

ISSN 2175-8395

Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento

REDE DE NANOTECNOLOGIA APLICADA AO AGRONEGÓCIO

ANAIS DO VI WORKSHOP – 2012

Maria Alice Martins
Morsyleide de Freitas Rosa
Men de Sá Moreira de Souza Filho
Nicodemos Moreira dos Santos Junior
Odílio Benedito Garrido de Assis
Caue Ribeiro
Luiz Henrique Capparelli Mattoso

Editores

Fortaleza, CE
2012

Exemplares desta publicação podem ser adquiridos na:

Embrapa Instrumentação

Rua XV de Novembro, 1452,
CEP 13560-970 – São Carlos, SP
Fone: (16) 2107-2800
Fax: (16) 2107-2902
<http://www.cnpdia.embrapa.br>
E-mail: sac@cnpdia.embrapa.br

Embrapa Agroindústria Tropical

Rua Dra. Sara Mesquita, 2270,
CEP 60511-110 – Fortaleza, CE
Fone: (85) 3391-7100
Fax: (85) 3391-7109
<http://www.cnpat.embrapa.br>
E-mail: sac@cnpat.embrapa.br

Comitê de Publicações da Embrapa Instrumentação

Presidente: João de Mendonça Naime
Membros: Débora Marcondes Bastos Pereira Milori, Washington Luiz de Barros Melo, Sandra Protter Gouvêa, Valéria de Fátima Cardoso.
Membro suplente: Paulo Sérgio de Paula Herrmann Júnior

Comitê de Publicações da Embrapa Agroindústria Tropical

Presidente: Antonio Teixeira Cavalcanti Júnior
Secretário-Executivo: Marcos Antonio Nakayama
Membros: Diva Correia, Marlon Vagner Valentim Martins, Arthur Cláudio Rodrigues de Souza, Ana Cristina Portugal Pinto de Carvalho, Adriano Lincoln Albuquerque Mattos e Carlos Farley Herbster Moura

Supervisor editorial: Dr. Victor Bertucci Neto

Capa: Mônica Ferreira Laurito, Pedro Hernandes Campaner

Imagens da capa:

Imagem de MEV-FEG de Titanato de potássio – Henrique Aparecido de Jesus Loures Mourão, Viviane Soares

Imagem de MEV de Eletrodeposição de cobre – Luiza Maria da Silva Nunes, Viviane Soares

Imagem de MEV de Colmo do sorgo – Fabrício Heitor Martelli, Bianca Lovezutti Gomes, Viviane Soares

Imagem de MEV-FEG de HPMC com nanopartícula de quitosana – Marcos Vinicius Lorevice, Márcia Regina de Moura Aouada, Viviane Soares

Imagem de MEV-FEG de Vanadato de sódio – Waldir Avansi Junior

Imagem de MEV de Fibra de pupunha – Maria Alice Martins, Viviane Soares

1ª edição

1ª impressão (2012): tiragem 300

Todos os direitos reservados.

A reprodução não-autorizada desta publicação, no todo ou em parte, constitui violação dos direitos autorais (Lei nº. 9.610).

CIP-Brasil. Catalogação na publicação.

Embrapa Instrumentação

Anais do VI Workshop da rede de nanotecnologia aplicada ao agronegócio 2012 – São Carlos: Embrapa Instrumentação; Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical, 2012.

Irregular

ISSN: 2175-8395

1. Nanotecnologia – Evento. I. Martins, Maria Alice. II. Rosa. Morsyleide de Freitas. III. Souza Filho, Men de Sá Moreira de. IV. Santos Junior, Nicodemos Moreira dos. V. Assis, Odílio Benedito Garrido de. VI. Ribeiro, Caue. VII. Mattoso, Luiz Henrique Capparelli. VIII. Embrapa Instrumentação. IX. Embrapa Agroindústria Tropical.



AVALIAÇÃO DA GENOTOXICIDADE DAS NANOFIBRAS, COM A UTILIZAÇÃO DO TESTE COMETA

Cintia Rodrigues Maruyama¹, Eliangela M. Teixeira², Ana Carolina Corrêa², Luiz Henrique Caparelli Mattoso², Renata Lima¹, Leonardo Fernandes Fraceto³

¹ UNISO – Universidade de Sorocaba, ² Embrapa, Laboratório Nacional de Nanotecnologia da Agricultura (LNNA), ³ UNESP – Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho
cintiamaruyama@hotmail.com

Projeto Componente: PC6

Plano de Ação: PA6

Resumo

As nanopartículas podem ser aplicadas em diversas áreas e nos mais diversos produtos, nos últimos anos a presença de nanoestruturas em produtos comercialmente disponíveis é prática comum. Entre as nanoestruturas encontramos as nanofibras que são compostas por polímeros com diâmetro inferior a 0,5 µm. Embora as aplicações das nanoestruturas tenham aumentado, poucas pesquisas são realizadas na tentativa de caracterizar seu potencial de toxicidade. Este trabalho teve o objetivo analisar a toxicidade das nanofibras. Os resultados nos mostram diferentes genotoxicidades entre as nanofibras, onde a nanofibra Algodão Marrom é a que apresenta danos significativos ao DNA e a nanofibra Curauá a que apresenta menos danos ao DNA.

Palavras-chave: Nanofibras de celulose, Genotoxicidade, Análise Cometa

Introdução

A nanotecnologia se refere a uma nova ciência, envolvendo inúmeros conceitos como, físicos, químicos, farmacêuticos, engenheiros, biólogos entre outros sendo a química uma das mais relevantes para o desenvolvimento da nanotecnologia, uma vez que, esta é a ciência que estuda a composição, estrutura e propriedade da matéria, em nível atômico e molecular e as reações que podem acontecer.^[1]

Sua aplicação no mercado é ampla, sendo utilizado em produtos eletrônicos, biomédico, materiais de alto desempenho e produtos para o consumidor (fármacos, cosméticos entre outros), onde os processos envolvidos vão desde a fabricação, formação de partículas, revestimento e dispersão, levando em conta sua caracterização, modelagem e simulação de suas propriedades, processos e desempenho de usos.^[2]

De acordo com a Engenharia e Ciências dos Materiais, os nanocompostos podem ser

classificados de acordo com sua estrutura ou propriedades, estas características são: metais, polímeros, cerâmicas, semicondutores e compósitos^[3], porém devido ao surgimento de novos materiais, alguns autores usam uma classificação mais abrangente dividindo-os em metais e ligas metálicas, material inorgânico, material orgânico, materiais biológicos e compósitos.^[4]

Os riscos da nanotecnologia ainda não foram medidos, existindo a necessidade de estudos toxicológicos referentes a este problema. O atual conhecimento sobre a toxicologia dessas partículas é muito escasso, testes de laboratório mostram que nanopartículas, tais como óxidos metálicos, se mostram capazes de causar efeitos adversos em suas vias de introdução e em órgãos-alvos, assim como, podendo ocorrer a interação destes com a molécula de DNA.^[5,6]

Existem vários tipos de nanofibras, entre elas nanofibras compostas por polímeros, nanofibras de celulose entre outras. As nanofibras em geral têm atraído cada vez mais atenções nos últimos dez

anos. Dentro da conotação nanotecnologia e de materiais nanoestruturados, nanofibras geralmente se refere a uma fibra com um diâmetro inferior a 100nm.^[7]

Na última década, os esforços foram direcionados para obtenção de *nanofibras*, a partir de recursos naturais.^[8] A celulose é o polímero mais abundante de origem vegetal que ocorre na Terra, e surgiu como um forte candidato para fornecer tais nanofibras. A rigidez inerente e o elevado grau de cristalinidade tornam a celulose adequada para o uso como reforço em compósitos. Além disso, é um material oriundo de fonte renovável, biodegradável, de baixo custo e com densidade menor que muitos reforços em uso atualmente.^[9]

Fibras naturais de algodão normalmente são brancas, mas podem ser produzidas fibras naturais coloridas através de técnicas de melhoramento genético, evitando a necessidade de corantes sintéticos que podem poluir o meio ambiente e afetar a saúde humana. Além disso, a eliminação de tingimento químico da fabricação têxtil pode tornar o produto mais barato.^[10]

Algodões coloridos foram cultivados e utilizados em 2300 a.c., na América do Sul e Central^[11]. Estes são considerados inferiores ao algodão branco, em virtude do baixo rendimento, de fibras mais curtas e fracas. Por isso, os criadores de algodão estão a tentando melhorar essas características para produzir variedades melhores e mais produtivas de algodão colorido.^[11]

Comercialmente, as fibras coloridas ganharam maior destaque após os esforços de Sally Fox para melhorar a qualidade da fibra do algodão colorido pela reprodução selética, resultando híbridos capazes de produzir algodão colorido.^[11] Atualmente, os pesquisadores desenvolveram o programa de melhoramento para englobar os estudos sobre a estrutura, a medição da qualidade, a cor, a química e a padronização de algodões coloridos.^[12]

Especificamente, a EMBRAPA tem vindo a desenvolver culturas coloridas de algodão em seu programa de melhoramento genético.^[13]

Materiais e métodos

O teste do cometa foi realizado conforme descrito por Tice *et al.* (1988)^[14], e revisado por Da Silva (2007)^[15]. É um método sensível e rápido para detecção de quebras no DNA em células individuais. As células, são envolvidas em gel e submetidas a corrente elétrica, que age como uma força fazendo que a migração de DNA livres, resultantes de quebras, para fora do núcleo.

A coleta de sangue foi realizada no PATE da Uniso. O sangue coletado foi processado para separação de linfócitos através de centrifugação com Ficoll e meio de cultura; em seguida a amostra de linfócitos+meio+agarose low melting foi tratada com as nanofibras. Após o tratamento os linfócitos foram colocados em lâminas pré preparadas com agarose e colocadas em solução de lise por 2h e colocadas em cuba de eletroforese durante 20min, seguidas de corrida de 30 minutos a 15V e 300mA. Após a corrida as lâminas foram colocadas em solução “stop” e coradas com coloração de prata durante 30 minutos.

As lâminas coradas são visualizadas em microscopia óptica, onde existe um “score” dado a cada estrutura. Este “score” recebe valores de 0 a 4, sendo o valor 0 (zero) considerado sem danos e os valores 1, 2, 3 e 4 são consideradas células danificadas em ordem crescente. O “score” final é obtido somando-se o total de cada “score” que foi obtido multiplicando-se o número de células encontradas em cada dano.

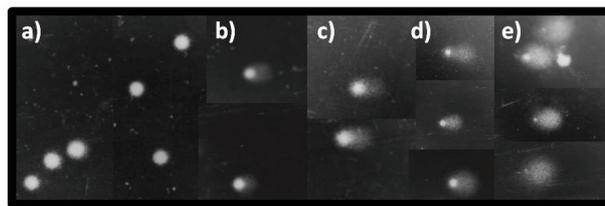


Fig. 1 – Padronização de Scores: a) *score*=0 (zero); em b) *score*=1; em c) *score*=2; em d) *score*=3 e em e) *score*=4.

Resultados e discussão

As análises realizadas mostram que as nanofibras levam a danos no DNA. Os resultados mostraram que apenas os dados referentes ao Algodão Marrom e ao Curauá são significativos (Tabela 1), sendo as demais diferenças não significativas.

Tabela 1 – Índice de danos para cada tipo de tratamento.

Tratamento	Méd. Danos ± Desvio
Negativo	1,00 ± 0,140
Algodão Marrom	2,10 ± 0,59*
Algodão Branco	1,70 ± 0,14
Algodão Verde	1,40 ± 0,22
Algodão Rubi	1,40 ± 0,14
Curauá	1,90 ± 0,36*
Sisal	1,60 ± 0,08

*= $p < 0,5$

O gráfico de danos pode ser observado com seus correspondentes desvios (Figura. 2).

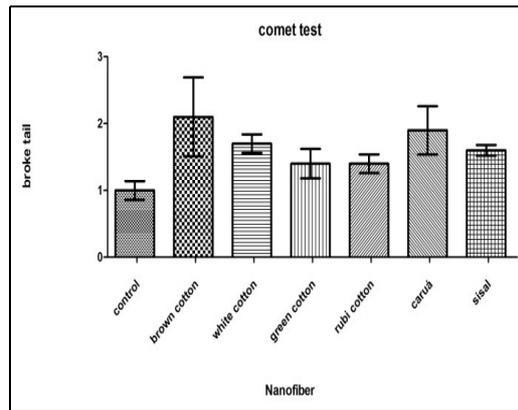


Fig. 2 - Gráfico do índice de danos com os respectivos desvios das nanofibras.

Conclusões

Com esses resultados podemos concluir que a nanofibra que causa maior dano é a Algodão Marrom, pois ela tem um índice de danos significativamente maior quando comparada com o negativo. Já a nanofibra que causa menos danos é a Curauá, pois apresenta o índice de danos significativamente baixo quando comparado com o negativo.

Agradecimentos

EMBRAPA, CNPq, Capes, FAPESP, Fundunesp, Uniso, Rede AgroNano.

Referências

1. Rey, L. *Dicionário de Termos Técnicos de Medicina e Saúde*, Rio de Janeiro, 2003.
2. Galembeck, F; Santos, A.C.M.; Schumacher, H.C.; Rippel, M.M.; Rosseto, R. *Industria Química: Evolução Recente, problemas e oportunidades*, 2007.
3. Askeland, D. R. *The Science and Engineering of Materials*, Boston, 1994.
4. Allen, G. *Materials chemistry: an overview*, 1991.
5. Oberdörster, G., *Principles for characterizing the potential human health effects from exposure to nanomaterials: elements of a screening strategy*, 2005.
6. Donaldson, K. *Nanotoxicology*, 2004.
7. Grafe, T. and Graham, T, *Intern. Nonwov.*, 2003.
8. Helbert, W., Cavaille, J. Y., Dufresne, A., *Polym. Compos.*, 1996.
9. Bhattacharya, D., Germinario, L.T., Winter, W.T., *Carbohydr. Polym*, 2008.
10. Zhu S-E, Gao P, Sun J-S, Wang H-H, Luo X-M, Jiao M-Y, Wang Z-Y, *Genetic transformation of green-colored cotton*, 2006
11. Murthy, M.S.S., *Never say dye: the story of coloured cotton*, 2001
12. Rodgers J, Thibodeaux D, Cui X, Martin V, Watson M, Knowlton J, *Instrumental and operational impacts on spectrophotometer color measurements*, 2008.
13. Rocha, M.S., Carvalho, J.M.F.C., Mata, M.E.R.M.C., Lopes, K.P., *Indução de superbrotamento e regeneração de plantas in vitro, nas cultivares de algodão colorido*, 2008.
14. Tice R.R., Agurell E., Anerson D., Burlinson, B., Hartemann A, Kobayashi H., Miyamae Y., Rojas E., Ryu J.C., Sasaki, Y.F. *Single cell gel/ comet assay: guidelines for in vitro and in vivo genetic toxicology testing*, 2000.
15. Da Silva, Juliana. *O uso do ensaio cometa para o ensino de genética toxicológica*, 2007.