

Nanopartículas verdes

Plantas do cerrado são usadas na produção de nanossistemas para controle de patógenos e pragas da agricultura, entre outras aplicações

Dinorah Ereno



Casca, sementes, polpas e folhas de árvores e plantas do cerrado brasileiro – como pequi, cajuzinho-do-cerrado, mangabeira, sucupira, bureré e outras –, além de várias espécies de cogumelos, são as matérias-primas escolhidas por pesquisadores da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia (Cenargen), sediada em Brasília, para a obtenção de nanopartículas com potencial de utilização em biossensores para detecção de vírus em plantas, controle de larvas de insetos, microrganismos, células tumorais e outras aplicações. “Investigamos várias espécies e recursos biológicos para encontrar os mais apropriados para realizar o processo de biorredução, visando à produção de nanopartículas metálicas”, relata Luciano Paulino da Silva, coordenador do grupo de nanobiotecnologia da Embrapa Cenargen. A biorredução é um processo biológico mediado por moléculas como enzimas, proteínas, aminoácidos, polissacarídeos e metabólitos encontrados nos extratos de cascas, sementes e folhas, por exemplo, que transforma o íon de prata

(quando há ganho de elétrons) em prata metálica, resultando na formação de nanopartículas. Uma grande vantagem do método de síntese biológico em vez do químico tradicional é que parte das moléculas ativas também adere à superfície dessas nanopartículas, o que lhes confere características diferenciadas como atividade antibacteriana, antiviral ou antialérgica dependendo do vegetal ou cogumelo utilizado. “Esse método de síntese de nanopartículas é chamado de nanotecnologia verde.”

O extrato aquoso da casca da castanha do cajuzinho-do-cerrado (*Anacardium othonianum*), uma planta arbustiva, foi o meio escolhido pela pesquisadora e estudante de doutorado Cíntia Caetano Bonatto, da Universidade de Brasília (UnB), para estudar uma rota de síntese alternativa aos solventes nocivos ao ambiente, como o hidróxido de sódio, utilizados no método tradicional. Durante a pesquisa feita em seu doutorado, orientado por Luciano Silva, da Embrapa Cenargen, ela verificou que, durante o processo de síntese, temperaturas mais elevadas aceleram o crescimento, modulam o ta-

manho e aumentam a condutividade elétrica das nanopartículas, que mostraram em testes ter propriedades antifúngicas. “As partículas apresentam propriedades ópticas, estruturais, biológicas e elétricas controladas pela temperatura a que o meio reacional é submetido durante a síntese”, diz Luciano Silva. Os resultados foram publicados na revista *Industrial Crops and Products*, em julho deste ano.

A mesma estratégia de utilizar temperaturas maiores no processo de síntese foi utilizada em outra pesquisa feita por Cíntia, com folhas do pequi (*Caryocar brasiliense*). “O extrato aquoso de pequi tem, em relação a outras plantas testadas em laboratório, um grande potencial biorredutor”, diz a pesquisadora. Após a síntese e caracterização, incluindo a avaliação das propriedades estruturais – pelo tamanho e forma – do nanomaterial obtido, os pesquisadores conseguem saber quais as melhores aplicações para as nanopartículas. “Na área agrícola, por exemplo, podemos desenvolver nanossistemas para controle de patógenos e pragas, incluindo bactérias, fungos e larvas de insetos”, diz Luciano



1

2



Folhas de pequi (alto à esq.), casca do cajuzinho-do-cerrado (acima) e frutos da mangabeira são as matérias-primas usadas na síntese biológica



3

FOTOS 1 E 3: FÁBIO COLOMBINI 2: CÍNTIA BONATTO

Silva. “As estratégias de uso serão avaliadas de acordo com a necessidade de aplicação.” Para capturar pragas como besouros ou cigarrinhas, por exemplo, os nanossistemas poderão ser colocados dentro de armadilhas no campo. No caso de fungos que atacam folhas, a aplicação das nanopartículas pode ser feita por pulverização ou, se o ataque for na raiz, diretamente no solo ou no tecido vegetal.

TESTES EM LABORATÓRIO

No caso da pesquisa com folhas de pequi, ensaios em laboratório estão sendo feitos para avaliar o seu potencial biotecnológico. “Testamos a possível citotoxicidade das nanopartículas em bactérias, fungos, células normais e cancerígenas de mamíferos *in vitro*, em nematoides para controle de pragas e agora iniciamos os testes em culturas de plantas em laboratório para avaliar o potencial efeito tóxico se forem utilizadas no campo”, relata Cíntia. Ela ressalta que visualmente não foram observadas mudanças nas plantas saudáveis tratadas com nanopartículas de pequi em comparação com as plantas-controle, sem tratamento. Como elas são cultivadas em

laboratório, dentro de recipientes, a aplicação é feita diretamente no meio de cultivo líquido. O próximo passo da pesquisa consiste em uma análise morfológica e bioquímica das plantas, que engloba avaliação de células e do metabolismo, para saber se elas sofreram algum efeito tóxico.

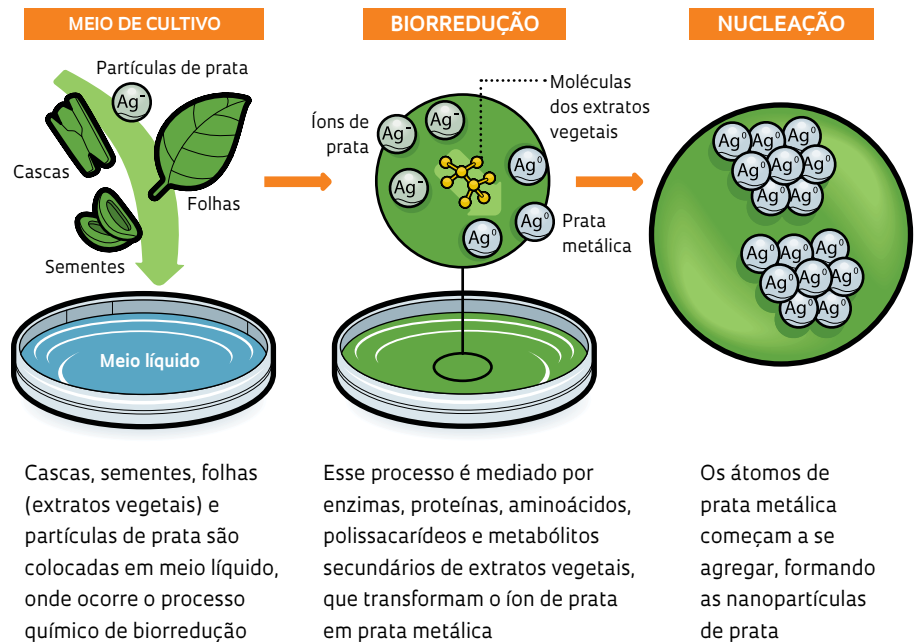
Algumas partículas apresentam uma particularidade que as faz especiais, segundo Luciano Silva, porque possuem uma diferença no sinal denominado ressonância plasmônica de superfície. “Como são partículas nanoestruturadas, elas acabam ganhando novas propriedades ópticas e uma delas é a absorção da luz pela prata metálica em um comprimento de onda que o metal, na sua forma iônica, não absorvia anteriormente.” Essa diferença confere a elas a propriedade de amplificação do sinal óptico nos sistemas em que são utilizadas, tornando-os mais sensíveis. “Com base nessa característica singular, estamos trabalhando no desenvolvimento de nanobiossensores para detecção de hormônios de crescimento e de células tumorais, além de vírus em plantas.”

Outra linha de pesquisa conduzida no laboratório é o uso de nanopartículas em superfícies como plástico ou vidro. Nesse caso, o estudo desenvolvido por Luciane Dias da Silva, mestrandia orientada por Luciano Silva, tem como foco a síntese de nanopartículas de prata a partir de extratos de frutos e folhas da mangabeira (*Hancornia speciosa*) para aplicação em superfícies plásticas como o poli (tereftalato de etileno), o conhecido PET. O objetivo é a busca de um método alternativo para controle de larvas do mosquito

Micélios (*coloridos no computador*), fase vegetativa de cogumelos, produzidos em meio de cultivo controlado

Síntese biológica

Extratos de plantas transformam prata em nanopartículas metálicas



FONTE LUCIANO SILVA / EMBRAPA CENARGEN

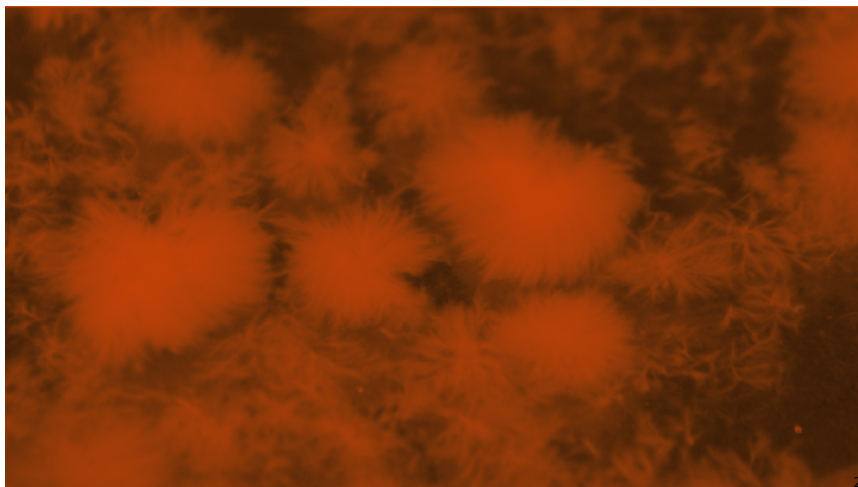
Aedes aegypti, transmissor da dengue. Esse controle seria feito não por meio de captura, mas pela toxicidade das nanopartículas às larvas depositadas no PET. As possibilidades de aplicação do método contemplam o uso de partículas em suspensão em meio líquido ou a imobilização e adesão de parte das partículas na superfície plástica, que ocorrem durante o processo de síntese. Os extratos dos frutos da mangabeira foram obtidos a partir da casca, da polpa e da semente, separadamente. “As nanopartículas obtidas do sal de prata juntamente com

seus respectivos extratos estão na fase final de caracterização e alguns ensaios biológicos já foram realizados”, relata Luciane. A próxima etapa será a utilização de tubos plásticos que dão origem às garrafas, chamados preformas PET, para imobilização e adesão das nanopartículas.

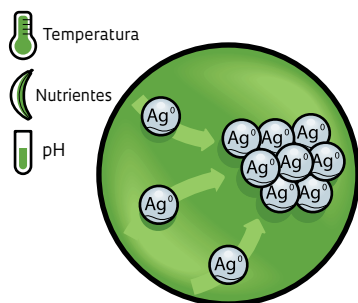
COMPOSTOS BIOATIVOS

Além de plantas do cerrado, várias espécies de macrofungos (cogumelos) também estão sendo estudadas pelo grupo. “Os cogumelos são fontes de compostos bioativos que apresentam diversas atividades biológicas, como ação antitumoral, antiviral, antimicrobiana, anti-inflamatória, antioxidante, entre outras”, diz a pesquisadora Vera Lúcia Perussi Polez, que trabalha com espécies provenientes do Banco de Cogumelos da Embrapa Cenargen. “Por isso decidimos utilizar esse material como fonte tanto para reduzir os metais quanto para estabilizar as nanopartículas.” A fonte biológica para a síntese de nanopartículas de prata pode ser tanto o corpo frutífero, o chamado chapéu, como o micélio, que é a fase vegetativa do fungo.

A escolha da pesquisadora recaiu sobre o micélio, porque, na sua avaliação, ele apresenta vantagens em relação ao corpo frutífero, como o crescimento mais

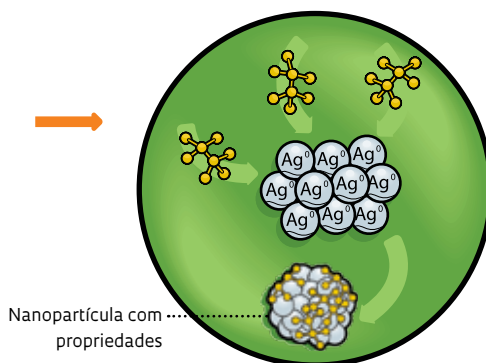


CRESCIMENTO DAS NANOPARTÍCULAS



Outros íons metálicos são biorreduzidos e novos átomos de prata metálica agregam-se ao núcleo da nanopartícula formada, etapa que pode ser controlada por temperatura, pH e concentração dos reagentes

ATIVIDADE BIOLÓGICA



Parte das moléculas do extrato vegetal adere à superfície das nanopartículas, o que lhes confere características como atividade antibacteriana, antifúngica, antiviral ou antioxidante

rápido. “Além disso, a produção dos componentes químicos presentes no micélio é mais homogênea, porque trabalhamos em condições controladas no meio de cultivo líquido, como nutrientes, pH, temperatura, oxigenação, entre outras. Com isso conseguimos manter a reprodutibilidade desse material biológico”, diz. A quantidade de compostos químicos presentes nesses organismos depende de fatores como a espécie e seleção de linhagens, a fase de desenvolvimento – corpo frutífero ou micélio – e o tipo de substrato utilizado.

A pesquisa para obtenção de nanopartículas dos cogumelos começou há dois anos. “Fizemos um desenho experimental de maneira a manter o material biológico reprodutível na forma mais homogênea possível”, relata Vera. Após aperfeiçoar as condições de crescimento dos micélios, de síntese de nanopartículas e suas caracterizações físicas, químicas e estruturais, a pesquisa entrará agora na fase de caracterização das atividades biológicas das nanopartículas. O cuidado se explica pelo grande potencial de aplicação farmacêutica, medicinal, agrícola e industrial dos compostos presentes nos cogumelos. Entre os compostos bioativos estão as beta-glucanas, carboidratos complexos com propriedades imunorreguladoras e

Até o substrato utilizado interfere na quantidade de compostos químicos presentes nos cogumelos

antitumorais, as lectinas, proteínas com propriedades antitumorais e de imunorregulação, os triterpenos, substâncias com ação anti-hipertensiva, antiviral, antitumoral e antialérgica, os fenólicos, compostos com atividade antiplaquetária, antioxidante e anti-inflamatória, além de outros com ação antimicrobiana.

Além de pesquisadores da Embrapa e alunos de iniciação científica, mestrado e doutorado, o grupo conta com a colaboração de pesquisadores de outras institui-

ções, como o professor Elmo Salomão Alves, do Departamento de Física da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG). “É o grupo liderado pelo professor Elmo que desenvolve as superfícies contendo grafenos [forma cristalina do carbono], nas quais são incorporadas as moléculas de reconhecimento, como anticorpos e ligantes de receptores, e depositadas nas nanopartículas de prata para a produção de nanobiossensores”, diz Luciano Silva. Outros parceiros nas pesquisas são os professores Eduardo Fernandes Barbosa, da Universidade Federal da Bahia (UFBA), especialista em enzimologia, e Alessandro Galdino, da Universidade Federal de São João Del-Rei (UFSJ), especialista em genética molecular de microrganismos.

“Estamos trabalhando no desenvolvimento de superfícies nanoestruturadas para a imobilização de enzimas que podem ser aplicadas na indústria para a obtenção de hidrolisados alimentícios a partir de macromoléculas como proteínas e carboidratos, processo chamado de catálise enzimática”, diz Luciano Silva. Segundo ele, essas enzimas não são ainda aplicadas em larga escala em função do alto custo operacional para a sua utilização. “Com o processo de imobilização, esse custo ficaria bem menor”, explica.

Um outro modelo de síntese biológica que tem sido testado com bons resultados são as partículas poliméricas estruturadas a partir da quitosana, substância encontrada na carapaça de crustáceos, para o transporte tanto de macromoléculas como de metabólitos secundários visando aplicações na biomedicina e na agropecuária. “Uma das moléculas que transportamos nesse sistema polimérico é a melitina, aminoácido extraído do veneno de abelha, com atividade antibacteriana, antifúngica e anticancerígena”, diz Luciano Silva. No modelo testado pela aluna de doutorado Kelliane Almeida de Medeiros, foram investigados *in vitro* os efeitos de partículas poliméricas contendo melitina sobre células tumorais de câncer de mama. Atualmente estão sendo realizados os primeiros testes em camundongos com resultados promissores. ■

Artigo científico

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