Synthesis, morphological control, and properties of silver nanoparticles in potential applications. *Part. Part. Syst. Char.* 31, 293-316.
- Su, S. S., and Chang, I. (2018); Review of production routes of nanomaterials, in *Commercialization of nanotechnologies—a case study approach*, eds D. Brabazon, E. Pellicer, F. Zivic, J. Sort, M. D. Baró, N. Grujovic, K.-L. Choy (Berlin: Springer), 15-29.
- Thakkar, K.N. and Mhatre, S.S. and Parikh. R.Y.; Biological synthesis of metallic nanoparticles, *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine*, vol. 6, no. 2, p. 257-262, 2010.
- Tang, M., Luo, S., Wang, K., Du, H., Sriphathoorat, R., Shen, P.; Simultaneous formation of trimetallic Pt-Ni-Cu excavated rhombic dodecahedrons with enhanced catalytic performance for the methanol oxidation reaction. *Nano Res.* 2018, 11, 4786-4795.
- Tobin, J.M., White, C., Gadd, G.M.; Metal accumulation by fungi: applications in environmental biotechnology, *J. Ind. Microbiology*. 13 (1994) 126-130.

Tran, V., and Wen, X. (2014); Rapid prototyping technologies for tissue regeneration, in Rapid prototyping of biomaterials, Ed. R. Narayan (Sawston: Woodhead Publishing), 97-155.

Vijayaraghavan, K. S. P., Nalini, K., Prakash, N.U. and D. Madhankumar; Biomimetic synthesis of silver nanoparticles by aqueous extract of *Syzygium aromaticum*, Mater. Lett., vol. 75, pp. 3335, 2012.

Yadav, T. P., Yadav, R. M., and Singh, D. P. (2012); Mechanical milling: a *top-down* approach for the synthesis of nanomaterials and nanocomposites. Nanoscience Nanotechnology 2, 22-48.

Zielinska, A., Carreiró, F., Oliveira, A. M., Neves, A., Pires, B., Venkatesh, D. N., (2020); Polymeric nanoparticles: production, characterization, toxicology and ecotoxicology. Molecules 25:3731.

Zhang X.F., Liu, Z.G., Shen, W., Gurunathan S.; Silver nanoparticles: synthesis, characterization, properties, applications and therapeutic approaches, Int. J. Mol. Sci. 17 (2016) 1534.

Zheng, Z., Zhang, X., Carbo, D., Clark, C., Nathan, C.-A., and Lvov, Y. (2010); Sonication-assisted synthesis of polyelectrolyte-coated curcumin nanoparticles. Langmuir 26, 7679-7681.

Zhuang, J., and Gentry, R. W. (2011); Environmental application and risks of nanotechnology: a balanced view, in Biotechnology and Nanotechnology Risk Assessment: Minding and Managing the Potential Threats around Us, eds S. Ripp and T. Henry (Washington, DC: ACS Publications), 41-67.