

A era digital e suas implicações sociais: Desafios e contribuições

OBTENÇÃO DE NANOPARTICULAS DE ÓXIDO DE FERRO POR FUNGOS FILAMENTOSOS ISOLADOS DE AMBIENTES AMAZÔNICOS

Lucas Soares de Sá, Patrícia de Almeida Nóbrega, Irlon Maciel Ferreira.

Universidade Federal do Amapá, Rodovia Josmar Chaves Pinto, km 02, Jardim Marco Zero - 68903
419 – Macapá – AP, Brasil, lucasa720@gmail.com, patriciabiotec21@gmail.com,
irlon.ferreira@gmail.com.

Resumo

Na busca por novas nanotecnologias diversas pesquisas estão sendo realizadas com o intuito de propiciar o desenvolvimento de nanomaterial que possa ser empregada nas diversas áreas, como medicinal, farmacológica, tratamento de água, entre outros. As Nanopartículas metálicas (NP) pode ser obtida por meio de diversos métodos físicos, biológicos e químicos. Entre os métodos de preparação de nanopartículas, destaca-se o método biológico, no qual as nanopartículas são obtidas por meio de um processo microbiológico que se destaca por usar microrganismos, facilitando e barateando o processo. Em vista disso, este trabalho se propôs a utilizar fungos de ambientes amazônicos da espécie *Talaromyces* sp para a biossíntese de nanopartículas de ferro. As partículas obtidas foram caracterizadas por espectroscopia de Ultravioleta-visível, onde se obteve um pico de absorção em 226 nm decorrente da ressonância plasmônica de superfície localizada. Desse modo, evidenciou-se a eficiência na capacidade da biossíntese de nanopartículas de ferro por meio do processo de biotransformação catalisada por fungos filamentosos.

Palavras-chave: Biossíntese. Nanopartículas de Ferro. Fungos Amazônicos. Método biológico

Área do Conhecimento: Ciências Exatas e da Terra

Introdução

A nanotecnologia representa um grande avanço científico com amplo alcance de funcionalidade e potencial de aplicação (MUKHERJEE et al., 2014). Nos últimos anos, o interesse em novos materiais com tamanhos cada vez menores atrai atenção de pesquisadores, visto as propriedades que oferecem para o desenvolvimento de novas tecnologias. Um ponto inicial para tal desenvolvimento são as nanopartículas metálicas (NPs), vistas como blocos de construção fundamentais da nanotecnologia (CAVALCANTE, 2014).

A nanotecnologia veio modificar a forma como os diversos tipos de materiais são utilizados. "Nano" refere-se a qualquer parâmetro quando é expresso como uma medida de 10⁻⁹ nm de unidades do sistema internacional. Segundo Collier et al. (2015), a nanotecnologia foi definida em um intervalo de tamanho arbitrário, que não leva em consideração a extraordinária variabilidade nas formas químicas e estruturais que os nanomateriais podem assumir. Por convenção, a faixa de tamanho mais comumente utilizada para referenciar os nanomateriais está compreendida entre 1 e 100 nm (BOVERHOF et al., 2015). Além do tamanho, essas propriedades únicas surgem como função de vários fatores de interação, incluindo composição química, forma e estrutura cristalina (HULL, 2019).

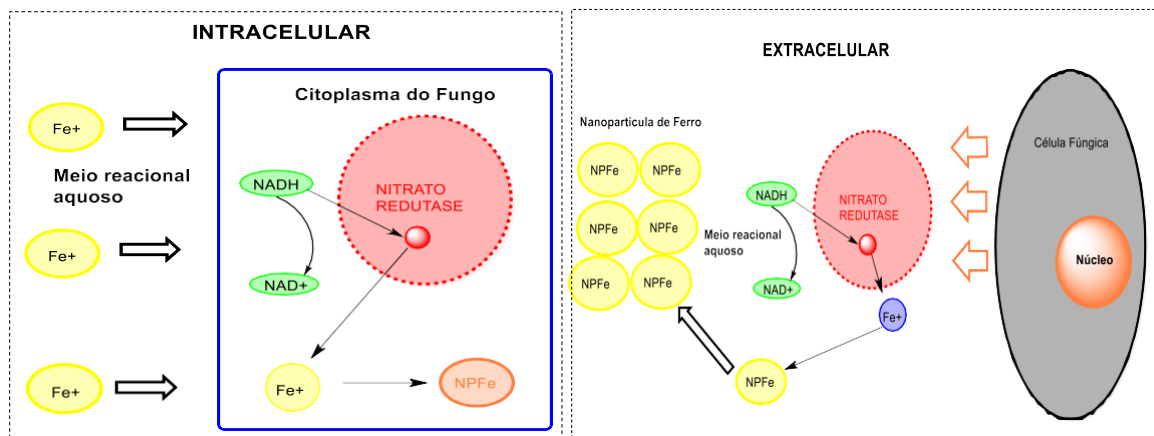
As nanopartículas metálicas podem ser produzidas por diferentes métodos, seja por métodos químicos, físicos e biológicos. Os métodos físicos e químicos possuem um alto custo e na maioria das vezes são danosos ao meio ambiente, pois utilizam reagentes tóxicos. Por isso, é importante a utilização de métodos atóxicos e mais baratos. A síntese biológica costuma ser mais eficiente quanto a obtenção de NP's mais estáveis, devido aos metabólitos primários e secundários produzidos pelos organismos que estão presentes no meio reacional (WEY et al., 2015). Visando essas vantagens, na última década muitos estudos têm utilizado uma abordagem biológica para a obtenção de NPs metálicas.

A síntese biológica ou então chamada "síntese verde" consiste na síntese de nanopartículas a partir de um outro microrganismo biológico, podendo este ser uma planta, bactéria ou um fungo, o qual pode produzir as NP's de duas formas, a extracelular, que consiste na redução do material orgânico fora das

A era digital e suas implicações sociais: Desafios e contribuições

células por meio de enzimas como a nitrato redutase (figura 1) ou com o transporte de elétrons por quinonas, e a intracelular (figura 1), na qual esse material é reduzindo dentro da própria célula do microrganismo produtor (LATHA et al., 2015).

Figura 1 - Esquema de síntese das nanopartículas intracelular e extracelular.



Fonte: Autores (2023)

Os métodos biológicos utilizam microrganismos, extratos de plantas, vitaminas, na síntese de NP's e estão dentro do que preconiza a Química Verde, pois eliminam o uso de substâncias nocivas. O avanço da "síntese verde" de NP's está a progredir como um ramo chave da nanotecnologia, onde o uso de bactérias, fungos e extratos vegetais para a produção de nanopartículas pode ser uma alternativa aos métodos químicos e físicos (BORRALHO, 2017).

Nos últimos anos, o número de trabalhos, envolvendo células de microrganismos como fungos, bactérias e algas, empregados para obtenção de nanopartículas metálicas, está aumentando gradativamente, devido à sua facilidade de manuseio, baixo custo de manutenção, baixa geração de resíduo, eficiência no processo e não requerem agentes estabilizadores (FERNÁNDEZ et al., 2016; BOROUMAND MOGHADDAM et al., 2015; CHAN et al., 2013).

O solo amazônico demonstra um grande potencial para o isolamento de novas espécies de fungos, uma vez que existe uma maior deposição de resíduos orgânicos na camada mais superficial do solo, o que facilita o processo de coleta. Estes resíduos orgânicos na presença de umidade constante oferecem o substrato ideal para a proliferação de microrganismos de decomposição, como bactérias e fungos. Existe uma grande falta de informação sobre a microbiota amazônica, o que implica na potencialidade farmacológica e biotecnológica que vem sendo desperdiçada, uma vez que a Floresta Amazônica é o ecossistema mais biodiverso do mundo (HARGREAVES et al., 2008).

Dessa forma, torna-se interessantes a utilização de fungos da espécie *Talaromyces* sp (isolado de um solo de mineradora, localizada na cidade de Mazagão, Estado do Amapá) para obtenção de FeNPs, como propósito de estímulo e valorização ao desenvolvimento de pesquisas nas regiões amazônicas, potencializando o desenvolvimento de biotecnologias sustentável e consequentemente preservando a biodiversidade brasileira, que nos últimos anos vem sendo afetada pelas constates ameaças promovidas pelo aumento da exploração ilegal de madeira, queimadas, garimpo ilegal, entre outras coisas.

Metodologia

Para a obtenção das nanopartículas de ferro por meio do método biológico, utilizou-se o fungo da espécie *Talaromyces* sp, isolado de ambiente amazônico, localizado no Estado do Amapá. A metodologia adotada possui algumas etapas, sendo elas: Cultivo do fungo em meio sólido, Cultivo no meio líquido e biossíntese das FeNPs pelo método de agitação convencional e autoclave.

Foi realizado o cultivo do fungo em meio sólido utilizando com algumas modificações a metodologia proposta por Ferreira et al. (2016), onde 4,0 g de extrato de malte e 4,0 g Potato Dextrose Agar foram solubilizados em 200 mL de água destilada. Em seguida, o pH foi ajustado para 5,0, utilizando-se uma solução de KOH ou HCl a 1M e o meio líquido resultante foi autoclavado por cerca de 20 min à 120 °C.

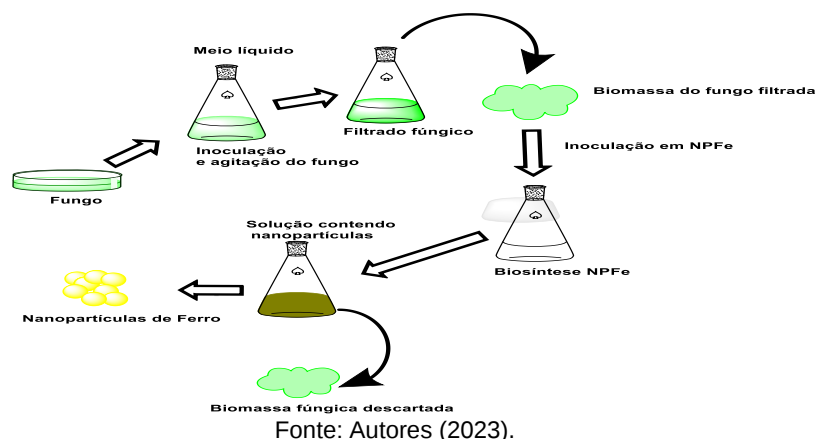
A era digital e suas implicações sociais: Desafios e contribuições

A solução obtida foi vertida em placa de Petri e após a solidificação do meio foi realizado o repique dos fungos através de uma agulha de inoculação. Por fim, as placas permaneceram em incubadora B.O.D. por 7 dias à temperatura de 32°C, para permitir o melhor crescimento dos fungos.

Para a inoculação do fungo em meio líquido foi realizada em ambiente estéril, com a transferência de 4 fragmentos circulares do meio sólido (0,5 cm de diâmetro) contendo micélios da cultura estoque. O crescimento microbiano foi realizado com 100 mL de meio de cultura, contendo extrato de malte a 2% e água destilada em um frasco Erlenmeyer (250 mL) fechado com tampão de algodão. O pH da solução foi ajustado para 5,0 com solução de KOH 1,0 M ou HCl 1,0 M. O frasco permaneceu em agitação rotativa por 10 dias (28± 2°C, 130 rpm). Após esse período, os micélios fúngicos foram filtrados a vácuo, com auxílio de papel de filtro Whatman nº 1, e lavados 3 vezes com água destilada autoclavada.

Para a biossíntese das nanopartículas de ferro utilizou-se o método por agitação convencional (figura 2) descrito por Gaikwad et al. (2013), com algumas modificações. Os micélios dos isolados, crescidos em meio líquido, foram transferidos, dentro de ambiente estéril, para frascos Erlenmeyer (250 mL) contendo 100 mL de solução tampão fosfato e 1 mL de Fe(NO₃)₃.H₂O na concentração de 0,01 mol/L, a massa fúngica úmida transferida para cada frasco foi de 2,0 g. Os frascos permaneceram em agitação orbital, dentro de incubadora shaker (Luca-222, Lucadema) com temperatura controlada (32°C) e ao abrigo da luz.

Figura 2 - Esquema de biossíntese das FeNPs.



Na biossíntese de NPs pelo método da autoclave os micélios dos isolados, crescidos em meio líquido, foram transferidos, dentro de ambiente estéril, para frascos Erlenmeyer (150 mL) contendo 100 mL de solução tampão fosfato e 1 mL de Fe(NO₃)₃.H₂O na concentração de 0,01 (mol. L⁻¹), a massa fúngica úmida transferida para cada frasco foi de 2,0 g. Os frascos foram transferidos para dentro da autoclave vertical (Phornix), colocado em temperatura de 120 °C por 20 min.

Para a análise espectroscopia no UV-visível, a solução de FeNPs, oriunda da agitação orbital e da autoclave com micélios, foi centrifugada a 4500 rpm por 20 min em centrífuga (edutec). Após esse processo, o sobrenadante foi parcialmente descartado, até que sobrassem 3 mL do mesmo. Em seguida foi adicionado 5 mL de água e o precipitado foi ressuspenso na solução por meio do Vórtex Mixer por cerca de 15 min, e com a solução resultante foi dado prosseguimento a caracterização. A formação de FeNPs foi confirmada pela presença da banda de ressonância plasmônica, analisada por espectrofotômetro UV-vis (Thermo Scientific, Genesys 10 uv) em resolução de 1nm e intervalo de onda de 200-600nm.

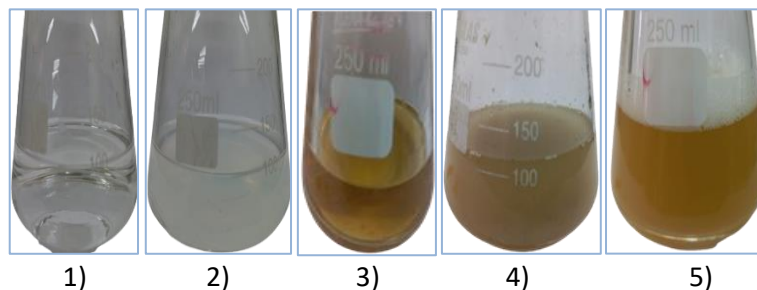
Resultados

Das amostras de nanopartícula de ferro (FeNP) tanto pelo método de agitação convencional como também por autoclave foi observado diferenças nas colorações das soluções obtida na biossíntese, que alterou sua cor de incolor para uma coloração marrom no período de 10 dias (figura 3), o surgimento

A era digital e suas implicações sociais: Desafios e contribuições

desta coloração, é indicativo da presença da banda RPSL que foi confirmada pela banda de absorção no espectro de UV-visível.

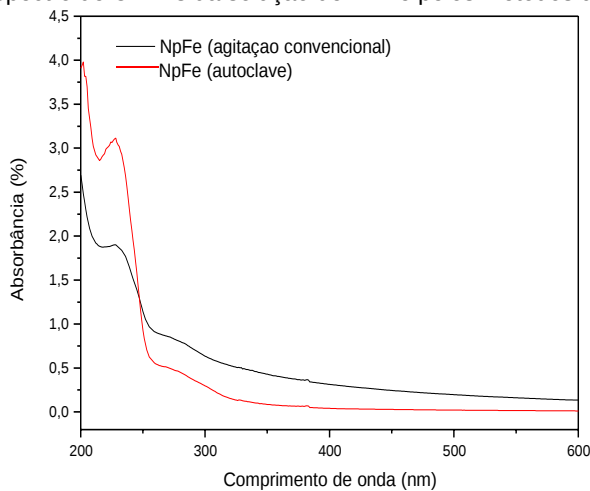
Figura 3 - Solução das NPFe. 1) Solução tampão fosfato. 2) Controle Tampão fosfato + $\text{Fe}(\text{NO}_3)_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$. 3) Controle meio líquido. 4) Solução NPFe agitação convencional. 5) Solução NPFe da autoclave.



Fonte: Autores (2023)

Os resultados provenientes das análises espectroscópicas em UV-Visível das amostras da biossíntese das nanopartículas de ferro demonstraram a presença da banda de ressonância plasmônica com o pico de absorção máximo de 226 nm para os métodos de agitação convencional e autoclave no espectro de UV-visível no intervalo de onda de 200-600nm como apresentado na figura 4 a seguir.

Figura 4 - Espectro de UV-Vis da solução de NPFe pelos métodos utilizados.



Fonte: Autores (2023)

Discussão

A síntese de nanopartículas é um processo complexo e multidisciplinar que envolve a criação de materiais na escala nanométrica, ou seja, em tamanhos que variam de 1 a 100 nanômetros. Esses materiais possuem propriedades únicas devido ao seu tamanho diminuto, o que os torna valiosos em uma ampla gama de aplicações, como por exemplo na medicina eletrônica e a indústria. A síntese de nanopartículas por processos biológicos, também conhecida como biossíntese de nanopartículas, é uma abordagem interessante que utiliza organismos vivos, como bactérias, fungos e plantas, para produzir nanopartículas. Esse método ganhou destaque devido à sua natureza sustentável e à capacidade de produzir nanopartículas com propriedades únicas e controladas.

Os espectros de absorção UV-Vis de nanopartículas podem fornecer informações valiosas sobre sua estrutura eletrônica e propriedades ópticas. No entanto, a posição exata e a intensidade das bandas de absorção podem diferir significativamente, dependendo do tamanho da nanopartícula e do ambiente circundante. Os resultados demonstraram a formação de nanopartículas de ferro proveniente da

A era digital e suas implicações sociais: Desafios e contribuições

biossíntese por fungos filamentosos oriundos da região amazônica. As análises de espectroscópicas em UV-Visível medidas com varreduras em um comprimento de onda entre 200-600nm para as nanopartículas de ferro biosintetizada microbianamente através da agitação convencional e por autoclave apresentaram uma banda de absorção máxima de 226 nm. Esse pico de absorção obtido se assemelha à resultados relatados em estudos presentes na literatura que mostra um pico da banda de absorvância em 238 nm e outro pico em 265 nm no espectro ultravioleta-visível (Mohamed, YM, et al., 2014; Devatha et al., 2016). Outro fator observado foi a mudança na coloração da solução atingida após o período de biossíntese, o qual apresentou cor marrom, evidenciado como primeiro indicador da síntese de nanopartículas de ferro (Patra et al., 2017).

Conclusão

A pesquisa sobre nanopartículas evoluídas a partir de fungos filamentos da Amazônia tem contribuído para avanços na área de nanotecnologia e sustentabilidade. Essas nanopartículas possuem propriedades únicas que podem ser aplicadas em diversas áreas, como medicina, purificação de água e materiais magnéticos. Além disso, a produção dessas nanopartículas de fontes naturais como os fungos filamentos da Amazônia pode ser uma abordagem mais ecológica, minimizando o impacto ambiental.

As amostras da solução de FeNPs obtidas através de processo biológico, utilizando fungo amazônico da espécie *Talaromyces* sp apresentou uma enorme eficiência na capacidade de biossíntese de nanopartículas de ferro (FeNPs) tanto pelo método convencional de agitação e principalmente por meio do método de síntese na autoclave, tendo sido evidenciado na banda de absorção medidas. Vale ressaltar que o método de obtenção das FeNPs por meio da autoclave pode-se considerar “inovador”, pois até o presente estudo ainda não há registro na literatura científica de estudo relacionado as FeNPs através desse microrganismo.

Referências

BOVERHOF DR, Bramante CM, Butala JH, Clancy SF, Lafranconi M, Oeste J, Gordon SC. Comparative assessment of nanomaterial definitions and safety evaluation considerations. Regul Toxicol Pharmacol, 2015, 73(1): 137-150.

BORRALHO, Teresa da Silva et al. As aplicações da prata na nanotecnologia farmacêutica. 2017. Dissertação (Mestrado). Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias. 2016.

BOROUHAND MOGHADDAM, A., NAMVAR, F., MONIRI, M., MD. TAHIR, P., AZIZI, S., & MOHAMAD, R. Nanoparticles Biosynthesized by Fungi and Yeast: A Review of Their Preparation, Properties, and Medical Applications. Molecules, 20(9), 16540, 2015. CHAN, S. Y; DON, M. M.; Biosynthesis and structural characterization of Ag nanoparticles from white rot fungi. Materials Science and Engineering: C, v. 33, n. 1, p. 282-288, 2013.

CAVALCANTE, Noelly Bastos. Atividade antibacteriana e antifúngica de nanopartículas de prata produzidas por *curvularia inaequalis* (Shear) Boedijn. 2014. 79 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Recursos Naturais, Universidade Federal do Vale de São Francisco, Petrolina, 2014.

COLLIER Z, Kennedy A, Poda, A, Cuddy M, Moser R, MacCuspie R, Steevens J. Tiered guidance for risk-informed environmental health and safety testing of nanotechnologies. J Nano Res, 2015, 17:155.

CHAN, S. Y; DON, M. M.; Biosynthesis and structural characterization of Ag nanoparticles from white rot fungi. Materials Science and Engineering: C, v. 33, n. 1, p. 282-288, 2013.

DEVATHA, CP; THALLA, Arun Kumar; KATTE, Shweta Y. Síntese verde de nanopartículas de ferro usando diferentes extratos de folhas para tratamento de águas residuais domésticas. Jornal de produção mais limpa, v. 139, p. 1425-1435, 2016.

A era digital e suas implicações sociais: Desafios e contribuições

FERREIRA, L.F.R. Biodegradação de vinhaça proveniente do processo industrial de cana-de-açúcar por fungos. 2009. 135 p. Tese (Doutorado em Agronomia) -Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2009.

FERNÁNDEZ, J. G., FERNANDEZ-BALDO, M. A., BERNI, E.; Production of silver nanoparticles using yeasts and evaluation of their antifungal activity against phytopathogenic fungi. *Process Biochemistry*, v. 51, n. 9, p. 1306-1313, 2016.

GAIKWAD, S. C.; BIRLA, S. S.; INGLE, A. P.; ANIKET, K.; GADE, P. D.; MARCATO, M. R.; DURAN, N. Screening of different *Fusarium* species to select potential species for the synthesis of silver nanoparticles. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, v. 24, n. 12, p. 1974-1982, 2013.

HARGREAVES, P. I.; PEREIRA JR, N. Bioprospecção de novas celulases de fungos provenientes da floresta amazônica e otimização de sua produção sobre celulignina de bagaço de cana. 2008. 88 f. Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2008.

HULL, M. S. Multidimensional Impacts of Nanotechnology on Public Health. *Management of Emerging Public Health Issues and Risks*, 2019, 65–85.

LATHA, M. et al. Biocatalytic and antibacterial visualization of green synthesized silver nanoparticles using *Hemidesmus indicus*. *Microbial Pathogenesis*, v. 82, n. March, p. 43–49, 2015.

MOHAMED, Y. M. et al. Mycosynthesis of iron nanoparticles by *Alternaria alternata* and its antibacterial activity. *African Journal of Biotechnology*, v. 14, n. 14, p. 1234-1241, 2015.

MUKHERJEE, B., DEY, N. S., MAJI, R., BHOWMIK, P., DAS, P. J., & PAUL, P. Current Status and Future Scope for Nanomaterials in Drug Delivery. *Application of Nanotechnology in Drug Delivery*.doi:10.5772/58450, 2014.

NOGUEIRA, A. V.; SILVA FILHO, G. N. *Microbiologia*. 1ª Edição Revisada. Florianópolis, 2015. ISBN 978-85-61485-26-9. Disponível em: <https://uab.ufsc.br/biologia/files/2020/08/Microbiologia.pdf> Acesso em: 30 de novembro de 2023.

Patra J.K & Baek K-H. 2017. Green biosynthesis of magnetic iron oxide (Fe₃O₄) nanoparticles using the aqueous extracts of food processing wastes under photo catalyzed condition and investigation of their antimicrobial and antioxidant activity. *Journal of Photochemistry & Photobiology, B: Biology*. 173: 291-300.

WEI, L.; LU, J.; XU, H.; PATEL, A.; ZHE-SHENG, C.; GUOFANG, C. Silver nanoparticles: synthesis, properties, and therapeutic applications. *Drug Discovery Today*, v. 20, n. 5, p. 595-601, 2015.

Agradecimentos

O presente trabalho foi realizado com apoio do Programa Institucional de Bolsas de Iniciação em Desenvolvimento Tecnológico e Inovação (PIBITI) vinculado ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal. Além disso, agradecer apoio aos professores e membros do laboratório de Biocatálise e Síntese Orgânica aplicada da Universidade Federal do Amapá (BIORG/UNIFAP) e ao Laboratório de controle de qualidade, bromatologia e microbiologia (LCQBM/UNIFAP) pela disponibilidade para realização das análises.