

Biossíntese de nanopartículas de prata através do fungo *Aspergillus niger*

Silver nanoparticles biosynthesis through Aspergillus niger fungi

RESUMO

O trabalho em questão propõe a biossíntese de nanopartículas de prata através do fungo *Aspergillus niger*, conhecido pela sua capacidade de promover a redução química de alguns metais como a prata de maneira natural e espontânea. O procedimento pode ser dividido em duas etapas: a etapa de obtenção das células do fungo e a etapa de biossíntese. A primeira consiste no crescimento do fungo em placas de petri, seguida pela separação dos esporos e crescimento da biomassa em meio líquido, resultando no filtrado de células. O filtrado de células é então usado para a segunda etapa, onde o mesmo é misturado à uma solução de nitrato de prata, a qual sofrerá o processo de redução química, resultando na nanopartícula de prata, caracterizada pela mudança de coloração na solução, de turva esbranquiçada para tons de amarelo a marrom. Para a caracterização do processo foi realizada a leitura por espectroscopia UV-vis, que confirmou a presença da banda de ressonância de plasmon de superfície. Todas as amostras apresentaram resultado positivo para a síntese de nanopartículas, tendo duas delas com absorvância maior no ponto de interesse: amostra NP32 e a amostra NP12.

PALAVRAS-CHAVE: Biossíntese. Nanopartículas de prata. *Aspergillus niger*.

ABSTRACT

This paper proposes the biosynthesis of silver nanoparticles through a fungi called *Aspergillus niger*, known for its capacity to naturally and spontaneously cause a chemical reduction of some metals like silver. The procedure can be divided in two phases: the obtention of the fungi cells and the biosynthesis. The first phase consists on the growth of the fungi in petri plates and separation of the spores followed by growth of the biomass in liquid media, resulting in a cell filtrate. The cell filtrate is then required for the second phase, in which the filtrate is merged with a solution of silver nitrate, the compost that will suffer the chemical reduction process, originating the silver nanoparticles, characterized by a change of the coloring in the solution, from a turbid white color to shades of yellow to brown. For the characterization of the process an UV-vis spectroscopy was made, and confirmed the presence of the superficial plasmon resonant peak. All the samples had a positive result for silver nanoparticle synthesis, with two of them being of our interest with a higher ratio of absorbance: samples NP32 and NP12.

KEYWORDS: Biosynthesis. Silver nanoparticles. *Aspergillus niger*.

FLAVIA SATIE NOGUTI

Flavianoguti@alunos.utfpr.edu.br

Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Toledo, Paraná, Brasil

EDUARDO BITTENCOURT

SYDNEY

eduardosydney@utfpr.edu.br

Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Ponta Grossa, Paraná, Brasil

RENATO EISING

renatoeising@utfpr.edu.br

Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Toledo, Paraná, Brasil

Recebido: 30 ago. 2018.

Aprovado: 04 out 2018.

Direito autorial:

Este trabalho está licenciado sob os termos da Licença Creative Commons-Atribuição 4.0 Internacional.



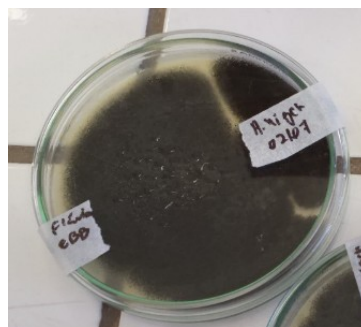
INTRODUÇÃO

A nanotecnologia atrelada a outras áreas tecnológicas vem sendo amplamente explorada nos últimos tempos, principalmente quando combinada às áreas biológicas. As nanopartículas metálicas (M-NPs) sintetizadas por maneiras alternativas, como a biossíntese, vem sendo um domínio muito estudado por não precisarem de grandes investimentos no processo. Segundo DE MELO, G. B. (2015), por exemplo, "o uso da síntese verde não utiliza reagentes e solventes que possam provocar toxicidade tanto no produto da síntese quanto no resíduo do processo". De modo geral, as propriedades atribuídas às nanopartículas estão ligadas particularmente ao procedimento realizado para a síntese das mesmas, como afirma DOPAZO, P. J. (2017, p. 166-168), que sugere que "o processo de síntese confere às nanopartículas diferentes formas e tamanhos, resultando em diversas aplicações nas mais diferentes áreas tecnológicas". O trabalho em questão averigua a síntese de nanopartículas de prata mediada pelo fungo *Aspergillus niger*. O procedimento é simples, podendo ser dividido na etapa de obtenção das células do fungo e na biossíntese em si. A síntese ocorre de maneira extracelular, através da redução química do íon nitrato (NO_3^-) ao nitrito (NO_2^-) mediada pela enzima nitrato redutase, naturalmente presente no fungo.

MÉTODOS

O fungo foi primeiramente cultivado em meio sólido, utilizando o ágar batata dextrose (PDA, Himedia). A incubação foi realizada em estufa, por aproximadamente 7 dias à aproximadamente 27°C. A separação dos esporos foi realizada quando o fungo ocupou completamente a placa e apresentar esporos verde-escuros em sua superfície, como mostra a Figura 1.

Figura 1 – Crescimento total do fungo *Aspergillus niger*.



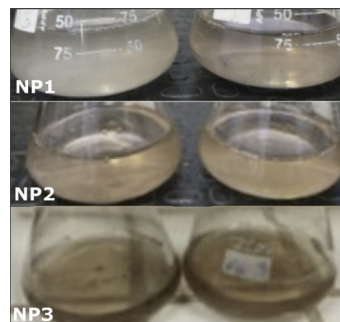
Fonte: Elaborada pelo autor.

Para a separação dos esporos, a colônia foi inundada com aproximadamente 20 mL de soro fisiológico e 0,5 mL de Tween 20 em meio estéril. A solução obtida foi então filtrada com algodão previamente esterilizado para a obtenção da suspensão de esporos. Para este trabalho, a incubação da suspensão de esporos foi feita em duplicata para 1,5, 1,0 e 0,5 mL de esporos em Erlenmeyers com 100 mL de meio glucose-caseína hidrolisada (GC, Sigma-Aldrich) em *shaker* à 27°C e 150 rpm por aproximadamente 72 horas. Para a obtenção do filtrado de células deve ser observada a presença de biomassa nas amostras. Os experimentos foram separados conforme a quantidade de esporos utilizados na produção da biomassa, sendo 1,5 mL de esporos equivalente a NP1, 1,0 mL de esporos a NP2 e 0,5 mL de esporos a NP3.

O filtrado de células é obtido através da peneiração da biomassa presente nas amostras e adição de 100 mL de água destilada previamente esterilizada incubados a

27°C por 48 horas. No presente trabalho, foi feita a média aritmética para os pesos de biomassa obtidos em NP1, NP2 e NP3, sendo o de NP1 equivalente a 7,8 g, NP2 a 8,65 g e NP3 a 8,72 g. Para a biossíntese, 50 mL de filtrado de células foram misturados com 10 mL de nitrato de prata (AgNO_3) à concentração de 10 mM. As seis amostras foram então incubadas em um *shaker* à temperatura de 28°C por 24 horas, fora do alcance da luz para evitar a reação de redução fotoquímica da prata. Ao final da reação, conforme a Figura 3, as soluções tem coloração em tons de marrom.

Figura 3 - Soluções de nanopartículas.



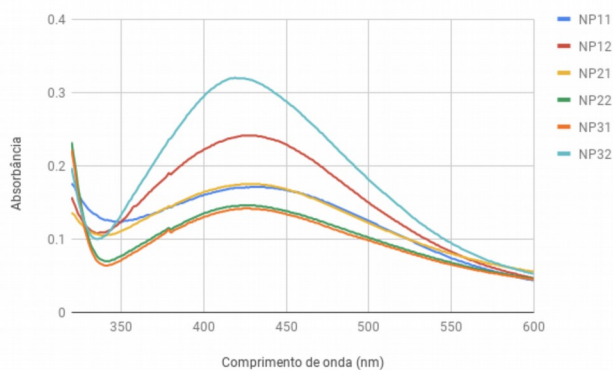
Fonte: Elaborada pelo autor.

As soluções foram então purificadas por processo de centrifugação em tubos de *falcon* de 30 mL à 4000 rpm por um total de 40 minutos. O sobrenadante contendo as nanopartículas de prata é então separado e caracterizado por espectrometria de UV-vis entre 300 e 800 nm, sendo usada a água destilada como branco. As amostras analisadas foram separadas em NP11 e NP12 para NP1, NP21 e NP22 para NP2 e NP31 e NP32 para NP3.

RESULTADO

Segundo VIGNESHWARAN et al. (2007) "espera-se que nanopartículas de prata esféricas apresentem um pico máximo de absorção em torno de 420 nm", o que pode ser observado em todas as amostras. O resultado, no entanto, se apresentou particularmente melhor em duas amostras, a NP32 e NP12, conforme apresentado na Figura 4.

Figura 4 – Espectro UV-vis das AgNPs de maior absorbância NP32 e NP12.

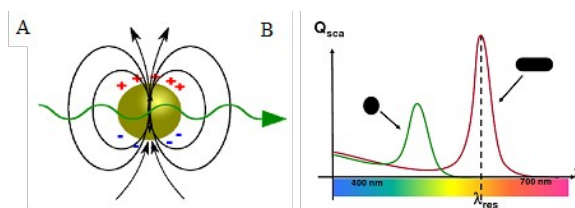


Fonte: Elaborada pelo autor.

DISCUSSÃO

As nanopartículas de metais nobres, tais como prata, ouro e platina, apresentam uma banda de ressonância de plasmon de superfície (SPR), a qual tem sua origem na interação com a radiação eletromagnética, a qual causa oscilações nos elétrons de condução, induzindo a formação de momentos de dipolo pelo carregamento da superfície, como consta na Figura 5. Uma força de restauração nas nanopartículas tenta compensar este efeito, resultando em um comprimento de onda ressonante único que aparece na região do espectro eletromagnético em torno dos 420 nm para nanopartículas esféricas.

Figura 5 - A – Em metais nobres a luz induz oscilações coletivas de elétrons (plasmons). B – A eficiência de espalhamento e o comprimento de onda de ressonância são dependentes do tamanho e forma da partícula além da vizinhança da nanopartícula.



Fonte: Adaptado de TOSHIMA, 2003.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Através dos resultados obtidos pode-se afirmar que a biossíntese de nanopartículas de prata através do fungo *Aspergillus niger* é possível e plausível de melhoramentos, como condições de síntese ótimas e relação de esporos/biomassa para melhor controle da síntese. Entre as perspectivas para este trabalho estão o manuseamento de outros fungos, como *Aspergillus flavus* para o processo de biossíntese, análise de diferentes variáveis de cultivo, bem como outros métodos de caracterização, como análise por microscopia eletrônica de transmissão (TEM).

REFERÊNCIAS

DE MELO, G. B. **Síntese verde e caracterização de nanopartículas de prata usando extrato aquoso de erva mate (*Ilexparaguariensis*)**. 2015. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Engenharia de Alimentos) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Campo Mourão, 2015.

VIGNESHWARAN, N.; ASHTAPUTRE, N. M.; VARADARAJAN, P. V.; NACHNANE, R.P.; PARALIKAR, K. M.; BALASUBRAMANYA, R. H. Biological Synthesis of silver nanoparticles using the fungus *Aspergillus flavus*, ELSEVIER, Materials Letters, 61, 1413-1418, 2007.

TOSHIMA, N. Metal Nanoparticles for Catalysis. In: LIZ-MARZÁN, M. L.; KAMAT, V. P. NANOSCALE MATERIALS. Estados Unidos: Kluwer Academic Publishers, 2003. p. 81-94.

MOHAREKAR, T. S. et al. EXPLOITATION OF *ASPERGILLUS NIGER* FOR SYNTHESIS OF SILVER NANOPARTICLES AND THEIR USE TO IMPROVE SHELF LIFE OF FRUITS AND TOXIC DYE DEGRADATION. International Journal of Innovative Pharmaceutical Sciences and Research, Índia, p. 2106-2118, set. 2014.

DOPAZO, P. J. Application of Nanomaterials in Nanomedicine, Dermatology and Cosmetics by Endor Nanotechnologies. In: ZIVIC, Fatima; DOPAZO, P. J. Supporting University Ventures in Nanotechnology, Biomaterials and Magnetic Sensing Applications. Espanha: Springer International Publishing AG 2018, 2017. p. 165-170.

AGRADECIMENTOS

Os agradecimentos vão para a Fundação Araucária, PIBIC, pelo auxílio financeiro fornecido e à UTFPR-TD pela disponibilização de local, equipamento/materiais e reagentes.