



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAPÁ
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS EXATAS E TECNOLÓGICAS
CURSO DE LICENCIATURA EM QUÍMICA**

LUCAS SOARES DE SÁ

**OBTENÇÃO DE NANOPARTÍCULAS METÁLICAS POR FUNGOS ISOLADOS DE
AMBIENTES AMAZÔNICOS DA ESPÉCIE *PENICILLIUM ROLFSII* E *TALAROMYCES
VERRUCULOSUS***

**MACAPÁ-AP
2023**

LUCAS SOARES DE SÁ

**OBTENÇÃO DE NANOPARTÍCULAS METÁLICAS POR FUNGOS ISOLADOS DE
AMBIENTES AMAZÔNICOS DA ESPÉCIE *PENICILLIUM ROLFSII* E *TALAROMYCES*
*VERRUCULOSUS***

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de Licenciatura em Química da Universidade Federal do Amapá, como requisito para obtenção do título de Licenciado em Química.

Orientador: Dr. Irlon Maciel Ferreira

Co-orientadora: Ms. Patrícia de Almeida Nóbrega

**MACAPÁ-AP
2023**

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Biblioteca Central/UNIFAP-Macapá-AP
Elaborado por Mário das Graças Carvalho Lima Júnior – CRB-2 / 1451

S111 Sá, Lucas Soares de.

Obtenção de nanopartículas metálicas por fungos isolados de ambientes Amazônicos da espécie *Penicillium rolfsii* e *Talaromyces verruculosus* / Lucas Soares de Sá. - Macapá, 2023.
1 recurso eletrônico. 52 folhas.

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) - Universidade Federal do Amapá, Coordenação do Curso de Química, Macapá, 2023.

Orientador: Irlon Maciel Ferreira.

Coorientador: Patrícia de Almeida Nóbrega.

Modo de acesso: World Wide Web.

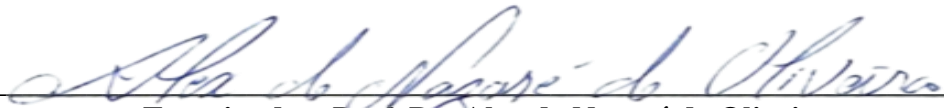
Formato de arquivo: Portable Document Format (PDF).

1. Nanopartículas Metálicas. 2. Fungos Amazônicos. 3. Biossíntese. 4. Método Biológicos. 5. Ferro. 6. Prata. I. Ferreira, Irlon Maciel, orientador. II. Nóbrega, Patrícia de Almeida, coorientadora. 3. III. Fundação Universidade Federal do Amapá. IV. Título.

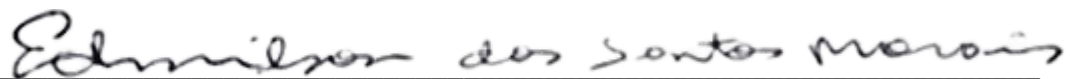
CDD 23. ed. – 540

SÁ, Lucas Soares de. **Obtenção de nanopartículas metálicas por fungos isolados de ambientes Amazônicos da espécie *Penicillium rolfsii* e *Talaromyces verruculosus***. Orientador: Irlon Maciel Ferreira. 2023. 52 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) - Coordenação do Curso de Química. Universidade Federal do Amapá, Macapá, 2023.

DATA DE APROVAÇÃO: 27/10/2023



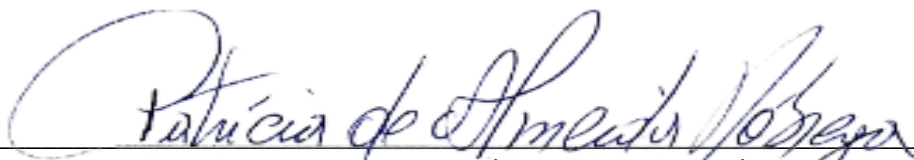
**Examinador: Prof. Dr. Alex de Nazaré de Oliveira
UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAPÁ – UNIFAP**



**Examinador (a): Prof. Me. Edmilson dos Santos Morais
UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAPÁ – UNIFAP**



**Orientador: Prof. Dr. Irlon Maciel Ferreira
UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAPÁ – UNIFAP**



**Co-orientadora: Ms. Patrícia de Almeida Nóbrega
UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAPÁ – UNIFAP**

Com gratidão, dedico este trabalho a Deus. Devo a Ele tudo o que sou. Pois sem ele eu não teria capacidade de chegar ao fim desse ciclo na minha caminhada acadêmica.

À minha família, por todo apoio, afeto e por estar comigo em todos os momentos da caminhada.

A meus pais, Maria de Nazaré Soares de Sá e Jaime Barros de Sá, por serem meus alicerces na vida e pela capacidade de acreditarem e investirem em mim, pois é graças aos seus esforços e apoio que hoje posso concluir o curso. Mãe, seu cuidado e dedicação foi que deram, em alguns momentos, a esperança para seguir. Pai, sua presença significou segurança e certeza de que não estou sozinho nessa caminhada.

Aos meus irmãos, Patrícia Lara Soares de Sá; Cristina Soares de Sá; Benedita Alice Soares de Sá; Frankelino Soares de Sá e Kelly Caroline Soares de Sá por todo apoio prestado ao longo desta caminhada.

Destaco meus honrosos agradecimentos a minha irmã Kelly Caroline Soares de Sá e sua família pelo companheirismo e apoio incondicional durante todo esse ciclo de graduação.

Aos amigos e colegas, pelo incentivo e pelo apoio constantes. Sendo eles os responsáveis por compartilhar os momentos marcantes da graduação e por serem a base na caminhada.

Ao meu orientador, prof. Dr. Irlon Maciel Ferreira, pela amizade, pelas experiências compartilhadas e principalmente pela confiança que depositou em mim para a realização deste trabalho.

A minha Co-Orientadora Profa. Ms. Patrícia de Almeida Nóbrega pelos fungos cedidos, por toda dedicação, empenho nos momentos de ensinar-me as técnicas laboratoriais e pela confiança depositada em mim.

A todos os professores do colegiado, pelos conhecimentos compartilhados durante os quatro anos da graduação. Também ao técnico de laboratório deste curso, meu amigo Victor por toda ajuda e disponibilidade prestada ao longo deste trabalho.

A minha turma de graduação, pelos 4 anos de amizade formada e pelas experiências obtidas.

A toda família do Laboratório de Biocatálise e Síntese Orgânica aplicada (BIORG), pela amizade formada e pelas experiências obtidas.

Ao Laboratório de controle de qualidade, bromatologia e microbiologia (LCQBM/UNIFAP) pela disponibilidade para realização das análises.

Lucas Soares de Sá

MACAPÁ-AP

2023

“Na natureza nada se cria, nada se perde, tudo se transforma”.
Antoine Lavoisier

RESUMO

Na busca por novas nanotecnologias pesquisas estão sendo realizadas com o intuito de propiciar o desenvolvimento de nanomateriais para uso em diversas áreas. Atualmente, nanopartículas metálicas, por exemplo as NPAg e FeNP estão sendo bastantes estudadas como alternativas de aplicação na medicina, farmacologia, na agricultura, no ramo da biotecnologia, entre outros. Existem diversos métodos para a obtenção desses nanomateriais, entre os quais destaca-se o método biológico, no qual utiliza microrganismos, como fungos filamentosos na biossíntese de nanopartículas metálicas, facilitando e barateando o processo de produção. Em vista disso, esta pesquisa se propõe a utilizar fungos de ambientes amazônicos da espécie *Penicillium rolfsii* e *Talaromyces verruculosus* isolados do solo de ambientes amazônicos, para a biossíntese de NPAg's FeNP, respectivamente. As nanopartículas obtidas foram caracterizadas por espectroscopia de UV-Vis e TEM, onde para a NPAg se obteve a banda de absorção na região de 270 nm e na análise por TEM foi observado um tamanho de nanopartícula que variou de 25-10 nm. Para as FeNP's foram obtidas nas bandas de absorção máxima em 228 nm, com tamanho das nanopartículas que variou de 180-40 nm no TEM. Portanto, evidenciou-se enorme capacidade de biosintetizar FeNP e NPAg por meio dos fungos isolados de ambientes amazônicos.

Palavras-Chave: Nanopartículas Metálicas, Ferro, Prata, Fungos Amazônicos, Biossíntese, Método Biológicos.

ABSTRACT: In the search for new nanotechnologies, research is being carried out to develop nanomaterials for use in various areas. Currently, metallic nanoparticles, such as NPAg and FeNP, are being studied extensively as alternatives for application in medicine, pharmacology, agriculture, biotechnology, among others. There are various methods for obtaining these nanomaterials, including the biological method, which uses microorganisms such as filamentous fungi to biosynthesize metal nanoparticles, making the production process easier and cheaper. In view of this, this research aims to use fungi from Amazonian environments of the species *Penicillium rolfsii* and *Talaromyces verruculosus* isolated from the soil of Amazonian environments, for the biosynthesis of FeNP NPAg's, respectively. The nanoparticles obtained were characterized by UV-Vis and TEM spectroscopy. For NPAg, the absorption band was obtained in the region of 270 nm and in the TEM analysis, a nanoparticle size ranging from 25-10 nm was observed. For FeNPs, maximum absorption bands were obtained at 228 nm, with nanoparticle sizes ranging from 180-40 nm in the TEM. Therefore, there was a huge capacity to biosynthesize FeNP and NPAg by fungi isolated from Amazonian environments.

Keywords: Metallic Nanoparticles, Iron, Silver, Amazonian Fungi, Biosynthesis, Biological Methods.

ÍNDICE DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Esquema de síntese das nanopartículas intracelular e extracelular.....	16
Figura 2: Tipos de mecanismos envolvidos na formação de nanopartículas metálicas por fungos.....	17
Figura 3: Espectroscopia de absorção UV-Vis de acordo com a Lei de Beer.....	22
Figura 4: Microscopia Eletrônica de Transmissão.....	23
Figura 5: Análise de morfologia celular por TEM.....	23
Figura 6: Resumo experimental de biossíntese das NPs.....	25
Figura 7: Fungo Cultivado <i>Penicillium Rolfsil</i>	26
Figura 8: Fungo Cultivado <i>Talaromyces Verruculosus</i>	26
Figura 9: Fungo <i>Penicillium rolfsil</i> /Meio Líquido.....	27
Figura 10: Fungo <i>Talaromyces verruculosus</i> /Meio Líquido.....	27
Figura 11 - Solução das NPFe. 1) Solução tampão fosfato. 2) Controle Tampão fosfato + Fe (NO ₃) ₃ .H ₂ O. 3) Controle meio líquido.4) Solução NPFe agitação convencional. 5) Solução NPFe da autoclave.....	27
Figura 12 - Espectro de UV-Vis da solução de NPFe pelos métodos utilizados.....	28
Figura 13 - Solução das NPAg. 1) Solução tampão fosfato. 2) Controle Tampão fosfato + AgNO ₃ . 3) Controle meio líquido.4) Solução NPAg agitação convencional.....	29
Figura 14 – Espectro de UV-Vis da solução de NPAg pelos métodos utilizados.....	29
Figura 15 - Imagem por MET de nanopartículas de prata produzida pelo fungo <i>Penicillium rolfsil</i>	30
Figura 16 - Imagem por MET de NPs de ferro produzida pelo fungo <i>Talaromyces verruculosus</i>	30

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1- Alguns organismos que sintetizam NPs metálicas.....	15
---	----

LISTA DE ABREVIACÕES SIGLAS E SÍMBOLOS

AgNPs - Nanopartículas de Prata

AgNO₃ - Nitrato de Prata

B.O. D - Demanda Bioquímica de Oxigênio

°C - Grau Celsius

FeNPs - Nanopartículas de Ferro

Fe(NO₃)₃.H₂O - Nitrato de ferro (III)

g - Gramas

HCl - Ácido Clorídrico

KOH - Hidróxido de Potássio

MHA - Ágar Mueller-Hinton

M - Molaridade

mL - Mililitro

mmol/L - Milimoles por litro

NP's - Nanopartículas

RPSL - Ressonância de Plasmon de Superfície Local

RPM - Rotações por minuto

TEM - Microscopia Eletrônica de Transmissão

UV-Vis - Ultravioleta-Visível

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	11
2. OBJETIVOS	13
2.1 GERAL	13
2.2. ESPECÍFICOS	13
3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	14
3.1 NANOPARTÍCULAS METÁLICAS	14
3.2. GÊNEROS <i>PENICILLIUM</i> E <i>TALAROMYCES</i>	17
3.3. MICRORGANISMOS AMAZÔNICOS	19
3.4. NANOPARTÍCULAS DE PRATA E FERRO	20
3.5 TÉCNICAS DE CARACTERIZAÇÃO DE NANOPARTÍCULAS - ESPECTROSCOPIA DE UV-VIS E MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE TRANSMISSÃO.....	21
4 MATERIAL E MÉTODOS	23
4.1 CULTIVO DOS FUNGOS MEIO SÓLIDO.....	23
4.2 CULTIVO DOS FUNGOS MEIO LÍQUIDO.....	24
4.3 BIOSÍNTESE DAS NANOPARTÍCULAS – MÉTODO CONVENCIONAL.	24
4.4. BIOSÍNTESE DAS NANOPARTÍCULAS – MÉTODO AUTOCLAVE.	24
4.5 CARACTERIZAÇÃO DAS NANOPARTÍCULAS POR ESPECTROSCOPIA NO UV-VISÍVEL.....	25
4.6 CARACTERIZAÇÃO POR MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE TRANSMISSÃO	25
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	26
5.1. CULTIVO DOS FUNGOS MEIO SÓLIDO.....	26
5.2. CULTIVO DOS FUNGOS MEIO LÍQUIDO.....	26
5.3. ESPECTROSCOPIA ULTRAVIOLETA-VISÍVEL (UV-VIS).....	27
5.4. MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE TRANSMISSÃO – (TEM)	30
6. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	31
REFERÊNCIAS	32
ANEXO.....	40

1. 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 (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} m de unidades do sistema internacional. A nanotecnologia refere-se as partículas com dimensões que variam entre 1 e 100 nanômetros (nm). O termo não sendo novo, tem sido amplamente utilizado para o desenvolvimento de tecnologia mais eficiente, nas últimas décadas. Em contraste com os seus metais, as nanopartículas metálicas e o seu uso pode ser considerado um produto da ciência moderna (BORRALHO, 2017).

O tamanho nanométrico dessas partículas proporciona uma razão entre superfície e volume, que assim como o confinamento quântico resultam em propriedades biológicas, físicas e químicas distintas de seus materiais de origem, podendo ser aplicadas em diversas áreas como biomedicina e na desinfecção do ar e água, entre tantas outras (CAVALCANTE, 2014). Nessa perspectiva destacam-se as aplicabilidades das nanopartículas de prata (NPs-Ag) e ferro (NPs-Fe), aplicadas diretamente em diferentes áreas, tais como, médicas e alimentícias, energia, agricultura, química, informação, comunicação, indústria pesada e bens de consumo a fim de garantir o controle de microrganismos patogênicos a níveis de segurança pública (MARTINS et al., 2016). Pois, possuem propriedades ópticas, térmicas e eletroquímicas exclusivas (FAHMY et al., 2018).

A busca por novas nanotecnologias tem propiciado o estudo e o desenvolvimento dessas nanopartículas partindo-se da utilização de diversos elementos químicos, como a prata que é conhecida por ser um elemento brilhante, muito dúctil e maleável, porém, ligeiramente mais duro do que o ouro, com um símbolo de Ag e número atômico de 47. E além da prata elementar, outros compostos contendo prata, exemplo o Nitrato de Prata (AgNO_3). Devido suas propriedades únicas e interessantes, a prata tem sido muito utilizada em diversas aplicações, destacando-se suas aplicabilidades em sensores e conversores de energia; cremes e cosméticos e etc. (AHMED et al., 2016; BORRALHO, 2017; CONTRENAS, 2014; DURÁN et al., 2010). Já o ferro, um elemento químico que pertence ao grupo dos metais de transição e tem o símbolo Fe, seu número atômico 26. É um dos elementos mais comuns na crosta terrestre e desempenha

um papel fundamental em várias aplicações industriais e biológicas, E além do ferro elementar, outros compostos, exemplo o Nitrato de Ferro (III), compostos químicos que vêm sendo bastantes empregado para biossíntese de nanopartículas, principalmente pelo método biológico.

As nanopartículas metálicas podem ser produzidas por diferentes métodos, seja ele os 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 de baixo custo. A síntese biológica costuma ser mais eficiente na 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).

Os métodos biológicos utilizam microrganismos, extratos de plantas, vitaminas na síntese de NP's e estão dentro dos princípios 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).

Esse método também é chamado de síntese verde, pois as NPs são obtidas com ação de compostos advindos de células ou extratos enzimáticos de microrganismos ou plantas (HUSSAIN et al., 2016). 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 (BOROUMAND MOGHADDAM et al., 2015; CHAN et al., 2013; FERNÁNDEZ et al., 2016).

Nos últimos anos, a biodiversidade amazônica vem sendo negligenciada pelo próprio Estado, que pouco fomenta e estimula o desenvolvimento de pesquisas no bioma, fazendo com que o próprio país e sua população perca tecnologia e o pioneirismo na descoberta e utilização de potenciais produtos biotecnológicos ainda ocultos na região. A síntese das NPs de maneira ecologicamente correta e com menos gastos, faz com que essa nanotecnologia desperte o interesse de indústrias e demais laboratórios de pesquisa, que por sua vez poderão transformá-la em benefícios para a sociedade, tendo em vista suas aplicações. Nessa perspectiva, este trabalho se propõe a investigar se fungos filamentosos amazônicos (espécie *Penicillium rolfsii* CBMAI 2753 e *Talaromyces verruculosus* CBMAI 2734) tem a capacidade de produzir nanopartículas de prata e ferro, por meio da biotransformação catalisada.

2. OBJETIVOS

2.1 Geral

Obter nanopartículas de prata e ferro por meio da biotransformação catalisada por fungos filamentosos da espécie *Penicillium rolfsii* e *Talaromyces verruculosus*, isolados de ambientes amazônicos.

2.2. ESPECÍFICOS

- Cultivar fungos filamentosos da espécie *Penicillium rolfsii* e *Talaromyces verruculosus* em meio sólido e líquido.
- Biosintetizar nanopartículas metálicas de prata e ferro por meio dos fungos das espécies *Penicillium rolfsii* e *Talaromyces verruculosus* isolado de ambiente amazônico;
- Caracterizar as nanopartículas metálicas por espectroscopia de UV-Vis e a Microscopia de Transmissão Eletrônica (TEM).
- Desenvolver material didático-metodológico para trabalhar abordagem sobre a nanotecnologia associada ao ensino de química e o cultivo microbiológico de fungos dentro do ensino e aprendizagem de Ciências da Natureza (Química) para o ensino médio (ANEXO).

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 NANOPARTÍCULAS METÁLICAS

Nos últimos anos, o interesse em novos materiais com tamanhos cada vez menores tem atraído a atenção de pesquisadores, visto as propriedades que oferecem para o desenvolvimento de novas tecnologias, um ponto inicial para tal desenvolvimento são as nanopartículas (NPs), vistas como blocos de construção fundamentais da nanotecnologia (CAVALCANTE, 2014).

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).

Dentre os nanomateriais amplamente estudados, as NPs metálicas destacam-se, principalmente as de prata, ouro, ferro, paládio e platina devido a vasta aplicabilidade principalmente em setores associados à eletroquímica, medicina, cosmética, fármacos e alimentos (NISKA *et al.*, 2018).

As NP's podem ser obtidas por métodos químicos, físicos e biológicos. Um dos métodos mais convencionais é o químico que ocorre por redução química de sais, sendo o borohidreto de sódio um dos mais difundidos (OTTONI *et al.*, 2018). Muito embora os métodos químicos sejam os mais descritos, esses métodos dependem de agentes estabilizantes e redutores que por muitas vezes são tóxicos e dependem de processos mais trabalhosos e custosos (XUE *et al.*, 2016).

Entretanto, os métodos físicos (irradiação de laser, condensação de vapor) não envolvem compostos tóxicos, geralmente têm um tempo de processamento rápido e o tamanho das NP's obtidas é mais uniforme. Sua grande desvantagem é o alto consumo de energia para execução dos mesmos (WEY *et al.*, 2015). Visando essas desvantagens, na última década muitos estudos têm utilizado uma abordagem biológica para a obtenção de NPs metálicas.

Mohanpuria *et al.* (2008) relataram que a obtenção de NPs pelo método biológico é mais vantajoso quando comparadas com as sintetizadas por via química e física, uma vez que, neste tipo de síntese não são utilizados agentes químicos além do metal precursor, utilizando organismos vivos ou metabólitos oriundos destes para a síntese. Os autores também destacam que as NPs biológicas possuem uma maior estabilidade e biocompatibilidade (não produz

efeitos nefastos sobre tecidos biológicos), reduzindo assim, a sua toxicidade, além de ser uma reação completa, sem a formação de outras substâncias (SCHRÖFEL *et al.*, 2014). Por meio dessa síntese biológica pode-se obter nanopartículas utilizando diversos tipos de matéria-prima biológica, com plantas, bactérias, extratos vegetais e em especial fungos filamentosos.

A síntese biológica apresenta algumas outras vantagens em comparação às obtidas por via química e física, uma vez que evitam o uso de produtos tóxicos e agressivos, não possuem alta demanda de energia e são processos considerados de baixo custo (SINGH *et al.*, 2015). A tabela 1 apresenta alguns estudos que utilizaram diversas fontes biológicas para a biossíntese de NPs metálicas.

Tabela 1- Alguns organismos que sintetizam NPs metálicas

	Organismos	Tip o NP	Localização	Tamanho (nm)	Referências
Plantas	<i>Eucalyptus</i>	Ag	ND	25-30	Shivakumar <i>et al.</i> , 2017
	<i>Elettaria cardamom</i>	Au	ND	15.2	Rajan <i>et al.</i> , 2017
	<i>Malva. crisa Linn</i>	Ag	Intra	5-50	Krishnaraj <i>et al.</i> , 2017
Fungos	<i>Penicillium</i>	Ag	Extra	10-15	Neethu <i>et al.</i> , 2018
	<i>Aspergillus</i>	Ag	ND	1-20	Kalyani <i>et al.</i> , 2018
	<i>polonicum Schizophyllum</i>	Ag	Extra	10-40	Metuku <i>et al.</i> , 2014
	<i>radiatum Trichoderma</i>	Ag	ND	5-25	Elamawi <i>et al.</i> , 2018
	<i>longibrachiatum Pestologia sp.</i>	Ag	Extra	12-40	Raheman <i>et al.</i> , 2011
	<i>Alternaria alternate</i>	Ag	Extra	20-60	Gajbhiyed <i>et al.</i> , 2009
Algas	<i>Cystoseira. baccata</i>	Au	ND	8.4-2.2	Ballesteros <i>et al.</i> , 2017
	<i>Gellidium amansii</i>	Ag	Extra	24-54	Pugazhendhi <i>et al.</i> , 2018
	<i>Leptanilla japonica</i>	Ag	Extra	30	Kim <i>et al.</i> , 2018

*ND: Não descrito. Intra: Intracelular. Extra: Extracelular - Fonte: Elaborado pelo autor, (2023)

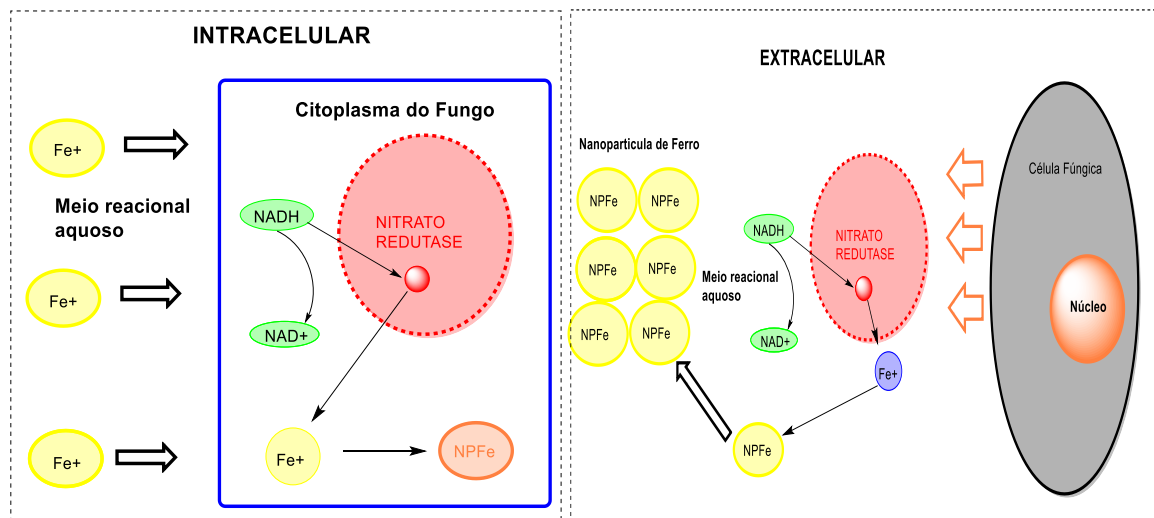
Dentre os organismos supracitados, as plantas e os fungos filamentosos (FF) são os mais promissores no processo de biossíntese de NPs metálicas em maior escala. Os FF oferecem algumas vantagens quando comparados às plantas e, segundo Raheman *et al.* (2011), estes organismos apresentam características chaves, tais como a tolerância e fácil bioacumulação do metal, são fáceis de manipular e fabricar no processamento após a produção “downstream” (ZHAO *et al.*, 2017), formam biomassa e proteínas não identificadas e que são passíveis a serem utilizadas em outros processos, gerando assim, valor agregado (DAS *et al.*, 2017; XUE *et al.*, 2016).

3.2. PROCESSOS DE OBTENÇÃO DE NANOPARTÍCULAS METÁLICAS

A síntese de nanopartículas metálicas pode ocorrer de duas formas: “Top Down” ou “Bottom Up”. No processo " Top Down ", as NPs são produzidas por redução de sua forma a granel, por métodos físicos (KHAN et al., 2017). Já em " Bottom Up ”, ocorre a partir de átomos ou moléculas, onde a principal reação é de redução ou oxidação por métodos químicos ou biológicos (BORGSCULTE et al., 2017). Os métodos biológicos são chamados de síntese verde, pois, as NPs são obtidas com ação de compostos advindos de células ou extratos enzimáticos de microrganismos ou plantas (HUSSAIN et al., 2016).

A biossíntese de NPs metálicas pelo método biológico pode ocorrer de forma intracelular e extracelular (Figura 1). Entretanto, a produção por via extracelular possui uma maior facilidade no controle do tamanho uma vez que, as NPs são precipitadas fora das células e são desprovidas de componentes celulares desnecessários, ao contrário das intracelulares que tendem a anexar à parede celular da biomassa, e são difíceis de purificar (ZHAO *et al.* 2017).

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

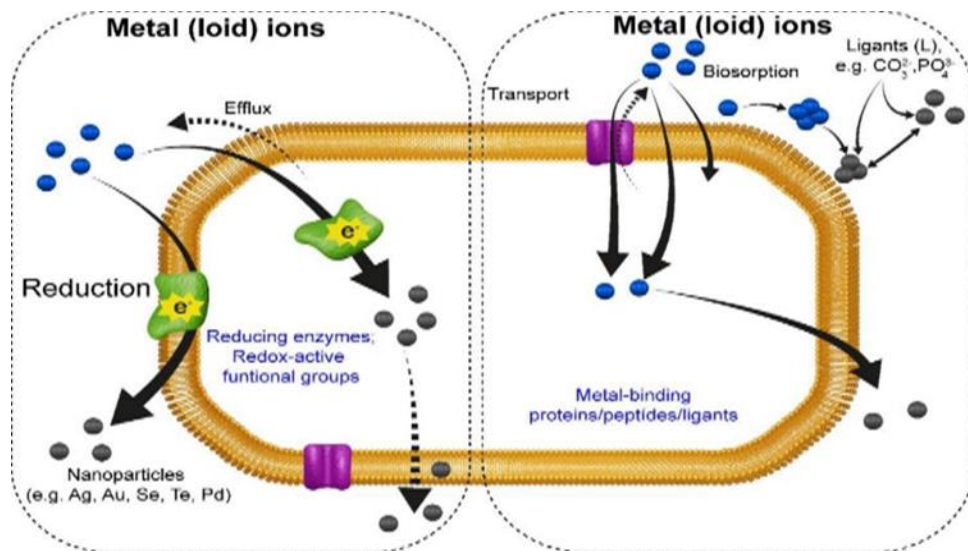


Fonte: Autor (2023)

A habilidade da obtenção de nanopartículas metálicas por microrganismos deve-se pela participação das enzimas do tipo redutase, polissacarídeos, polipeptídeos, proteínas, açúcares ou co-fatores orgânicos, produzidos por processos metabólicos que convertem os metais tóxicos (sal metálico) em íons metálicos de nanopartículas menos tóxicas, podendo ocorrer de forma intracelular ou extracelular (THAPA et al., 2017; KATAS et al., 2018). Quando o microrganismo está sob condição de estresse, como a alta concentração de metais, eles realizam para sua sobrevivência vários mecanismos de eliminação dos metais tóxicos, tais como, acúmulo de íons metálicos dentro das células, fluxo ativo dos íons metálicos através da membrana celular e redução química dos íons (HULKOTI et al., 2014) (Figura 2, pag. 19).

Apesar das vantagens do uso de microrganismos na transformação de nanopartículas metálicas, o grande desafio, é a diminuição do tempo de reação, a garantia da padronização do tamanho e carga das partículas, pois tais microrganismos estão sujeitos às altas influências de pH, temperatura, luminosidade concentração dos sais, podendo afetar o rendimento e a forma das nanopartículas (POURI et al., 2018).

Figura 2: Tipos de mecanismos envolvidos na formação de nanopartículas metálicas por fungos



Fonte: Adaptado de Li, Q. et al., (2022)

3.3. GÊNEROS *PENICILLIUM* E *TALAROMYCES*

Os fungos (reino Fungi) constituem um grande e diversificado grupo de seres vivos (bolores, cogumelos e leveduras), que podem ser encontrados em quase todos os nichos ecológicos (WEBSTER et al., 2007). Já foram descritas aproximadamente 100.000 espécies, no entanto, estima-se que existam mais de 1,5 milhões de espécies no planeta (WEBSTER et al., 2007; NOGUEIRA et al., 2015). Atualmente os fungos constituem o Reino Fungi, sendo este reino dividido em 4 filos (*Chytridiomycota*, *Zygomycota*, *Basidiomycota* e *Ascomycota*) (WEBSTER et al., 2007).

Os fungos são seres eucariontes multicelulares (como os filamentosos), podendo também ser unicelulares (como as leveduras), quimiorganotróficos e na sua maioria aeróbios (NOGUEIRA et al., 2015). Os fungos pluricelulares possuem estruturas filamentosas, as hifas. As hifas podem ser septadas ou não-septadas (cenocíticas). Os septos são paredes transversais que derivam das estruturas filamentosas. No caso das hifas septadas, há vários núcleos dispersos no citoplasma. Já as hifas não-septadas, estas podem ser de dois tipos: mononucleadas ou multinucleadas. A livre ramificação e entrelaçamento das hifas formam o corpo do fungo chamado de micélio (NOGUEIRA et al, 2015).

O solo contém provavelmente maior número de indivíduos e maior diversidade que qualquer outro habitat ou ecossistema. É um complexo biológico dinâmico em que cada um dos diferentes organismos tem seu papel-chave na manutenção e sobrevivência das comunidades (Martins et al., 2011). Existem milhares de espécies de fungos filamentosos que podem ser encontrados na natureza, o gênero *Talaromyces* é um deles.

Segundo Pitt (1991), ecologicamente, *Talaromyces* é um gênero relativamente primitivo, com muitas espécies encontradas apenas em solos inabitados. Uma das características mais relevantes do gênero é a capacidade que muitas espécies apresentam de crescimento sob temperatura elevada. Por outro lado, outras espécies requerem maior atividade de água e podem ser encontradas em ambientes úmidos, além de colonizar folhas em decomposição.

O gênero *Talaromyces* é um grupo interessante de fungos com ampla distribuição na natureza e um grande potencial de estudo devido à sua capacidade de produção de diversos metabólitos secundários. Esses microrganismos desempenham papéis importantes nos ecossistemas e têm aplicações significativas em áreas como microbiologia, biotecnologia e medicina. As espécies de *Talaromyces* podem ser encontradas em uma variedade de ambientes, desde solos até substratos orgânicos em composição, incluindo materiais vegetais e animais. Sua ampla distribuição na natureza significa que eles desempenham um papel importante na preservação da matéria orgânica e na ciclagem de nutrientes. Assim como *Penicillium*, *Talaromyces* é excelente decompositor de matéria orgânica. Atualmente, há 173 espécies aceitas para *Talaromyces*, distribuídas em sete seções: Bacillispori, Helici, Islandici, Purpurei, Subinflati, *Talaromyces* e Trachyspermi.

O gênero *Penicillium* é um dos maiores grupos de fungos, com mais de 200 espécies. Seu vasto número está atrelado a sua adaptabilidade e a sua baixa necessidade no que diz respeito a nutrição necessária para seu crescimento. São isolados muitas vezes como fungos endolíticos, ou seja, em condições na qual podem manter uma relação de simbiose com o seu hospedeiro (TOGHUEO; BOYOM, 2020)

Esse gênero *Penicillium* foi descrito pela primeira vez em 1809 por Link. Este gênero pertence à família *Trichocomaceae* e se caracteriza por produzir conídios em cadeias em uma estrutura ramificadas chamadas de fiálides, com os conidióforos apresentando morfologia semelhante a um pincel (SILVA et al., 2013). O gênero *Penicillium* foi subdividido em vários subgêneros ao longo do tempo, e a classificação pode variar dependendo da fonte e do autor. Em uma classificação amplamente aceita em 2021, havia 8 subgêneros reconhecidos no gênero *Penicillium*, e eles foram descritos por vários pesquisadores.

As espécies do gênero *Penicillium* são uma fonte potencial de estudo devido à sua ampla distribuição na natureza e à capacidade de sintetizar uma variedade de metabólitos secundários com diversas propriedades biológicas. Entre as razões pelas quais as espécies de *Penicillium* são de interesse para pesquisa incluem a sua atividade antibiótica, o *Penicillium* é conhecido por produzir a penicilina, um dos primeiros antibióticos descobertos, que revolucionou o tratamento de infecções bacterianas. Além disso, outras espécies de *Penicillium* também apresentam antibióticos com potencial terapêutico e/ou antioxidantes que são substâncias que podem proteger as células.

3.4. MICRORGANISMOS AMAZÔNICOS

O solo amazônico é potencialmente favorável para o isolamento de novas espécies de microrganismos, especialmente 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).

Os microrganismos representam a fonte mais rica em diversidade química e molecular da natureza, constituindo a base de processos ecológicos, como os ciclos biogeoquímicos e a cadeia trófica, além de manter relações vitais com organismos superiores (HUNTER-CEVERA, 1998). O número de espécies microbianas identificadas cresce a cada ano, sendo descritos mais de 47.000 fungos, 30.000 protozoários, 26.000 algas, 5.000 bactérias e 1.000 vírus. Esses números são, no entanto, pequenos diante do total de espécies, estimado em cerca de dois milhões (WILSON, 1988; ROSSELÓ-MORA; AMANN, 2001).

Um estudo foi realizado para avaliar o potencial de produção enzimática de basidiomicetos, isolados do solo amazônico, foram isolados os gêneros *Trametes*, *Pycnoporus*, *Ganoderma*, *Stereum*, *Daedalea*, *Cantarellus* e *Pleurotus*. Por meio da observação do diâmetro e coloração dos halos formados foi possível concluir que dos 60 espécimes coletados 50% produziram fenoloxidasas, 40% produziram amilases e 10% produziram pectinases. Dos fungos capazes de produzir fenoloxidasas destaca-se o *Pycnoporus sanguineus*, *Cantarellus guyanensis* e *Daedalea sp.* Todos os fungos estudados foram capazes de produzir celulases (SOUZA et al., 2008). Logo, evidencia-se a necessidade de realizar mais estudos envolvendo

diferentes espécies de microrganismo amazônicos para avaliar seus potenciais frente a diferentes aplicações, em particular, a biossíntese de nanopartículas metálicas.

3.5. NANOPARTÍCULAS DE PRATA E FERRO

A prata (Ag) é um metal conhecido pela comunidade médica por sua eficácia antimicrobiana desde o início do século XVIII. O efeito antimicrobiano da Ag tem sido utilizado em diferentes campos da medicina como, por exemplo, na profilaxia da oftalmia neonatal, na cicatrização de feridas e em biomateriais (LIMA, 2011).

Sais de Ag, principalmente o AgNO_2 , já foram usados para o tratamento de úlceras (KLASEN, 2010). A atividade antimicrobiana da Ag foi reconhecida pelo meio acadêmico no século XIX; no entanto, somente na década de 1920 seu uso foi aprovado pela US Food and Drug Administration (FDA). As AgNPs podem ser utilizadas para reduzir infecções, prevenir a colonização bacteriana em superfícies de prótese, em cateteres e materiais odontológicos, bem como na indústria de alimentos, no tratamento de água e na fabricação de tintas antibacterianas (GUZMÁN *et al.*, 2009).

O efeito antimicrobiano apresentado pelas AgNPs é devido à sua interação com proteínas compostas de enxofre nas células, bem como com os compostos contendo fósforo como o DNA. Além disto, as nanopartículas de prata apresentam propriedades antimicrobianas eficientes, em virtude de sua grande área superficial que proporciona melhor contato com as bactérias (MORONES *et al.*, 2005; SONG *et al.*, 2006). A síntese das nanopartículas de prata pode ser realizada a partir de diversos métodos.

Uma das principais dificuldades encontradas na síntese das nanopartículas metálicas, é obter suspensões coloidais estáveis. Este problema ocorre, pois por possuírem uma elevada área superficial e conseqüentemente uma alta energia superficial, as nanopartículas facilmente se agregam através das ligações metal-metal, gerando partículas maiores, o que não é desejável (KLABUNDE, 2001). Portanto, para evitar que as nanopartículas se agreguem, são utilizados estabilizadores durante a síntese. Esses estabilizadores possuem a função de adsorver na superfície das nanopartículas, e produzir uma camada que evita a interação entre elas (MELO *et al.*, 2012).

A síntese das AgNPs ocorre por meio da redução de sais de Ag solúveis com agentes de redução, tais como citrato, glicose, etilenoglicol ou boroidreto de sódio. Esta redução pode ser realizada em meio aquoso, bem como em solventes orgânicos (CHERNOUSOVA, 2013). Nesse sentido, a alternativa de utilização da síntese pelo método biológico tornar-se mais viável, pois as nanopartículas de Ag são obtidas com mais estabilidade e uniformidades em relação aos

métodos químicos e físicos. Alguns exemplos de aplicação das AgNPs são na biomedicina, em materiais dentários, no revestimento de aço inoxidável, em cremes protetores solares, no tratamento de água e em catálise. As AgNPs também vêm sendo amplamente utilizadas como agentes bactericidas na desinfecção da água e no tratamento microbiológico de efluentes (XU *et al.*, 2011).

Já a preparação de NPFe com bactérias, fungos e plantas foi designada também de “síntese verde”, pois é mais ecológica e econômica (AHMAD *et al.* 2015). A biossíntese de NPFe é uma abordagem ascendente que envolve principalmente reações de redução/oxidação, isto é, as enzimas microbianas e os metabólitos vegetais, como por exemplo o nitrato redutase, terpenóides, saponinas, flavonas e amidas com propriedades redutoras e/ou estabilizadoras que sintetizam as NPs (SABRI *et al.* 2016).

A produção de NPFe por meio da síntese biológica, é atualmente bastante visada por se tratar de um método ambientalmente amigável tendo em vistas os contratempos do método de redução química geralmente empregado para tal, logo a produção desse nanometal pode ser realizada por fungos, bactérias e leveduras, assim como fontes vegetais (PEREIRA *et al.*, 2017; XU *et al.*, 2020).

A aplicação dos fungos na síntese de FeNPs é mais vantajosa na medida que tem maior facilidade na produção em larga escala e viabilidade econômica. Além disso, a presença de micélios oferece maior resistência. Os fungos podem produzir maiores quantidades de NPs porque secretam maiores quantidades de proteínas aumentando a produtividade destas, tendo grande potencial para a indústria (VELUSAMY *et al.* 2016) uma área superficial aumentada.

O processo de síntese das NPFe depende da característica de cada fungo na sua capacidade de produzir metabolitos extracelulares como glucosidase, hemicelulase e a enzima lítica da parede celular que o protegem quando expostos a agressões ambientais como materiais tóxicos (Fe^{2+}), variações de temperatura e o tempo reacional. O micélio do fungo é exposto à solução de $\text{Fe}(\text{NO}_3)_3$ e produz enzimas e metabólitos para sua própria sobrevivência, reduzindo os íons de ferro e levando à formação das NPFe, com tamanho que varia entre 5-100 nm.

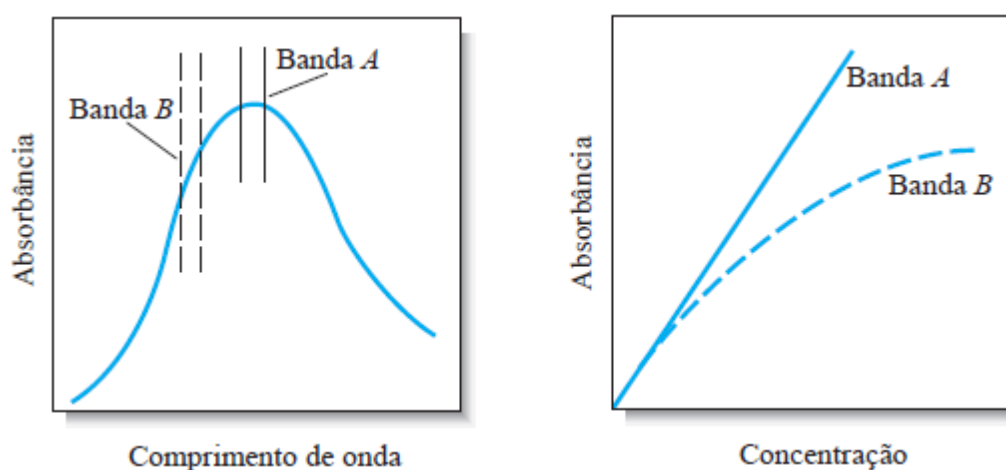
3.6 TÉCNICAS DE CARACTERIZAÇÃO DE NANOPARTÍCULAS - ESPECTROSCOPIA DE UV-VIS E MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE TRANSMISSÃO

A espectroscopia de UV-Vis é uma das técnicas utilizadas para caracterização de nanopartícula metálica, pois possibilita o monitoramento dessas nanotecnologias. Além disso, é possível verificar o alargamento e o deslocamento das bandas que determinam a qualidade de distribuição dos tamanhos das nanopartículas e pode determinar também a estabilidade. A

espectroscopia de absorção UV-Vis está baseada na medida da transmitância (T) ou absorbância (A) de soluções contidas em células transparentes tendo um caminho óptico. A espectroscopia de absorção UV-Vis é baseada na medida da absorção de radiação eletromagnética na região do espectro ultravioleta e visível (UV-Vis) pela amostra em estudo.

Esta técnica é amplamente utilizada para determinar a concentração de matéria em solução, bem como para obter informações sobre a estrutura eletrônica das moléculas. Para a maioria dos casos, a concentração de uma analito está relacionada linearmente à absorbância de acordo com a Lei de Beer (figura 3). No entanto quando se trata de dispersões coloidais, como no caso das nanopartículas de prata, a lei de Beer pode ser aplicada com restrições se utilizando do máximo da banda de plasmon ressonante nas regiões do ultravioleta, visível e infravermelho próximo, dependendo da emulsão gerada (SEGALA, 2009 apud SILVA, 2012).

Figura 3: Espectroscopia de absorção UV-Vis de acordo com a Lei de Beer



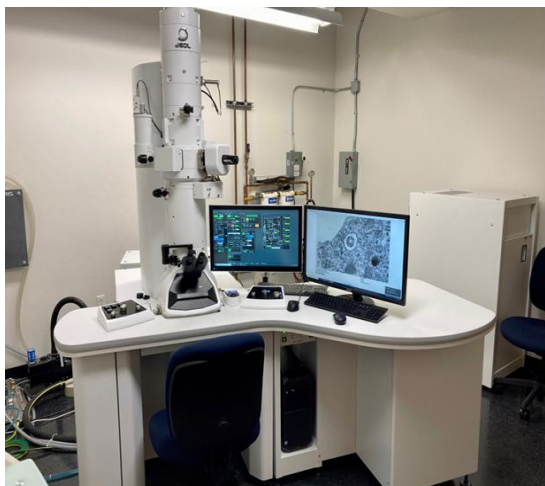
Fonte: Adaptado Adaptado de Skoog – Fundamentos de Química Analítica

Há milhares de anos as estruturas da matéria tem despertado o interesse do homem, desde o fim do século XIX e início do século XX que conceitos e espécies, tais como estrutura cristalina, partículas, contornos de grãos, fases e interfaces puderam ser confirmados experimentalmente. A Microscopia Eletrônica de Transmissão (TEM, sigla em inglês) é uma técnica avançada de microscopia que permite a visualização de objetos em uma escala extremamente pequena, muitas vezes a nível atômico ou molecular. Ela é uma das técnicas mais poderosas para a análise de estruturas microscópicas e é amplamente utilizada em diversas áreas da ciência, incluindo a biologia, a física, a química e a ciência dos materiais.

O emprego do TEM é bastante difundido no estudo de materiais biológicos, pois ele permite definição de imagens intracelulares, permitindo estudos de morfologia celular, aspectos gerais das organelas e da interação de parasitas com as células, fornecendo informações sobre

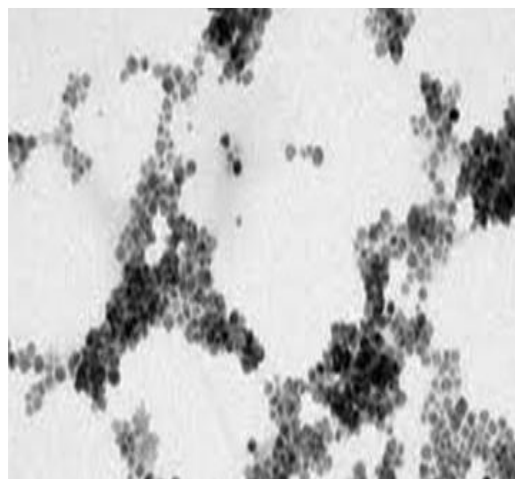
alterações e efeitos citopáticos ocasionados por vírus, fitoplasmas, micoplasmas, bactérias e outros organismos diminutos, de impossível visualização na microscopia de luz. (GALLETI et al. 2003). Esse tipo de microscópio (figura 4) é comumente chamado de microscópio eletrônico direto ou de transmissão (TEM) pelo fato de a imagem do espécime ser formada simultaneamente à passagem do feixe de luz através dele (GALLETI et al. 2003).

Figura 4: Microscopia Eletrônica de Transmissão.



Fonte: Adaptado PADILHA et al. (2020)

Figura 5: Análise de morfologia celular por TEM



Fonte: Adaptado Bergamin, F.G et al. (2019)

O TEM utiliza elétrons em vez de luz visível para iluminar uma amostra (Figura 5). Os elétrons saem da amostra pela superfície inferior com uma distribuição de intensidade e direção controladas principalmente pelas leis de difração impostas pelo arranjo cristalino dos átomos na amostra (PADILHA et al. 2020). Isso permite que a técnica alcance uma resolução muito maior do que a microscopia óptica tradicional, pois os elétrons têm uma energia muito menor do que a luz visível e, portanto, têm uma capacidade intrínseca de fornecer detalhes muito mais finos.

4 MATERIAL E MÉTODOS

Para a obtenção das nanopartículas de ferro e prata por meio do método biológico, utilizou-se dos fungos das espécies *Penicillium rolfsii* e *Talaromyces verruculosus*, respectivamente isolados de ambientes amazônicos pela pesquisa. A metodologia adotada foi dividida em 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.

4.1 CULTIVO DOS FUNGOS MEIO SÓLIDO

Para o cultivo em meio sólido foi utilizada com algumas modificações a metodologia proposta por Ferreira *et al.* (2019), 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 (Phoenix, modelo AV-75) por cerca de 20 min à 120 °C. A solução obtida foi vertida em placa de Petri e após a solidificação do meio foi realizado o repique dos fungos. Por fim, as placas permaneceram em incubadora Demanda biológica de oxigênio B.O.D (LUCADEMA[®], modelo LUCA - 161/03), por 7 dias à temperatura de 32 °C.

4.2 CULTIVO DOS FUNGOS MEIO LÍQUIDO

A inoculação dos fungos 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 0,5 M. O frasco permaneceu em agitação rotativa por 10 dias a (28± 2 °C, 130 rpm) em incubadora orbital (SHAKER, LUCADEMA[®], modelo LUCA - 222). Após esse período, os micélios fúngicos foram separados do meio líquido por filtração a vácuo, com auxílio de papel de filtro Whatman nº 1, e lavados 3 vezes com água destilada autoclavada.

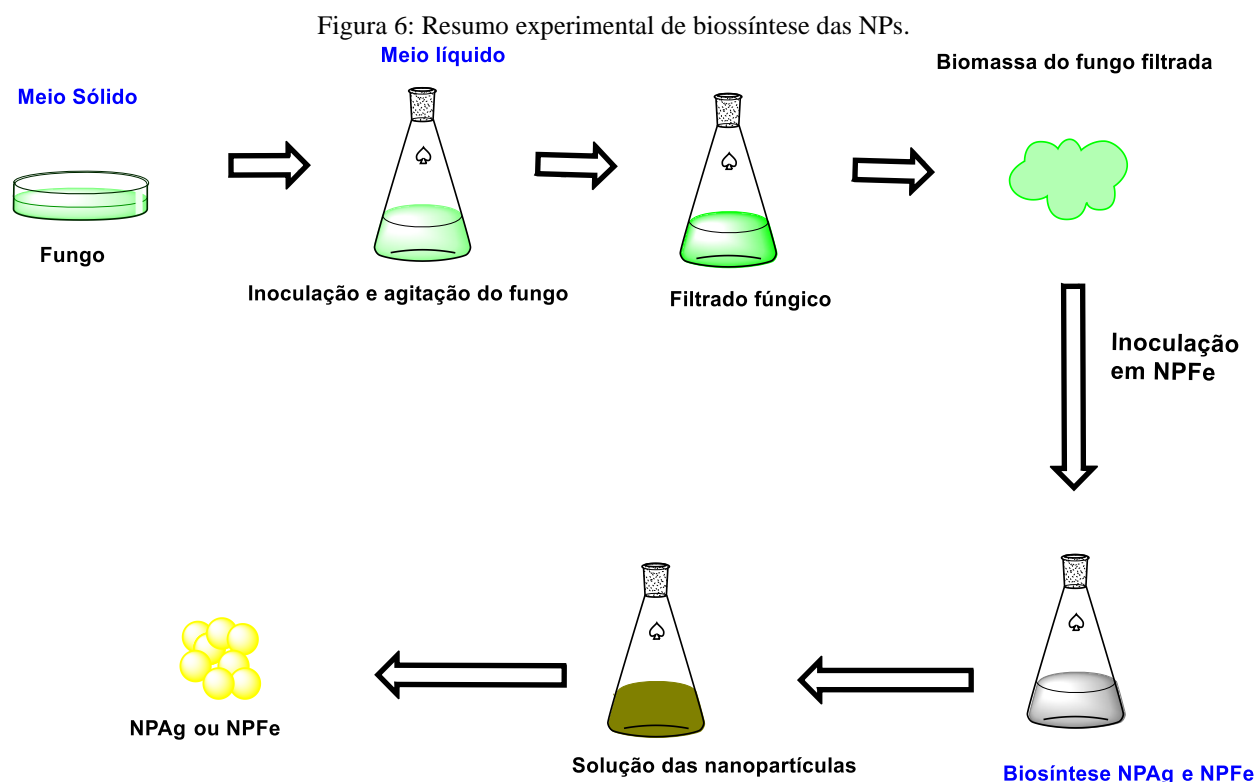
4.3 BIOSÍNTESE DAS NANOPARTÍCULAS – MÉTODO CONVENCIONAL.

A metodologia utilizada foi baseada no método utilizado 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 para a síntese de NPFe e outro frasco contendo 100 mL de solução tampão fosfato e 1 mL de AgNO₃ na concentração de 0,01 mol/L para a síntese de NPAg, a massa fúngica úmida transferida para cada frasco foi de 2,0 g. Os frascos permaneceram em agitação orbital, dentro da incubadora shaker (SHAKER, LUCADEMA[®], modelo LUCA - 222) com temperatura controlada (32 °C) e ao abrigo da luz por 10 dias.

4.4. BIOSÍNTESE DAS NANOPARTÍCULAS – MÉTODO AUTOCLAVE.

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) para a biossíntese das NPFe e outro frasco contendo 100 mL de solução tampão fosfato e 1 mL de AgNO₃ na concentração de 0,01 mol/L para a síntese de NPAg, a massa fúngica úmida transferida para cada frasco foi de 2,0 g, a massa fúngica úmida transferida para cada frasco foi de 2,0 g. Os frascos foram transferidos para dentro da autoclave vertical

(Phoenix, modelo AV-75), colocado em temperatura de 120 °C por 20 min. A figura 6 resume o método experimental.



Fonte: Autor

4.5 CARACTERIZAÇÃO DAS NANOPARTÍCULAS POR ESPECTROSCOPIA NO UV-VISÍVEL

Para a análise, a solução contendo NPAg e NPFe, oriunda da agitação orbital e da autoclave com micélios, foi centrifugada a 4500 rpm por 20 min em centrífuga EDUTECH. Após esse processo, o sobrenadante foi parcialmente descartado, até que sobrassem 3 mL do mesmo. Em seguida foi adicionado 5 mL água destilada e o precipitado foi ressuscitado 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 NPAg's e FeNPs fora 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 200-600 nm.

4.6 CARACTERIZAÇÃO POR MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE TRANSMISSÃO

A análise de microscopia eletrônica de transmissão (MET) das NPAg's e FeNP's biossintetizada foram realizadas usando um microscópio JEM400-FS (JEOLLtd., Tóquio, Japão, operado a 80 kV. Field, PA, EUA). Após 60 s, o excesso foi suavemente seco com papel de filtro e a grade foi manchada com uma gota de solução de acetato de uranilo 2% (SigmaAldrich,

St. Louis, MO, EUA) por 120 s. As imagens foram processadas utilizando o software Digital Micrograph (Gatan Inc., Pleasanton, CA, EUA).

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. CULTIVO DOS FUNGOS MEIO SÓLIDO.

O meio sólido, normalmente, é utilizado no isolamento de bactérias e fungos para fins de identificação e de preservação de culturas. Eles são preparados acrescentando-se ágar aos outros componentes do meio de cultura. O cultivo de fungos em meio sólido é uma abordagem amplamente utilizada na biotecnologia e na pesquisa microbiológica devido às várias vantagens que oferece, por exemplo, têm maior sensibilidade e ainda podem reduzir a necessidade de outros testes, como subculturas e confirmação (FERNANDEZ, M. R., 1993). Os fungos *Penicillium rolfsii* e *Talaromyces verruculosus* foram cultivados em incubadora B.O.D. por 7 dias à temperatura de 32 °C, onde observou-se seu crescimento radial diariamente para ter certeza de que não havia contaminações nas placas e ao final do período de cultivo constatou-se a normalidade no crescimento dos mesmos (Figura 7 e 8) e proporcionando a sua utilização para inoculação e crescimento em meio líquido.

Figura 7: Fungo Cultivado *Penicillium Rolfsii*



Fonte: Autor

Figura 8: Fungo Cultivado *Talaromyces Verruculosus*



Fonte: Autor

5.2. CULTIVO DOS FUNGOS MEIO LÍQUIDO.

O cultivo de fungos em meio líquido desempenha um papel significativo na biossíntese de nanopartículas devido às suas vantagens e características únicas. A biossíntese de nanopartículas utilizando microrganismos, como fungos, tem se tornado uma abordagem promissora devido a diversos fatores como a biocompatibilidade dos fungos que são microrganismos naturalmente compatíveis com muitos ambientes e condições (ROCHA et al., 2010).

Em meio líquido os fungos *Penicillium rolfsii* e *Talaromyces verruculosus* foram cultivados na incubadora Shaker em agitação rotativa por 10 dias a temperatura 28 °C e 150 rpm. Após esse período os fungos crescidos no meio (Figura 9 e 10) foram filtrados, lavados e levados para a biossíntese das nanopartículas.

Figura 9: Fungo *Penicillium rolfsii*



Fonte: Autor

Figura 10: Fungo *Talaromyces verruculosus*

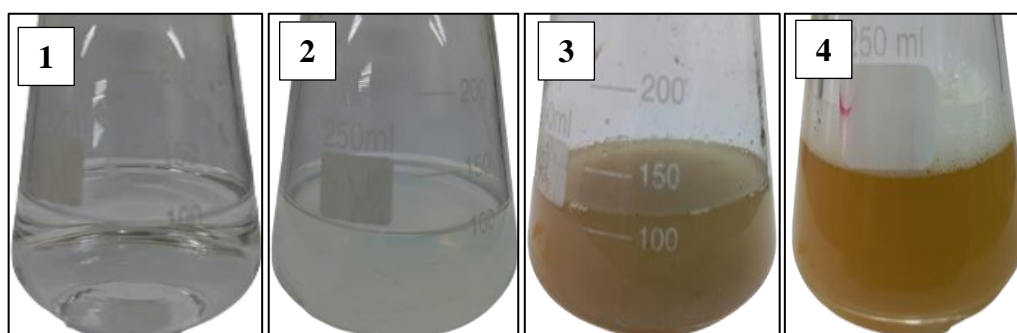


Fonte: Autor

5.3. ESPECTROSCOPIA ULTRAVIOLETA-VISÍVEL (UV-VIS).

As amostras de nanopartícula de ferro (NPFe) tanto pelo método de agitação convencional quanto por autoclave apresentaram bons resultados, levando em consideração as diferenças nas colorações das soluções de biossínteses, que alterou sua cor de incolor para uma coloração marrom no período da biossíntese (Figura 11). Segundo Patra et al. (2017), a mudança na coloração da solução atingida após o período de biossíntese, o qual apresentou cor marrom, é um dos primeiros indicadores evidentes da síntese de nanopartículas de ferro.

Figura 11- 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.



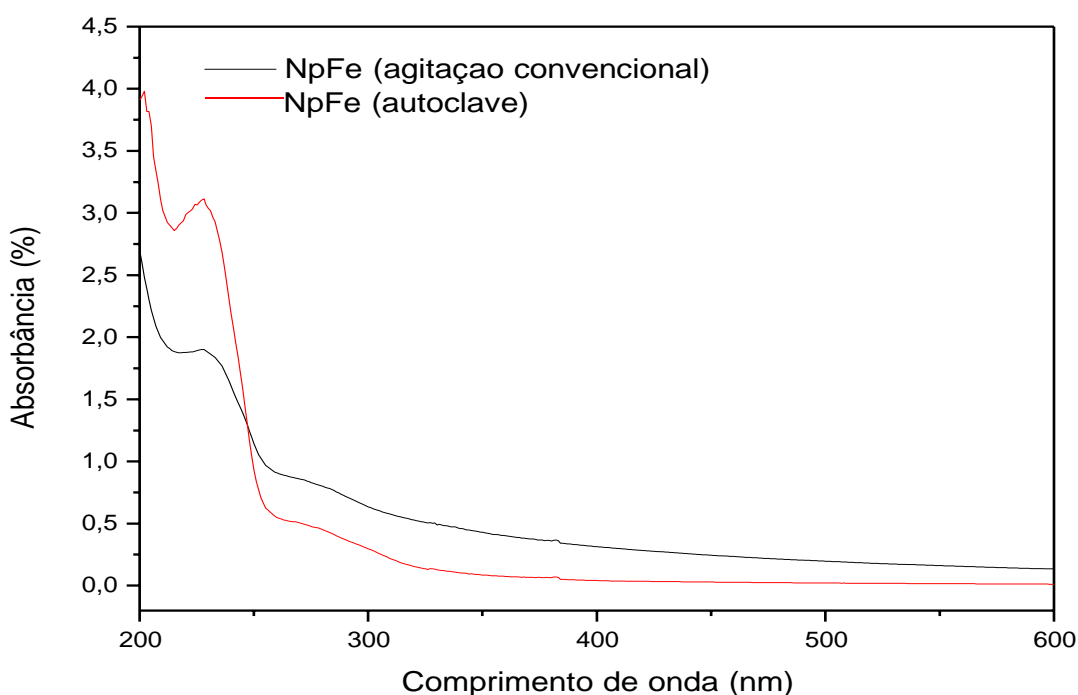
Fonte: Autor (2023)

O surgimento desta coloração, é considerado um indicativo da presença da banda de absorção das nanopartículas de ferro confirmada pelos espectros de UV-visível (Figura 12). Os resultados das amostras da biossíntese das NPFe demonstraram a presença da banda de ressonância plasmônica com 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 200-600 nm como

apresentado na Figura 12. Esse pico de absorção obtido se assemelha à resultados relatados em estudos na literatura que mostraram bandas de absorvância em 238 nm e em 265 nm para NPFe, respectivamente, no espectro ultravioleta-visível (Mohamed, YM, et al., 2014; Devatha et al., 2016).

Além disso, observa-se na figura 12 que o comprimento de onda das nanopartículas de ferro obtidas pelo método autoclave apresentou uma alta intensidade no pico de absorvância da amostra em relação a banda de absorvância no comprimento de onda da amostra de NPFe sintetizada pelo método convencional. De acordo com Vaz et al (2015) quanto maior for o número de moléculas capazes de absorver luz de um certo comprimento de onda, maior será a extensão dessa absorção. Além disso, quanto maior for a eficiência que uma molécula tem de absorver luz de um certo comprimento de onda, maior será a extensão dessa absorção. Logo, isso sugere que as NPFe pelo método autoclave pode possui uma melhor uniformidade, estabilidade e tamanho médio da nanopartícula em relação ao método convencional.

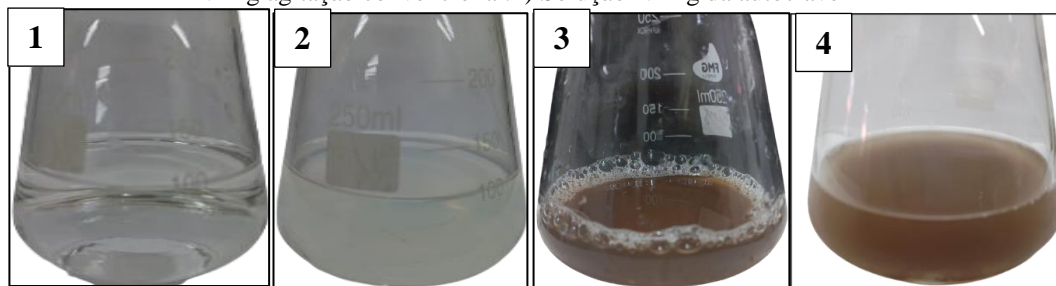
Figura 12 - Espectro de UV-Vis da solução de NPFe pelos métodos utilizados.



Fonte: Autor (2023)

Já nas amostras de nanopartículas de prata obtidas pelos métodos autoclave e convencional mostraram que no meio reacional da solução de NPAg's, ocorreu nitidamente a mudança de sua coloração de incolor para marrom acastanhado (Figura 13). A presença dessa coloração, indica a presença da banda Ressonância de Plasmon de Superfície Localizado (RPSL).

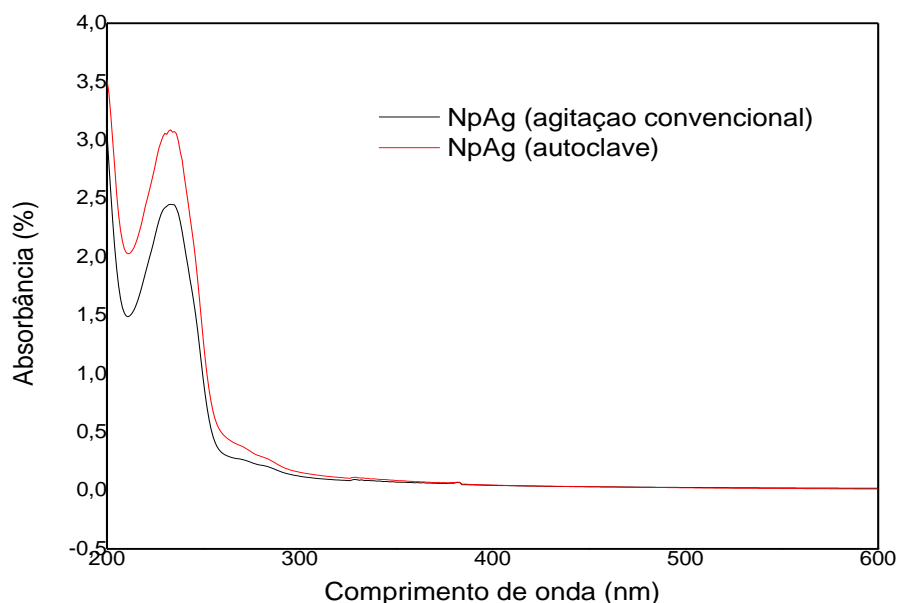
Figura 13 - Solução das NPAg. 1) Solução tampão fosfato. 2) Controle Tampão fosfato + AgNO₃. 3) Solução NPAg agitação convencional. 4) Solução NPAg da autoclave



Fonte: Autor (2023)

Entretanto, tanto pelo método de autoclave, quanto no método de agitação convencional, o sinal característico de NPAg na região de 420 nm no espectro de UV-Vis não foi observado. Sendo alcançado um pico da banda de absorvância máxima em 280 nm em ambos os métodos utilizados das amostras de NPAg. Sugerindo que alguma interferência do meio tenha interferido nesta análise, “mascarando” o sinal característico da nanopartícula de prata (Figura 14). Ramos et al. (2020) utilizando o fungo do gênero *Trichoderma spp*, isolado da região amazônica na biossíntese de NPAg's, encontrou uma banda de absorção em 420 nm Espectroscopia de Ultravioleta-Visível. Gaikwad et al. (2013) utilizando fungos da espécie *Fusarium* isoladas de vários materiais vegetais, também encontrou um pico característico em torno de 420 nm para NPAg na espectroscopia de UV-Vis.

Figura 14 - Espectro de UV-Vis da solução de NPAg pelos métodos utilizados.

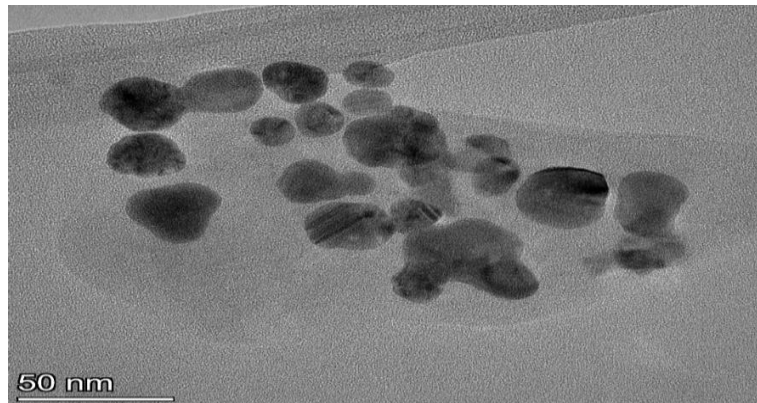


Fonte: Autor (2023)

5.4. MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE TRANSMISSÃO – (TEM)

A imagem gerada por Microscopia Eletrônica de Transmissão sugere que as partículas de prata, apresentam média densidade de agregação com morfologia tipicamente circulares (Figura 15). O tamanho das nanopartículas obtidas variou de 25-10 nm, aproximadamente, características próximas às encontradas por Ramos et al. (2020), que utilizou o fungo *Trichoderma* sp, isolado, típico, da região amazônica, para produzir nanopartículas de prata, no entanto em tamanhos superiores entre 150-260 nm.

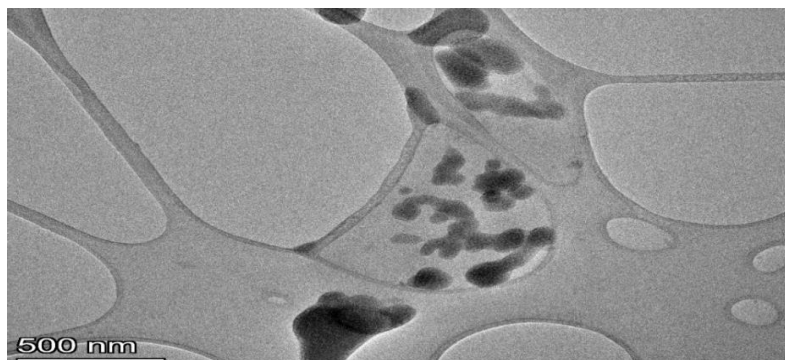
Figura 15 - Imagem por MET de nanopartículas de prata produzida pelo fungo *Penicillium rolfsii*



Fonte: Autor (2023)

Já na análise por TEM das nanopartículas de ferro produzidas pelo fungo *Talaromyces verruculosus*, mostrou que as NPFe não apresentaram uniformidade de morfologia, sendo que o tamanho das nanopartículas foi superior ao de prata, rendendo tamanhos que variaram de 180-40 nm (Figura 16). Bilesky-José et al., obteve nanopartículas de óxido de ferro utilizando *Trichoderma harzianum* com tamanho médio de 207 nm de diâmetro, índice de polidispersidade de 0,45 e potencial zeta de 13 mV. Até o momento, este é o único estudo que descreveu a formação de nanopartículas metálicas por fungos isolados de um ambiente brasileiro, o que reforça a necessidade de maiores aplicações desse método em diferentes metais.

Figura 16 - Imagem por MET de NPs de ferro produzida pelo fungo *Talaromyces verruculosus*.



Fonte: Autor (2023)

6. CONSIDERAÇÕES FINAIS

As pesquisas sobre nanopartículas obtidas a partir de fungos filamentosos tem contribuído para avanços na área de nanotecnologia e sustentabilidade. Diante dos resultados obtidos, conclui-se que os fungos filamentosos das espécies *Penicillium rolfsii* e *Talaromyces verruculosus* foram capazes de biosintetizar nanopartículas de prata e ferro, respectivamente.

As amostras da solução de NPFe obtidas através de processo biológico tanto pelo método autoclave, quanto por agitação convencional apresentaram resultados promissores na biossíntese das NP's, utilizando o fungo amazônico da espécie *Talaromyces verruculosus*, tendo em vista a banda de absorção máxima em 226 nm observada no Espectro UV-Vis. Entretanto, o tamanho de nanopartículas obtidas no TEM variou entre 180-40 nm, o que sugere a necessidade da realização de mais pesquisas utilizando tal fungo e outros metais nesse processo.

Em relação às nanopartículas de prata, embora no Espectro UV-Vis a banda de absorção não tenha atingido o pico em 420 nm de acordo com relatos na literatura científica para esse tipo de NPs. Todavia, os resultados do tamanho das nanopartículas observadas entre 25-10 nm pelas análises na Microscopia Eletrônica de Transmissão, demonstram a eficiência na produção das NPAg pelo fungo *Penicillium rolfsii* para ambos os métodos utilizados.

Por fim, vale ressaltar que o método de obtenção das NPFe e NPAg's por meio da autoclave pode-se considerar "inovador", pois até a presente pesquisa ainda não há registro na literatura científica estudos relacionado as FeNPs e NPAg's obtidas por esses microrganismos através desse método.

REFERÊNCIAS

- AMENDOLA, Vincenzo & MENEGHETTI, Moreno. Laser Ablation Synthesis in Solution and Size Manipulation of Noble Metal Nanoparticles. *Phys. Chem. Chem. Phys.*, 2009.
- AHMED, Shakeel; AHMAD, Mudasir; SWAMI, Babu Lal; IKRAM, Saiqa. A review on plants extracts mediated synthesis of silver nanoparticles for antimicrobial applications: a green expertise. *Journal Of Advanced Research*, [S.L.], v. 7, n. 1, p. 17-28, jan. 2016.
- AHMAD, N. et al., 2015. Phytofabrication of bioinduced silver nanoparticles for biomedical applications. *International Journal of Nanomedicine*, 10, pp.7019–7030.
- AMANN, C. I.; FRANZIER, M. L.; WANG, W. DNA pooling in mutation detection with reference to sequence analys. *Am J Hum Genet.*, v. 66, p. 1689-92, 1995.
- BAQUIÃO, A. C. Fungos e micotoxinas em castanhas do brasil, da colheita a armazenamento. 2012. 142 f. Tese (Doutorado) – Universidade de São Paulo, São Paulo, 2012.
- BALLESTEROS NG, López SP, González JBR, Lastra M, Argüelles MCR. Green synthesis of gold nanoparticles using brown algae *Cystoseira baccata*: Its activity in colon cancer cells. *Colloids Surf, B*, 2017, 153:190-198.
- BILESKEY-JOSÉ, N.; Maruyama, C.; Germano-Costa, T.; Grillo, R.; Fraceto, L.F.; Lima, R. De Biogenic α - Fe₂O₃ Nanoparticles Enhance the Biological Activity of *Trichoderma* against the Plant Pathogen *Sclerotinia sclerotiorum*. *ACS Sustain. Chem. Eng.* 2021, 9, 1669–1683. <https://doi.org/10.1021/acssuschemeng.0c07349>.
- BORRALHO, Teresa da Silva et al. As aplicações da prata na nanotecnologia farmacêutica. 2017. Dissertação (Mestrado). Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias. 2016.
- BOROUMAND 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.
- 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.

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.

CARA, Lorena Fernanda Altava et al. I-057-USO DE NANOPARTÍCULAS DE PRATA PARA A DESINFECÇÃO DA ÁGUA PARA CONSUMO.

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.

CHERNOUSOVA S.; EPPLE M. Silver as antibacterial agent: ion, nanoparticles, and metal. *Angewandte Chemie International Edition*, [S. I.], v. 52, p. 1636- 1653, 2013.

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.

CONTRENAS, Angela Maria Gutierrez. PRODUÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE FILTRO PARA PURIFICAÇÃO DE ÁGUA A PARTIR DE CINZA DE CASCA DE 31 ARROZ IMPREGNADA COM NANOPARTÍCULAS DE PRATA. 2014. 76 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Ciência e Engenharia de Materiais, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2014.

DAS RK, Pachapur VL, Lonappan L, Naghdi M, Pulicharla R, Maiti S, Cledon M, Dalila LMA, Sarma SJ, Brar SK. Biological synthesis of metallic nanoparticles: plants, animals and microbial aspects. *Nanotech for Environ Eng*, 2017, 2(1):18.

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.

DURÁN, Nelson. et al. Potential use of silver nanoparticles on pathogenic bacteria, their toxicity and possible mechanisms of action. *Journal Of The Brazilian Chemical Society*, [S.L.], v. 21, n. 6, p. 949-959, 2010.

ELAMAWI RM, Al- Harbi RE, Hendi AA. Biosynthesis and characterization of silver nanoparticles using *Trichoderma longibrachiatum* and their effect on phytopathogenic fungi. *Egypt J Biol Pest Co*, 2018, 28:28.

FAHMY HM, Mohamed FM, Marzouq MH, Mustafa ABE-D., Alsoudi AM, Ali OA, Mahmed MA e Mahmoud FA 2018. Revisão de métodos verdes de síntese e aplicações de nanopartículas de ferro. *BioNanoScience*. 8(2): 491–503.

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.

FERNANDEZ, M. R. Manual para laboratório de fitopatologia. 1993.

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.

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.

GAIKWAD, Swapnil C., et al. "Triagem de diferentes espécies de *Fusarium* para selecionar espécies potenciais para a síntese de nanopartículas de prata." *Revista da Sociedade Brasileira de Química* 24 (2013): 1974-1982.

GALLETI, Silvia Regina. Introdução à microscopia eletrônica. *Biológico*, São Paulo, v. 65, n. 1/2, p. 33-35, 2003.

GAJBHIYE MB, Kesharwani J, Ingle A, Gade A, Rai M. Fungus-mediated synthesis of silver nanoparticles and their activity against pathogenic fungi in combination with fluconazole. *Nanomed: NBM*, 2009, 5:382-386.

GUZMÁN, Maribel G.; DILLE, Jean; GODET, Stephan. Synthesis of silver nanoparticles by chemical reduction method and their antibacterial activity. *International Journal of Chemical and Biomolecular Engineering*, v.2, p.3, 2009.

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

HULKOTI, N. L., TARANATH, T. C.; Biosynthesis of nanoparticles using microbes—a review. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, v. 121, p. 474-483, 2014.

HUNTER-CEVERA, J.C. The value of microbial diversity. *Current Opinion in Microbiology*, Amsterdam, v. 1, n. 3, p. 278-285, 1998.

HUSSAIN, I., SINGH, N. B., SINGH, A., SINGH, H., & SINGH, S. C. Green synthesis of nanoparticles and its potential application. *Biotechnology letters*, 38(4), 545-560, 2016.

KALYANI P, Lakshmi BKM, Dinesh RG, Hemalatha KPJ. Green synthesis of silver nanoparticles by using *Aspergillus Fumigatus* and their antibacterial activity. *IJRRLS*, 2018 7(1):788-791.

KIM DY, Saratale RG, Shinde S, Syed A, Ameen F, Ghodakea G. Green synthesis of silver nanoparticles using *Laminaria japonica* extract: Characterization and seedling growth assessment. *J Clean Prod*, 2018, 172:2910-2918.

KLASEN, H. J. Historical review of the use of silver in the treatment of burns. I. Early uses. *Burns*, [S. I.], v. 26, p. 117-130, 2010.

KLABUNDE, K. J.; *Nanoscale Materials in Chemistry*, Nova York: Wiley Interscience, 2001, p. 287.

KRISHNARAJ C, Harper SL, Yun S. In Vivo toxicological assessment of biologically synthesized silver nanoparticles in adult Zebrafish (*Danio rerio*). *J Hazard Mater*, 2016, 301:480- 491.

LI, Q.; Liu, F.; Li, M.; Chen, C.; Gadd, G.M. Nanoparticle and nanomineral production by fungi. *Fungal Biol. Rev.* 2022, 41, 31–44. <https://doi.org/10.1016/j.fbr.2021.07.003>.

LIMA, T. H. d. Modificação do cimento ortopédico com nanopartículas de prata. 2011. 127 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Pós-Graduação em Engenharia Metalúrgica e de Minas, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2011.

NEETHU S, Midhun SJ, Radhakrishnan EK, Jyothis M. Green synthesized silver nanoparticles by marine endophytic fungus *Penicillium polonicum* and its antibacterial efficacy against biofilm forming, multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii*. *Microb Pathog*, 2018, 116:263-272.

MARTINS, M. D.; CAMPOS, D. T. Qualidade Microbiológica do Solo Fertirrigado com Vinhaça. *Revista de Ciências Agro-Ambientais*, v. 9, n. 2, p. 273 – 282, 2011.

MARTINS, M. A. Os Nanomateriais e a Descoberta de Novos Mundos na Bancada dos Químicos. *Química Nova*, v. 35, n. 7, p. 1434 – 1446 2016.

METUKU RP, Pabba S, Burra S, Bindu SVSSSL, Gudikandula K, Charya MAS. Biosynthesis of silver nanoparticles from *Schizophyllum radiatum* HE 863742.1: Their characterization and antimicrobial activity. *3 Biotech*, 2014, 4:227-234.

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

MOHANPURIA P, Rana NK, Yadav SK. Biosynthesis of nanoparticles: technological concepts and future applications. *J Nano Res*, 2008, 10(3): 507–517.

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.

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

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: 09 de novembro de 2022.

NISKA K, Zielinska E, Radomski MW, Inkielewicz-Stepniak I. Metal nanoparticles in dermatology and cosmetology: Interactions with human skin cells. *Chem-Biol. Interact*, 2018, 295: 38-51.

OTTONI CA, Ramos CED, de Souza RFB, da Silva SG, Spinace EV, Neto AO. Glycerol and ethanol oxidation in alkaline medium using PtCu/C electrocatalysts. *Int J Electrochem Scien*, 2018, 13: 1893-1904.

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.

PADILHA, Angelo Fernando. Microscopia eletrônica de transmissão. Departamento de engenharia metalúrgica e de materiais da EPUSP, 2020.

PEREIRA, Anna Karla dos Santos. SÍNTESE DE NANOPARTÍCULAS DE PRATA SUPOSTADAS EM MICROESFERAS E FILMES DE QUITOSANA: ESTUDO DA ATIVIDADE ANTIBACTERIANA E APLICAÇÃO NA LIBERAÇÃO CONTROLADA DE IBUPROFENO. 2017. 77 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Biotecnologia, Universidade Federal do Tocantins, Gurupi, 2017.

PITT, J.I. A laboratory Guide to Common Penicillium Species. North Wales, Commonwealth Scientific and Industrial Research Organization – Division of Food Processing, 1991.

POURI, S., MOTAMEDI, H., HONARY, S., & KAZEMINEZHAD, I. Biological Synthesis of Selenium Nanoparticles and Evaluation of their Bioavailability. Brazilian Archives of Biology and Technology, 60(0). Doi:10.1590/1678-4324-2017160452, 2018.

PUGAZHENDHI A, Prabakar D, Jacob JM, Karuppusamy I, Saratale, RG. Synthesis and characterization of silver nanoparticles using *Gelidium amansii* and its antimicrobial property against various pathogenic bacteria. Microb Pathog, 2018, 114:41-45.

RAMOS, MM, dos S. Morais, E., da S. Sena, I. et al. Nanopartículas de prata de células inteiras do fungo *Trichoderma* spp. isolados da Amazônia brasileira. Biotechnol Lett 42 , 833–843 (2020). <https://doi.org/10.1007/s10529-020-02819-y>.

RAJAN A, Rajan AR, Philip D. *Elettaria cardamomum* seed mediated rapid synthesis of gold nanoparticles and its biological activities. OpenNano, 2017, 2:1-8.

RAHEMAN F, Deshumukh S, Ingle A, Gade A, Rai M. Silver nanoparticles: Novel antimicrobial agent synthesized from an endophytic fungus *Pestalotia* sp. isolated from leaves of *Syzygium cumini* (L). Nano Biomed Eng, 2011, 3:174-178.

ROSSELÓ-MORA, R; AMANN, R. 2001. The species concept for prokaryotes. FEMS Microbiology Review, Amsterdam, v. 25, n. 1, p. 39-67, 2001.

ROCHA, Rosiana Rocho et al. Química verde: síntese de nanopartículas de prata utilizando extratos vegetais. 2010.

SANTOS, Miguel Grissai et al. SÍNTESE VERDE DE NANOPARTÍCULAS POR ABLAÇÃO A LASER: CONTROLE DA PRODUÇÃO DE ÓXIDO DE VANÁDIO COLOIDAL PARA APLICAÇÕES EM BIOENSAIOS. CONEM 2012, São Luís, Brasil: 2012.

SABRI, M.A. et al., 2016. Selection of Suitable Biological Method for the Synthesis of Silver Nanoparticles. *Nanomaterials and Nanotechnology*, p.1. Available at: http://www.intechopen.com/journals/nanomaterials_and_nanotechnology/selection-of-suitable-biological-method-for-the-synthesis-of-silver-nanoparticles.

SEEMAN, N.C DNA Nanotechnology. *Materials Today*. Jan. 2003, p.24-29.

SEGALA, K. Síntese e caracterização de nanocompósitos funcionais. 2009. Tese (Doutorado em Química) - Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2009.

SINGH R, Shedbalkar UU, Wadhvani AS, Chopade BA. Bacteriogenic silver nanoparticles: synthesis, mechanism, and applications. *Appl Microbiol Biotechnol*, 2015, 99(11): 4579–4593

SILVA, Franciele Joelma da. Estudo da impregnação de nano partículas de prata em sílica para uso como elemento filtrante em sistemas de purificação de água para depuração de ostras. 2012. Trabalho de Conclusão de Curso (Estágio Supervisionado em Química) - Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2012.

SILVA, Gilcelia Janaina Lino da. Desenvolvimento de um sensor impedimétrico para detecção de *Penicillium sclerotigenum* baseado no compósito Fe₃O₄-hidroclorato de poli (alilamina). 2013. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de Pernambuco.

SONG, H. Y. et al., Fabrication of silver nanoparticles and their antimicrobial mechanisms. *European Cells and Materials*, v. 11, p. 58, 2006.

SOUZA, H. Q. de; OLIVEIRA, L. A. de; ANDRADE, J. S. Seleção de Basidiomycetes da Amazônia para produção de enzimas de interesse biotecnológico. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, v. 28, n. 1, p. 116-124, 2008.

SCHRÖFEL A, Kratošová G, Safarik I, Safarikova M, Raška I, Shor LM. Applications of biosynthesized metallic nanoparticles – A review. *Acta Biomater*, 2014, 10(10): 4023- 4042.

SHIVAKUMAR M, Nagashree KL, Yallappa S, Manjappa S, Manjunath KS, Dharmaprakash MS. Biosynthesis of silver nanoparticles using pre-hydrolysis liquor of Eucalyptus wood and its effective antimicrobial activity. *Enzyme Microb Technol*, 2017, 97:55-62.

TAYLOR TN, KRINGS M, KERP H. *Hassella monospora* nov. gen. et sp., a microfungus from the 400-million-year-old Rhynie chert. *Mycological Research*, 110: 628–632., 2006.

VELUSAMY, P. et al., 2016. Bio-inspired green nanoparticles: Synthesis, mechanism, and antibacterial application. *Toxicological Research*, 32(2), pp.95–102.

XU, X. et. al. Sorption of phosphate onto giant reed-based adsorbent: FTIR, Raman spectrum analysis and dynamic sorption/desorption properties in filter bed, *Bioresource Technology*, [S. I.], , v. 102, p. 5278-5282, 2011.

XU, Li; WANG et al. Silver nanoparticles: synthesis, medical applications and biosafety. *Theranostics*, [S.L.], v. 10, n. 20, p. 8996-9031, 2020. Ivyspring International Publisher. <http://dx.doi.org/10.7150/thno.45413>.

XUE B, He D, Gao S, Wang D, Yokoyama K, Wang L. Biosynthesis of silver nanoparticles by the fungus *Arthroderma fulvum* and its antifungal activity against genera of *Candida*, *Aspergillus* and *Fusarium*. *Int J Nanomedicine*, 2016, 11:1899-1906.

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.

WEBSTER, J.; WEBER, R. 2007, *Introduction to Fungi*. Cambridge University Press. Disponivel em: <http://deskuervis.nic.in/pdf/WEBSTER30521807395.pdf> Acesso em: Acesso em: 09 de novembro de 2022.

WILSON, E.O. The current state of biology diversity. In: WILSON, E.O. (org). *Biodiversity*. Washington: National Academy Press, p. 3-18, 1998.

YEHIA, H. N.; Draper, R. K.; Mikoryak, C.; Walker, E. K.; Baja, P.; Musselman, I. H.; Daigrepoint, M. C.; Dieckmann, G. R.; Pantano, P.; *J. Nanobiotechnol.* P. 5-8, 2007.

ZHAO X, Zhou L, Rajoka, RMS, Yan L, Jiang C, Shao D, Jin, M. Fungal silver nanoparticles: synthesis, application, and challenges. *Critic Rev Biotechnol*, 2017, 38(6): 817–835.

ANEXO

1ª PROPOSTA DE ENSINO: OFICINA TEMÁTICA

NANOTECNOLOGIA E A QUÍMICA: PRODUÇÃO DE NANOPARTÍCULAS COM MATERIAIS ALTERNATIVOS PARA O ENSINO DE QUÍMICA.

1. INTRODUÇÃO.

O fenômeno de integração econômica, social e cultural do espaço geográfico em escala mundial tem influenciado no avanço científico-tecnológico, percebe-se a necessidade de que os professores de Química criem condições favoráveis, e que visem oportunizar momentos de reflexão e discussão das interações entre CTSA, propiciando uma alfabetização científica e tecnológica.

A perspectiva Ciência-Tecnologia-Sociedade-Ambiental (CTSA) é uma proposta didática que se iniciou na década de 1960 como uma forma de se compreender as inter-relações entre Ciência, Tecnologia e Sociedade e que depois originou uma vertente na qual se inclui as consequências dessas interações com o Meio Ambiente, sendo, nesse caso, usualmente denominada de abordagem Ciência-Tecnologia Sociedade-Ambiente (CTSA) (SANTOS, 2007).

Atualmente, uma temática que vem chamando a atenção de pesquisadores no mundo é a Nanotecnologia que a cada dia se faz presente nas mais diversas áreas da sociedade globalizada como no setor farmacêutico, informática, medicina, indústria (têxtil, alimentícia), setor energético, setor agrícola e construção civil. Ela possibilitou o desenvolvimento de nanomateriais e nanopartículas que tornaram os materiais tradicionais mais leves, com maior resistência mecânica e com capacidade de suportar altas temperaturas (CLEBSCH et al., 2017).

O debater sobre temáticas como a Nanotecnologia deve ser mais presente nos espaços escolares, tendo em vista que essa ciência cada vez mais vem crescendo na sociedade contemporânea e impulsionando o desenvolvimento de diversas tecnologias importantes para a sociedade. Para Pereira et al., (2010) faz-se necessária e primordial a valorização de um ensino integrado de Ciências, no qual os conteúdos da Química sejam interrelacionados aos temas da atualidade e aos processos naturais. A temática em questão envolve conhecimentos de várias disciplinas e deve ser trabalhada na Educação Básica, já que os estudantes dispõem hoje de produtos (como raquetes, roupas, celulares, tablets, cartões de memória) que utilizam nanotecnologia em sua fabricação (CLEBSCH et al. 2017).

Associar os conhecimentos aprendidos em sala de aula com cotidiano dos alunos é um dos atuais desafios do ensino de química, na qual é tema de inúmeras pesquisas tendo como característica principal, correlacionar os conhecimentos prévios dos estudantes perante a uma

problemática com os conhecimentos científicos, trabalhando a interdisciplinaridade das ciências existentes. A função social da escola é preparar os estudantes para o exercício da cidadania, promovendo assim a aptidão para intervir e viver em coletividade (BRASIL, 1996). Pensando nesta formação crítico-cidadã dos estudantes, que cada vez mais buscar-se por metodologias de aprendizagem que sejam mais significativas e eficientes, visando despertar o interesse do estudante em aprender, construir o seu senso crítico etc.

Assim, utilizar-se de propostas metodológicas que possibilitem gerar temas de discussões e integração de saberes dentro e fora de sala de aula é crucial para que se promova a conscientização dos estudantes acerca de determinado tema. Neste sentido, utilizar-se de temas geradores e oficinas temáticas que contextualizem os conteúdos de Química associadas a temas de cunho econômico, social, ambiental e tecnológicos transfigura-se em uma eficiente proposta metodológica (MIRANDA, 2015).

Nesse contexto, a presente oficina apresenta como uma proposta de abordagem relacionada ao ensino e aprendizagem de química na perspectiva CTSA utilizando-se de uma metodologia que visa a geração de debates sobre os desenvolvimentos nano tecnológico e a sua importância para a sociedade e ao mesmo tempo trabalhar a interdisciplinaridade entre e as outras ciências, buscando relacionar a química com a realidade na qual os estudantes estão inseridos, proporcionando uma aprendizagem significativa, crítica, conscientizadora e reflexiva.

2. OBJETIVO.

Geral:

Discutir com os estudantes a importância da relação da nanotecnologia com a química e sua importância para a sociedade atual.

Específico:

- ✓ Abordar conceitos sobre a nanotecnologia em sala de aula e seus impactos na sociedade globalizada.
- ✓ Associar a nanotecnologia a química de maneira interdisciplinar.
- ✓ Trabalhar experimento utilizando materiais alternativos.
- ✓ Desenvolver a criatividade e participação dos estudantes em sala de aula.
- ✓ Investigar o processo de obtenção de nanopartículas.
- ✓ Compreender os conceitos básicos dos conteúdos de bioquímica e eletroquímica.

3. PÚBLICO-ALVO

- ❖ Estudantes da 1^a, 2^a e 3^a Série do Ensino Médio.

4. CONTEUDO PROGRAMÁTICO.

CONTEÚDOS DA OFICINA:

- Eletroquímica.
- Bioquímica.
- Nanotecnologia/ Nanociência.

OUTROS CONTEÚDOS SUGERIDOS P/ A OFICINA:

- Substâncias e Misturas.
- Cinética Química.
- Química Orgânica.

5. COMPETÊNCIAS E HABILIDADES.

Com base Referencial Curricular do Ensino Médio Amapaense (RCEMA) que estabelece as competências e habilidades da educação no Estados do Amapá, há várias competências e habilidades que podem ser desenvolvidas dentro da proposta a ser aplicada, entre elas destaca-se a que melhor se enquadra nos objetivos da oficina é: EM13CNT104.

COMPETÊNCIA:

Analisar fenômenos naturais e processos tecnológicos, com base nas interações e relações entre matéria e energia, para propor ações individuais e coletivas que aperfeiçoem processos produtivos, minimizem impactos socioambientais e melhorem as condições de vida em âmbito local, regional e global (BRASIL, 2013).

HABILIDADE:

Avaliar os benefícios e os riscos à saúde e ao ambiente, considerando a composição, a toxicidade e a reatividade de diferentes materiais e produtos, como também o nível de exposição a eles, posicionando-se criticamente e propondo soluções individuais e/ou coletivas para seus usos e descartes responsáveis (BRASIL, 2013).

6. MATERIAL E MÉTODOS.

Primeiro momento: Problematização Inicial.

A aplicação dessa oficina tem início com uma roda de conversa em sala de aula com os alunos para discutir sobre seus saberes relacionados a nanotecnologia e sua importância na atualidade. E para nortear esse debate, serão realizadas algumas perguntas para turma: O que você sabe sobre nanotecnologia? Qual seu significado? Qual sua importância para a sociedade?

Em seguida, a turma será dividida em até 7 grupos de 5 pessoas, cada grupo terá que se reunir em sala de aula para construir um mapa mental sobre a história, conceito e características e a atualidade relacionada ao desenvolvimento de nanotecnologias/nanomaterial, ao final os mapas serão expostos no mural da escola.

Segundo momento: Organização dos Conhecimentos.

Na aula seguinte, será realizada uma atividade experimental roteirizada, denominada de “síntese de nanopartículas por material alternativo”, com os alunos no laboratório da escola (ou em sala de aula), eles desenvolverão coletivamente a atividade, a turma será dividida até 7 grupos de 5 pessoas. O material para a prática experimental será disponibilizado pelos responsáveis da aplicação da oficina (Professor), bem como o roteiro e o procedimento a ser seguido anexado no final desta proposta. Nessa prática, terão contato com diversos materiais alternativos oriundos do dia-a-dia. Durante a prática os alunos serão orientados a fazer suas observações e as anotações. Logo após, ocorrerá a explicação de toda o processo químico visualizado.

Terceiro momento: Aplicação dos conhecimentos.

No terceiro momento, será disponibilizado aos alunos conceitos básicos relacionados a Bioquímica (carboidratos) e eletroquímica (oxirredução) necessário para a compreensão e aprofundamentos dos conhecimentos. Essa exposição acontecerá mediante a utilização de alguns recursos didáticos, com apresentação em slides contendo a exibição de algumas ilustrações, imagens, gifs e vídeos sobre o assunto. Por fim, os estudantes participarão de um jogo virtual de perguntas e respostas pelo APP Kahoot no smartfone ou computador, a respeito de todos os conceitos trabalhados.

7. AVALIAÇÃO.

A avaliação desta oficina deverá ser baseada na observação da participação, satisfação, interesse e dedicação dos estudantes durante a realização das aulas e nas atividades de pesquisa e jogos.

8. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BRASIL, Lei de Diretrizes e Bases. Lei nº 9.394/96, de 20 de dezembro de 1996.
- BRASIL. Diretrizes Curriculares Nacionais da Educação Básica. Brasília: Ministério da Educação. 2013.
- CLEBSCH, Angelisa Benetti; WATANABE, Marcio. Abordagem da nanociência e nanotecnologia a partir da escala. *RENOTE*, v. 15, n. 1, 2017.
- MIRANDA, Anderon Melhor. A aprendizagem significativa de limites de funções por estudantes universitários. 2015. Tese de Doutorado. Universidade do Minho (Portugal).
- PEREIRA, F.D.; HONÓRIO, K.M. e SANNOMIYA, M. Nanotecnologia: desenvolvimento de materiais didáticos para uma abordagem no ensino fundamental. *Química Nova na Escola*, v. 32, n. 2, p. 73-77, 2010.
- SANTOS, W.L.P. Contextualização no ensino de ciência por meio de temas CTS em uma perspectiva crítica. *Ciência & Ensino*, v. 1, 2007.

Professor (a):	
Disciplina: Química	
Aluno(a):	Turma:

ROTEIRO EXPERIMENTAL

“Produção de Nanopartículas por materiais alternativos”

1. OBJETIVO

Observar a síntese de nanopartículas por meio de materiais alternativos do dia a dia dos alunos. Além disso, trabalhar conceitos relacionados a química.

2. MATERIAIS E REAGENTES

MATERIAIS

- ✓ Becker (copos de vidro ou de plástico);
- ✓ Funil simples e papel qualitativo (coador de café ou crivo);
- ✓ Espátulas (Colheres)
- ✓ Agitador magnético (Se houver)

Reagentes

- ✓ Solução de Nitrato de prata;
- ✓ Solução de Oxido de ferro (ferrugem);
- ✓ Poupas de fruta (Laranja, Cupuaçu, Abacaxi, Uva, Caju, Graviola, Maracujá etc.);
- ✓ Água;

3. PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL

- ❖ Inicialmente prepara-se 600 mL de uma solução 0.25 mol/L de nitrato de prata ou oxido de ferro (ferrugem). A solução deve ser preparada preferencialmente com água deionizada e com a dissolução total da massa de metal. A solução deverá ser armazenada em frasco escuro para evitar reações fotoquímicas paralelas e assim perder a sua eficiência para a realização do experimento.
- ❖ Após o preparo da solução de nitrato de prata ou oxido de ferro deixa a polpa congelada derreter. Usando 6 becker (copo de vidro ou de plástico) de 250mL adicionar 50 mL de poupa de fruta comercial em cada um. A polpa descongelada em seguida será filtrada em

funil simples e papel qualitativo (coador de café ou crivo) a fim de reter uma parte dos sólidos presentes na polpa.

- ❖ Na sequência lava-se a polpa retida no filtro para evitar perdas de material e com água deionizada completa-se a solução obtida da polpa de fruta até 100 ml. Em seguida utilizando agitador magnético (ou manualmente) realiza-se a adição gradual em forma de gotejamento de 100 ml da solução de nitrato de prata com 100 ml da solução da polpa da fruta obtida.
- ❖ Mantem-se então sob a agitação de forma constante até a observação de alterações visuais na coloração da mistura obtida. Ao obter-se a mudança de cor visual encerra-se a síntese e anota-se os resultados obtidos.

REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA

SIMOMUKAY, Elton. Nanotecnologia e Frutas: revelando o nanomundo através da formação de nanopartículas de prata. *Cadernos de Ensino, Ciências & Tecnologia*, v. 2, n. 4, p. 17-28, 2021.

2ª PROPOSTA DE ENSINO: OFICINA TEMÁTICA

MICROORGANISMO: OS FUNGOS, A SUA IMPORTANCIA E IMPACTOS NO MEIO AMBIENTE E NA VIDA HUMANA.

INTRODUÇÃO.

Dentre os seres vivos que encontramos no planeta Terra, os fungos formam um dos grupos com a maior biodiversidade, sendo o segundo maior clado entre os eucariotos (SILVA et al., 2017). Os Fungos são organismos eucarióticos, unicelulares ou pluricelulares, em que a maioria das espécies apresentam parede celular composta por quitina, são heterótrofos, com nutrição por absorção auxiliada pela secreção de enzimas extracelulares, a reprodução assexuada ocorre por meio de esporos, flagelados ou sem flagelo, e a sexuada envolvendo a participação de gametas masculinos e femininos (MOORE-LANDECKER, 1990). Estima-se que existam entre 2,2 e 3,8 milhões de espécies de fungos na natureza, englobando tanto organismos macroscópicos e multicelulares, como cogumelos, quanto organismos microscópicos e ou unicelulares, como leveduras (HAWKSWORTH; LÜCKING, 2017).

A microbiologia é um ramo da biologia dedicado ao estudo dos microrganismos, que são seres vivos muito pequenos, geralmente invisíveis a uma simples vista, como bactérias, vírus, fungos, protozoários e algas microscópicas. Esses microrganismos desempenham um papel fundamental na vida da Terra, já que estão presentes em uma ampla variedade de ambientes e desempenham funções essenciais na saúde, na enfermidade, na agricultura, na indústria e no meio ambiente.

Estudar as características desses microrganismos se faz necessário para todos, entretanto, a realidade é diferente nem todas as pessoas na sociedade ter tais conhecimentos, nesse sentido, é importante que seja discutir dentro de sala de aula de forma contextualizada para que os estudantes do Ensino Médio possam compreender seus conceitos, benefícios e maléficoss desses microrganismos para o meio ambiente e os seres vivos.

Atualmente, com a nova atualização da Base Comum Curricular (BNCC) que dividiu as disciplinas dentro de 4 grandes áreas do conhecimento, entre elas a Ciência da Natureza que inclui as disciplinas de Química, Biologia e Física possibilitando o trabalho transversal entre as disciplinas e conseqüentemente “facilitando” aproximação entre a relação dos conteúdos teóricos com a prática.

Neste cenário, o presente trabalho apresenta uma proposta de abordagem para o ensino e aprendizagem de Ciências da Natureza na perspectiva de agregar conhecimentos científicos aos saberes dos estudantes sobre a temática em questão, utilizando-se de uma metodologia que tem como intuito discutir sobre os conceitos, importância e impactos de microrganismo, em

especial os fungos na sociedade e interrelacionar ao mesmo tempo as outras ciências além da biologia, com por exemplo a química e até a própria física, proporcionando uma aprendizagem mais significativa.

9. OBJETIVO.

Geral:

Apresentar e discutir os conceitos, a importância e os impactos de microrganismos, principalmente os fungos, na sociedade.

Específico:

- ✓ Abordar conceitos sobre a microbiologia em sala de aula e seus impactos na sociedade globalizada.
- ✓ Trabalhar a interdisciplinaridade entre as disciplinas que inclui a área de ciências da natureza (Física, Biologia e Química).
- ✓ Trabalhar experimento utilizando materiais alternativos.
- ✓ Desenvolver a criatividade e participação dos estudantes em sala de aula.
- ✓ Compreender os conceitos básicos, a importância e impactos dos microrganismos para a sociedade.

10. PÚBLICO-ALVO

- ❖ Estudantes da 1^a, 2^a e 3^a Série do Ensino Médio.
- ❖ Estudantes da 6^a, 7^a, 8^a e 9^a Ano do Ensino Fundamental.

11. CONTEUDO PROGRAMÁTICO.

CONTEÚDOS DA OFICINA:

- Bioquímica.
- Microbiologia.

12. COMPETÊNCIAS E HABILIDADES.

Com base Referencial Curricular do Ensino Médio Amapaense (RCEMA) que estabelece as competências e habilidades da educação no Estado do Amapá, há várias competências e habilidades que podem ser desenvolvidas dentro da proposta a ser aplicada, entre elas destaca-se a que melhor se enquadra nos objetivos da oficina é: EM13CNT104.

COMPETÊNCIA:

Analisar fenômenos naturais e processos tecnológicos, com base nas interações e relações entre matéria e energia, para propor ações individuais e coletivas que aperfeiçoem processos produtivos, minimizem impactos socioambientais e melhorem as condições de vida em âmbito local, regional e global (BRASIL, 2013).

HABILIDADE:

Avaliar os benefícios e os riscos à saúde e ao ambiente, considerando a composição, a toxicidade e a reatividade de diferentes materiais e produtos, como também o nível de exposição a eles, posicionando-se criticamente e propondo soluções individuais e/ou coletivas para seus usos e descartes responsáveis (BRASIL, 2013).

13. MATERIAL E MÉTODOS.**Primeiro momento: Problematização Inicial.**

A proposta de oficina tem início em sala de aula com os alunos sendo indagados sobre seus conhecimentos prévios relacionados aos microrganismos. E para nortear esse debate, serão realizadas algumas perguntas para turma de maneira aleatória, exemplo das perguntas: Você já ouviu falar sobre microrganismos? Sabe o que são os microrganismos? Onde podemos encontrar fungos? O que é um fungo? Onde podemos encontrar fungos no nosso dia a dia? Qual sua importância para a vida e a sociedade? Quais os tipos de fungos existentes? Quais seus impactos na natureza?

Logo depois, a turma deverá ser dividida em até 8 grupos de 5 pessoas, cada grupo deverá se reunir e recebera material de coleta de amostras sintomáticas (matéria-prima) ao redor da escola que possa conter fungos (plantas, alimentos, solo, flores, arvores, folhas, etc.). Na sequência os grupos vão identificar seus materiais coletados e guarda em locais apropriados para a próxima aula.

Segundo momento: Organização dos Conhecimentos.

Neste momento, realiza-se uma atividade experimental de cultivo dos possíveis fungos encontrados pelos grupos da aula anterior no laboratório da escola (ou em sala de aula). O material para a prática experimental será disponibilizado pelos responsáveis da aplicação da oficina (Professor), bem como o roteiro e o procedimento a ser seguido anexado no final desta proposta. Nessa prática, os alunos terão contato com diversos materiais alternativos oriundos do dia-a-dia. Durante a prática os alunos serão orientados fazer todas as anotações possíveis do que será realizado.

Terceiro momento: Aplicação dos conhecimentos.

No terceiro momento, serão apresentados aos alunos uma breve introdução sobre a microbiologia, ou microrganismos, dando destaque para os fungos, suas classes, importância e impactos ambientais e humanos positivos e negativos para a sociedade. Essa exposição acontecerá mediante a utilização de alguns recursos didáticos, com apresentação em slides contendo a exibição de alguns textos, ilustrações, imagens, gifs e vídeos sobre o assunto.

Logo após, os estudantes deverão ser levados para o laboratório (ou em sala de aula) para observarem a olho nu os microrganismos cultivados na aula experimental anterior e compararem com as imagens de fungos disponíveis na literatura. E por fim, em uma outra aula os estudantes deverão em grupos organizar um seminário para apresentar os resultados daquilo que observaram, além disso, cada grupo deverá fazer uma breve abordagem sobre os outros tipos de microrganismos existentes na natureza.

14. AVALIAÇÃO.

A avaliação desta oficina deverá ser baseada na observação da participação, satisfação, interesse e dedicação dos estudantes durante a realização das aulas e na atividade experimental e apresentação.

15. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BRASIL, Lei de Diretrizes e Bases. Lei nº 9.394/96, de 20 de dezembro de 1996.
- BRASIL. Diretrizes Curriculares Nacionais da Educação Básica. Brasília: Ministério da Educação. 2013.
- HAWKSWORTH, D. L. and Lücking, R. (2017). Fungal Diversity Revisited: 2.2 to 3.8 Million Species. *Microbiology spectrum* 5 (4). doi: 10.1128/microbiolspec.FUNK-0052-2016.
- MOORE-LANDECKER, E. *Fundamentals of the Fungi*. 4a ed. Prentice Hall, Inc.: New Jersey, 1996.
- SILVA, Aline da Costa; MENOLLI JUNIOR, Nelson. Análise do Conteúdo de Fungos nos Livros Didáticos de Biologia do Ensino Médio. *Revista Ciências & Ideia*, v.7, n.3, p. 235- 273, 2016. doi: <http://dx.doi.org/10.22407/2176-1477/2016.v7i3.619>

Professor (a):	
Disciplina: Química	
Aluno(a):	Turma:

ROTEIRO EXPERIMENTAL

CULTIVO MICROBIOLÓGICO DE FUNGOS

1. OBJETIVO

Cultivar fungos provenientes da coleta de matéria-prima da natureza pelos estudantes.

2. MATERIAIS E REAGENTES

MATERIAIS

- ✓ Panela de pressão;
- ✓ Peneira;
- ✓ Béquer de 500 ml (recipiente de vidro);
- ✓ Fonte de calor (Lamparina Comercial);
- ✓ Colher de plástico;
- ✓ Placas de petri (plástica comercial);
- ✓ haste flexível com pontas de algodão;
- ✓ Plástico filme;

REAGENTES

- ✓ Fungos
- ✓ Batata inglesa;
- ✓ Repolho roxo;
- ✓ Água 500 ml;
- ✓ Açúcar;
- ✓ Sal;
- ✓ Gelatina incolor;
- ✓ Álcool comum (álcool 70%);

3. PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL

- **PREPARO DO MEIO DE CULTURA ALTERNATIVO**

- ❖ **Primeiramente, corta-se a batata inglesa e o repolho roxo seja despejando-a em uma panela de pressão junto aos 500 ml de água. Levamos a panela ao fogão para que**

houvesse a fervura da água e conseqüentemente, o amido da batata e as antocianinas sejam incorporados à solução. O amido serviria como fonte nutricional para os fungos presentes no meio de cultura, enquanto as antocianinas serviriam como indicadoras do potencial hidrogeniônico (pH) das substâncias liberadas pelos microrganismos cultivados.

(Observação: Esse procedimento deve ser preferencialmente realizado pelo professor em casa e levado pronto para a escola ou realizado pelo professor horas antes da aula na cozinha da escola).

❖ Após o preparo da solução inicial, com o auxílio da peneira, despeja-se o líquido no béquer de 500 ml (recipiente de vidro), sendo essencial a todo o momento próximo de uma fonte de calor acesa (Lamparina Comercial) esteja localizado ao lado da vidraria, impedindo assim, a contaminação do líquido.

OBSERVAÇÃO: MUITO CUIDADO COM A FONTE DE CALOR.

❖ Para término da primeira etapa da prática, adiciona-se na solução uma colher de sopa de açúcar, meia colher de chá de sal e o conteúdo dos três pacotes de gelatina incolor, assim, o meio de cultura obterá açúcares simples, sais minerais, proteínas e consistência suficiente para favorecer o desenvolvimento e a reprodução dos organismos eucariontes a serem inoculados no mesmo.

❖ Uma vez terminada a solução essencial para o desenvolvimento dos fungos, a despeja-se em placas de petri (plástica comercial), preenchendo cerca de 50% do volume das mesmas, assim evitando o derramamento do meio de cultura por excesso ou junção entre a base e a tampa quando do endurecimento do mesmo.

❖ Após a adição da solução nas placas de petri, deve-se cobrir a base com a tampa, inviabilizando assim a contaminação do substrato por fungos e/ou presentes no ar, para tal, é essencial que a fonte de calor esteja acesa ao lado da vidraria a todo o momento.

❖ O procedimento subsequente consiste na inoculação dos fungos no meio de cultural, entretanto, para realiza-lo, é necessário que o substrato endureça, seja naturalmente à temperatura ambiente (processo mais lento) ou na geladeira do laboratório (processo mais rápido e menos viável).

• PROCESSO DE DESINFESTAÇÃO DA MATÉRIA-PRIMA

- ❖ Primeiramente, realiza-se a coleta da matéria-prima com sintoma (plantas, alimentos, solo, flores, arvores, folhas, etc.) ao entorno da escola.
- ❖ Depois usando uma tesoura corta-se a matéria prima em pequenos pedaços. Pegue 4 recipientes de plástico e adicione 50 mL no primeiro recipiente a solução de hipoclorito de sódio a 2%, no outro recipiente adicione 50 mL de álcool 70%, nos outros dois adicione 50 mL de água em cada um.
- ❖ Adicione os pedaços da matéria-prima no recipiente com hipoclorito de sódio e marque o tempo de 3 minutos no relógio, após isso, retire com a pinça os pedaços da matéria-prima e transfira para o recipiente contendo álcool 70%. Repita o mesmo procedimento para os outros recipientes de plásticos.
 - ❖ Logo depois, tire a matéria-prima do último recipiente e transfira para um papel toalha.
- ❖ Na última etapa, cada grupo receberá duas placas de petri para inoculação da matéria-prima que foi coletada da natureza. Junto à placa, receberão também uma haste flexível com pontas de algodão estéreis levemente embebecida por álcool comum (álcool 70%) para que com a mesma pegar a matéria-prima coletada.
- ❖ Após a inoculação, nas placas de petri serão enrolados em plástico filme e reservadas à temperatura ambiente para que os fungos possam se reproduzir durante 7 dias, formando colônias facilmente visíveis aos educandos.
- ❖ Em outro momento após 7 dias, utiliza-se microscópio (caso tenha na escola) ou uma lupa para que os estudantes possam visualizar microscopicamente os fungos.

REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA

BARBOSA, Débora Mylanne Santana; PEREIRA, Gabriel Soares. o cultivo de bactérias como proposta para o ensino da microbiologia.

MACIEL, A. N. C; SILVA, G. S. M. Microrganismos na prática: aprendizagem sobre microbiologia em ambiente não formal de educação. Anais do Congreso Iberoamericano de Ciencia, Tecnología, Innovación y Educación, Buenos Aires – Argentina, 2014. Disponível em: <www.oei.es/historico/congreso2014/memoriactei/1066.pdf>.