

## Nanobiotechnology: platform technology for biomaterials and biological applications the nanostructures Nanobiotecnologia: plataforma tecnológica para biomateriais e aplicação biológica de nanoestruturas

Abreviaturas:

Nanobiotechnology, biomaterials and biological application of nanostructures  
Nanobiotecnologia, biomateriais e aplicação biológica de nanoestruturas

Paula C. S. Faria-Tischer, Cesar A. Tischer<sup>1</sup>

### ABSTRACT

Nanotechnology is a science field that has been developing amazingly together with the biotechnology, mixing the knowledge of material science and chemistry with the biology. This review article links the know-how of biomaterials in the recent years, like carbohydrates and proteins with those about nanoparticles, self-assembled systems, nanofilms, nanoemulsions and nanostructures for active compounds for encapsulation. The economical impact of nanotech products is in order of trillions of US dollars, and nanobiotechnology has a great share of this market. The sectors that have benefits with the development of products, technics, methodology and processes on nanometric scale are the health, food and agroindustry. The last one represents a fertile field for applications on a large scale. The nanobiotechnology is a reality and the knowledge of biomaterials, biological sciences and engineering, through the union of different research groups on their specific fields, allows the conception of products never considered many years ago.

**Key-words:** nanobiotechnology, biomaterials, biopolymers, nanoparticles

### RESUMO

A nanotecnologia é um campo da ciência que tem se desenvolvido de maneira impressionante, juntamente com a biotecnologia, misturando o conhecimento da ciência dos materiais e da química com os da biologia. Este artigo de revisão busca unir o conhecimento em biomateriais, como carboidratos e proteínas, com aqueles sobre nanopartículas, sistemas auto-organizados, nanofilmes, nanoemulsões e nanoestruturas, para encapsulação de compostos ativos. O impacto econômico dos produtos de nanotecnologia está na ordem dos trilhões de dólares. A nanobiotecnologia divide uma grande parte desse mercado. Os setores que alcançam benefícios com o desenvolvimento de produtos, técnicas, metodologias e processos em escala nanométrica são: saúde, alimentos e agroindústria. Este representa um campo fértil para aplicações em grande volume. A nanobiotecnologia é uma realidade e o conhecimento de biomateriais, das ciências biológicas e da engenharia, através da união de diferentes grupos de pesquisa em seus campos específicos, permite a concepção de produtos nunca imaginados há alguns anos.

**Palavras-chave:** nanobiotecnologia, biomateriais, biopolímeros, nanopartículas.

<sup>1</sup> **Institution:** State University of Londrina – UEL. Department of Biochemistry and Biotechnology. Address: Rodovia Celso Garcia Cid, PR445 Km 380 - Campus Universitário. PoBox 6001. ZIP 86051-980. Londrina – PR. E-mail paula.tischer@pq.cnpq.br, cesar.tischer@uel.br.

**Instituição:** Universidade Estadual de Londrina – UEL. Departamento de Bioquímica e Biotecnologia. Rodovia Celso Garcia Cid, PR445 Km 380 - Campus Universitário. Cx. Postal 6001. CEP 86051-980. Londrina – PR. E-mail paula.tischer@pq.cnpq.br, cesar.tischer@uel.br.

## INTRODUÇÃO

A nanobiotecnologia é um ramo da nanotecnologia que funde a ciência dos materiais com as ciências biológicas, gerando conhecimento e produtos nas áreas biotecnológicas, farmacêuticas, médicas, de diagnóstico, entre outras.

Esta revisão tem como objetivo estabelecer os pontos de contato entre diferentes áreas do conhecimento que se intercalam dentro da nanobiotecnologia, traçando um panorama do estágio atual de desenvolvimento, produtos e interações passíveis de exploração da nanotecnologia. Serão relatados alguns conceitos básicos, metodológicos e instrumentais necessários para o desenvolvimento desse campo da ciência.

A nanobiotecnologia proporciona o desenvolvimento de produtos que ultrapassam as limitações de custo, *performance* ou manufatura, quando comparado aos métodos produtivos convencionais. Em outras palavras, a nanobiotecnologia é um ramo da nanotecnologia que envolve a compreensão dos fenômenos biológicos e as propriedades físico-químicas das biomoléculas. Os conhecimentos macroscópicos não explicam eventos e não geram resultados tão positivos quando se trabalha com os materiais na nona casa decimal.

Outra contribuição importante dessa nova tecnologia é a necessidade de colaboração entre diferentes centros de pesquisa para o desenvolvimento de produtos e processos eficientes. O governo brasileiro tem estimulado esse desenvolvimento científico com a criação das Redes de Nanobiotecnologia, havendo, dentro da sua política estratégica, investimentos de pesquisa no setor (FÓRUM DE COMPETITIVIDADE DE BIOTECNOLOGIA, 2006).

## NANOTECNOLOGIA E NANOBIOTECNOLOGIA

O físico e químico Rutherford, conhecido pelo modelo atômico que sugeriu no início do século 20, entendia que as ciências puras eram a física e a matemática. A matéria, como a conhecemos, e seus fenômenos começam no âmago dos átomos. Ver mais profundamente os detalhes e humores desse mundo subatômico foi tarefa e competência destinada geralmente a quem se dedicava ao estudo da física, que, através de técnicas e equipamentos associados ao cálculo, à física quântica e a outros termos não familiares aos biólogos, perscrutavam de maneira indireta os segredos estruturais dos materiais.

A evolução tecnológica da ciência dos materiais propiciou o desenvolvimento da microinformática, da precisão de manufatura e o melhor desempenho de

peças e equipamentos, fazendo surgir, portanto, os instrumentos analíticos que permitem aproximar de não físicos a possibilidade de monitorar os eventos nos quais estão envolvidos os materiais biológicos.

A difração de raios-x, ferramenta fundamental no mapeamento da organização atômica, evolui na direção de tornar-se uma plataforma versátil e muito útil; enquanto o desenvolvimento tecnológico das microscopias eletrônicas e de tunelamento foi decisivo, viabilizando a observação e o acompanhamento da morfologia dos materiais próximos à escala atômica (RIET, 2003).

De fato o que define essencialmente a nanotecnologia é a possibilidade de estudo de materiais complexos a partir de sua constituição básica, o átomo (SUGIMOTO *et al.*, 2005). Para que se chegue a esse nível de resolução, é necessário dividir o que vemos como um metro em 1 bilhão de pedaços; o tamanho de um desses pequenos pedaços é de um nanômetro.

O termo nanotecnologia foi usado pela primeira vez em 1974, por Norio Taniguchi, quando descrevia as tecnologias usadas na construção de materiais na escala nanométrica. A visão de Taniguchi, cujo maior divulgador é K. E. Drexler, vai do sentido da manipulação de átomo a átomo para a produção de novos materiais, até mesmo de máquinas nanométricas (*nanodevices*), como nanorrobôs e regeneradores de tecido (DREXLER, 2007).

Uma definição mais ampla (BAWA *et al.*, 2005) foi: “Nanotecnologia é o design, caracterização, produção e aplicação de estruturas, dispositivos e sistemas pela manipulação controlada do tamanho e forma na escala nanométrica (1-100 nm) que produz estrutura, dispositivos e sistemas com pelo menos uma característica ou propriedade nova ou superior”.

Quando os materiais são manipulados em escala atômica, trabalha-se com leis diferentes. Por isso, suas propriedades são modificadas: alguns se tornam melhores condutores de eletricidade ou calor, outros ficam mais resistentes, alguns têm melhores propriedades magnéticas, e também há os que refletem melhor a luz ou mudam de cor à medida que o tamanho é alterado. Essas mudanças são decorrentes de alterações em efeitos como: fricção, combustão, eletrostática, forças de Van der Waals e movimentos brownianos (RIET, 2003) (NICOLAU *et al.*, 2000), uma vez que existe uma dependência entre a escala de tamanho e esses diferentes efeitos. Outra diferença significativa é: na escala nanométrica, os materiais possuem área de superfície muito maior, o que os tornam mais disponíveis e susceptíveis para a interação com outras moléculas,

células, tecidos, partículas, íons etc.

Alguns dos acontecimentos que marcaram a evolução da nanotecnologia e despertaram a percepção da sua relevância foram:

- a criação do microscópio de tunelamento (*scanning tunneling microscope*) por Gerd Binnig e Heinrich Rohrer, em 1981; e, no mesmo ano, a publicação do livro *Engines of Creation*, de Eric Drexler, que popularizou a nanotecnologia (DREXLER, 2007);
- a descoberta dos fulerenos por Robert Curl, Harold Kroto e colaboradores em 1985 (KROTO *et al.*, 1985);
- em 1989, o feito de Donald Eigler ao escrever o nome da IBM com átomos individuais do elemento xenônio (Xe) (EIGLER; SCHWEIZER, 1990);
- em 1991, no Japão, a descoberta dos nanotubos de carbono (IIJIMA, 1991), estruturas cilíndricas formadas por átomos de carbono que possuem alta resistência.

Basicamente as nanoestruturas podem ser fabricadas de dois modos: 1) “de cima para baixo” (*top-down*), no qual são definidos e criados padrões a partir de partes maiores, por exemplo, a confecção de *chips* por litografia; ou 2) “de baixo para cima” (*botton-up*), no qual, através do controle do comportamento intramolecular de moléculas ou estruturas desenhadas e/ou sintetizadas, essa manipulação dos átomos ou das moléculas permite formar nanoestruturas, como nanofios, nanotubos e nanopontos (*nanodots*). O método *top-down* é geralmente realizado em sistemas secos; e o *botton-up*, em meio aquoso ou com solvente orgânico (DURAN; MATTOSO; MORAIS, 2006).

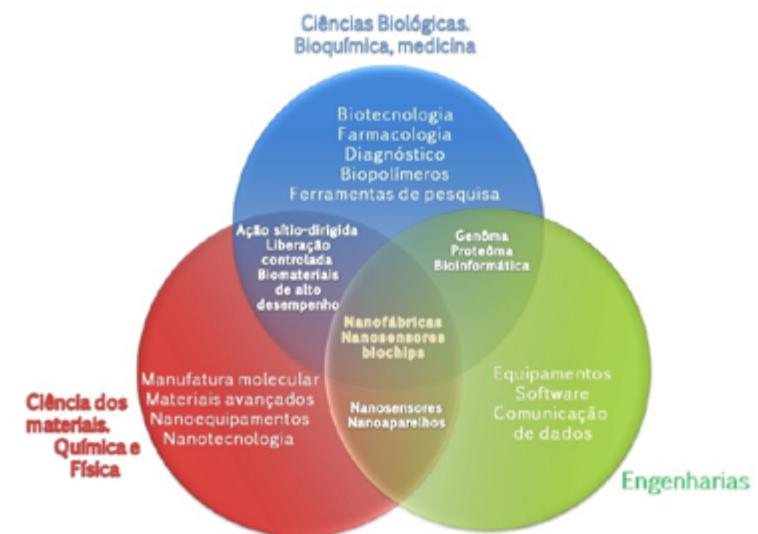
Seja pela manipulação de átomos individuais (técnica de baixo para cima), seja pela ultraminiaturização que resulta em dispositivos cada vez menores (técnica de cima para baixo), a nanotecnologia não trouxe somente mudanças e avanços significativos no desenvolvimento de vários processos e produtos, mas também na maneira como a pesquisa é desenvolvida. A nanotecnologia, para ser efetiva, tem que ser multidisciplinar; sua eficiência e seu sucesso dependem do encontro entre a química, física, engenharia e a biologia (RATNER; RATNER, 2002).

Nanomateriais incluem nanopartículas, nanocristais, nanotubos, nanofibras, nanofios, nanobastões, nanofilmes etc. Numerosas técnicas para a fabricação desses nanomateriais estão disponíveis, como *electrospinning*,

separação de fases, processos de automontagem, deposição de filmes finos, deposição química em fase vapor, decapagem química (*etching*), nanoimpressão, fotolitografia e litografia por feixe de elétrons ou litografia de nanoesferas, entre outros (FREEMAN *et al.*, 2008).

Os centros de pesquisa e conseqüentemente as empresas podem atuar em diferentes pontos da cadeia do desenvolvimento nanotecnológico. Na área de nanomateriais, trabalha-se com estruturas em nanoescala (nanopartículas, nanotubos, *quantum-dots*, fulerenos, dendrímeros, materiais nanoporosos etc.), úteis para o uso em recobrimentos, tecidos, memórias, *chips*, meios de contraste, componentes ópticos, materiais ortopédicos, gerando produtos finais com nanotecnologia incorporada (bens duráveis ou não, como automóveis, vestuário, aviões, computadores, eletrônicos de consumo, dispositivos, fármacos, alimentos processados etc.) (ALVES, 2012).

**Figura 1** – A Interseção entre as áreas do conhecimento como Ciência dos Materiais, Biológicas e as Engenharias com seus conteúdos e métodos voltados a nanotecnologia, e proporciona nas zonas de convergência o surgimento de ferramentas, produtos próprios da Nanobiotechologia.



Como citado acima, os conhecimentos, as ferramentas e as teorias das ciências físicas viabilizaram o desenvolvimento de equipamentos e tecnologia para a compreensão e determinação dos sistemas biológicos. A fusão dessa ciência exata com a possibilidade de compreensão da maestria dos processos naturais de síntese proteica, organização estrutural de DNA e de proteínas, movimentação de flagelos, propriedades das diversas membranas biológicas,

transmissão e transdução de sinais, isolamento das membranas mielínicas, reconhecimentos celulares e moleculares permitiu o desenvolvimento da nanobiotecnologia (figura 1). Os impactos específicos desses avanços e alguns trabalhos desenvolvidos na área serão abordados com maior detalhe no decorrer desta revisão.

O que diferencia a nanobiotecnologia da química de biomoléculas é a possibilidade de entender e visualizar fenômenos na sua unidade básica, permitindo interferir ou mimetizar as ações da natureza. Shi *et al.* (1999) imprimiram dissacarídeos em placas de sílica, utilizando polímeros sintéticos e obtendo um filme com a capacidade de reconhecimento de proteínas de maneira seletiva. Esse tipo de abordagem pode gerar produtos — como biossensores, sistemas de separação e *kits* de diagnóstico nanométricos — e associar o conhecimento de diferentes áreas (química, física e medicina).

Nosso sistema imune consiste em um nanoaparelho, os anticorpos são proteínas que, em escala nanométrica, atuam interagindo de maneira específica com antígenos (SAPHIRE *et al.*, 2001). Identificar, caracterizar e demonstrar esses fenômenos, bem como desenvolver maneiras de produzir esses nanocompostos e reproduzir seu modo de operação fazem parte da nanobiotecnologia (GOODSELL, 2004).

A nanobiotecnologia poderá suprir as demandas de produtos em diferentes áreas, como a criação de sistemas revolucionários de transporte de fármacos programável em escala molecular, cujas estrutura e movimentação estão baseadas na arquitetura do DNA, utilizando a técnica de dobramento do DNA (*origami* de DNA) e produzindo formas em diferentes dimensões. Assim, podem-se criar linhas de montagem molecular modeladas nos ribossomos (ribossomos sintéticos), sistemas de detecção de biomarcadores, transporte de medicamentos e outros dispositivos moleculares, nanossensores, *biochips* e copolímeros que auxiliam na restauração de lesões. Essas são algumas das realizações que a nanobiotecnologia pode auxiliar a concretizar, trazendo avanços importantes na medicina terapêutica e preventiva (THOMPSON, 2011).

### **Celulose como modelo de biomaterial**

Segundo Helmus e Tweden, a definição de biomaterial é “qualquer substância (outra que não droga) ou combinação de substâncias, sintética ou natural em origem, que possa ser usada por um período de tempo, completa

ou parcialmente como parte de um sistema que trate, aumente ou substitua qualquer tecido, órgão ou função do corpo” (HELMUS; TWEDEN, 1995).

Quanto ao tipo de material, os biomateriais podem ser (HENCH; WILSON, 1993):

- polímeros sintéticos não degradáveis: acrílicos, fluorcarbonetos, hidrogéis, poliacetatos, poliamidas, policarbonatos, poliésteres, poliimidaz, silicones, poliuretanos, entre outros.
- polímeros biorreabsorvíveis: poliaminoácidos, policaprolactonas, copolímeros de poliácido, láctico/ácido glicólico, poli-hidroxil butiratos, poliortoésteres, colágeno, hidroxiapatita de baixa densidade;
- biopolímeros: albumina, acetatos de celulose, celulose de cupramônia, quitosana, colágeno, elastina, gelatina, ácido hialurônico, fosfolípido, gomas;
- metais e ligas metálicas: ligas cobalto-cromo, ligas níquel-cromo, ligas nitinol, aços inoxidáveis, tântalo, titânio e suas ligas;
- cerâmicas, inorgânicos e vidros: vidros bioativos, alumina de alta densidade, hidroxiapatita, alumina monocristalina, fosfatos tricálcios, zircônia;
- compósitos: compósitos de fibra de carbono baseados em uma matriz de epoxi, polieteracetonas, poli-imida, polissulfona, radiopacificadores ( $\text{BaSO}_4$ ;  $\text{BaCl}_2$ ;  $\text{TiO}_2$ ) misturados em polímeros de poliolefinas, poliuretanos, silicones, radiopacificadores em polimetimetacrilato, ou algum dos biopolímeros citados anteriormente.

Esses materiais podem ser manufaturados ou processados para se adequarem à utilização em dispositivos médicos que entram em contato com proteínas, células, tecidos, órgãos e sistemas orgânicos.

Em particular, os biopolímeros, quer sejam proteínas, lipídeos, carboidratos, quer sejam outros compostos de diferentes tamanhos e funções orgânicas, têm sido aplicados na busca de produtos médicos, ou para uso em diferentes setores industriais. Entre as várias aplicações dos biomateriais, destaca-se o uso na nanomedicina, pois muitos desses polímeros são biorreabsorvíveis; e, após serem implantados no organismo para uma determinada finalidade, são absorvidos pelo mesmo (WILLIAMS, 1987).

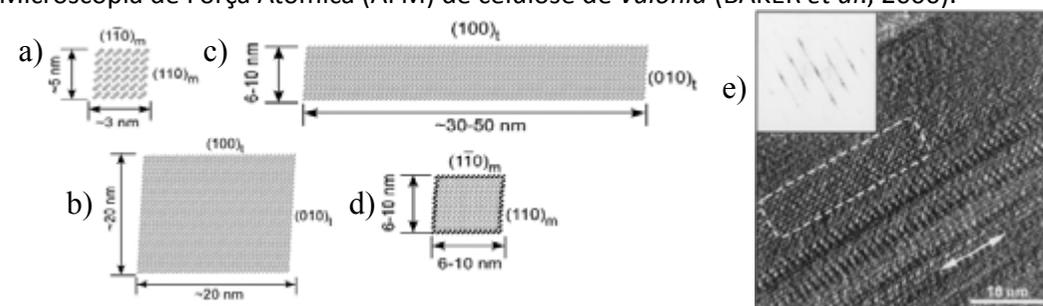
O manuseio dos biopolímeros no âmbito atômico permite sua aplicação em diferentes segmentos da medicina, como engenharia de tecidos, implantes,

engenharia celular, articulações, tecido ósseo, criação de tecidos artificiais, entre outros.

Biopolímeros — a celulose, por exemplo — possuem uma composição química bem definida há muito tempo, contudo algumas de suas propriedades físico-químicas mais peculiares são resultados de interações moleculares entre cadeias (ELAZZOUI-HAFRAOUI *et al.*, 2008). Uma das questões interessantes sobre a celulose é sua insolubilidade em água e na grande maioria dos solventes, apesar de sua enorme capacidade de hidratação pela presença de hidroxilas, potencialmente formadoras de ligações de hidrogênio (NISHIYAMA, 2009). Através das ferramentas da nanotecnologia, observaram-se as diferentes maneiras das cadeias de  $\beta$ -glucana interagirem entre si, comprovando os estados cristalinos atribuídos pela difração de raios-x.

A celulose é produzida diferentemente por organismos, como as plantas (ELAZZOUI-HAFRAOUI *et al.*, 2008), tunicados (IWAMOTO *et al.*, 2009), algas (MOON *et al.*, 2011) e bactérias (TOKOH *et al.*, 1998; GOELZER *et al.*, 2009). As ferramentas da nanotecnologia têm contribuído muito para a compreensão das diferentes organizações desse biopolímero. Na figura 2, observam-se as diferentes dimensões nas quais as unidades básicas de celulose (microfibrilas) se organizam na forma de arranjos cristalinos, variando o número de cadeias, o ângulo entre estas e as hidroxilas envolvidas em ligações de hidrogênio. Baker *et al.* (2000) observaram, por Microscopia de Força Atômica (*Atomic Force Microscopy* — AFM), as distâncias entre as cadeias de 0,5 a 0,6 nm, o que era anteriormente atribuído indiretamente por difração de raios-x.

**Figura 2** - Representação esquemática de nanofibras de celulose em corte transversal mostrando arranjos cristalinos diferentes para (a) celulose nanocristalina plantas (ELAZZOUI-HAFRAOUI *et al.*, 2008) de algodão, (b) e de tunicados tunicados (IWAMOTO *et al.*, 2009) (c) celulose bacteriana de *G. xylinum* (TOKOH *et al.*, 2008) nativa e (d) modificada. As barras representam as cadeias de celulose. Figura adaptada de Moon *et al.* (2010) **Erreur ! Signet non défini.** (e) — Microscopia de Força Atômica (AFM) de celulose de *Valonia* (BAKER *et al.*, 2000).



Novas aplicações emergentes para o uso da celulose como biomaterial surgiram, por exemplo, a encapsulação de compostos ativos, material de implante. Nos últimos anos, em especial a celulose produzida pela bactéria *Gluconoacetobacter xylinum* (antigamente denominada – *Acetobacter xylinus*) destaca-se como biomaterial para cicatrização de feridas e produção de *scaffolds* (arcabouços) na engenharia de tecidos. Em 1980, a Johnson & Johnson iniciou a produção em larga escala da membrana de celulose bacteriana, e posteriormente a empresa Xylos iniciou a manufatura da XCell® para tratamento de feridas. Hoje, no Brasil a principal produtora de membranas de celulose para diversos usos no tratamento das feridas da pele e queimados é a empresa Bionext Produtos Biotecnológicos Ltda., antiga e pioneira BioFill. Além do Brasil, no Canadá, nos Estados Unidos e no Japão, há empresas que atuam comercializando a membrana de celulose bacteriana (HOENICH, 2006).

Além da celulose, a goma xantana, usada em nanocápsulas para transporte de medicamentos (BHASKAR *et al.*, 2009) ou no transporte de compostos usados na remediação de áreas quimicamente contaminadas (DALLAVECCHIA; LUNA; SETHI, 2009) são exemplos de biomateriais que resurgem com novas aplicações (TISCHER; VITORINO, 2009).

### Sistemas auto-organizados

As macromoléculas biológicas, dentre suas propriedades mais interessantes, destaca-se a auto-organização. Proteínas, polinucleotídeos, carboidratos, lipídeos, entre outras biomoléculas de maior massa molecular tendem a se organizar, buscando uma orientação mais estável, energeticamente favorável. Ainda no caso das proteínas, outras estruturas, como as chaperonas, são necessárias (WHITESIDES; GRZYBOWSKI, 2002).

Os sistemas demonstrados pela química supramolecular englobam: macromoléculas, agregados físico-químicos, compostos de intercalação, nanocompósitos e nanopartículas e, ainda, os conceitos de automontagem (*self-assembly*), reconhecimento molecular e a química de *host-guest* (hospedeiro-hóspede). Dentro do processo de automontagem, é possível diferenciar automontagem e auto-organização: o primeiro refere-se ao processo pelo qual moléculas individuais formam agregados, e o segundo é o processo pelo qual esses agregados formam estruturas maiores. Essas estruturas supramoleculares maiores apresentam estruturas que as assemelha a esferas, bastões, lamelas ou

outros (ATWOOD *et al.*, 1996).

Estruturas cristalinas trazem geralmente vantagens quanto às propriedades físico-químicas, como resistência mecânica, térmica e reprodutibilidade de fenômenos regular, devido ao padrão de organização atômica, o que também torna mais fácil estudá-las por técnicas estabelecidas, como difração de raios-x e difração de elétrons. Em alguns casos, essas técnicas permitem que a análise de uma parte possa ser extrapolada ao todo. Dessa forma, é natural que se busquem maneiras de favorecer a auto-organização de um determinado composto; e assim, partindo de blocos menores, obtêm-se estruturas maiores e que guardem as propriedades observadas na escala nano (metodologia *bottom-up*).

A pesquisa na área de nanoestruturas auto-organizadas é um campo da química orgânica que cresceu rapidamente, principalmente considerando a dificuldade de se obter moléculas com mais de 1000 átomos, ligação por ligação. A peça chave desse processo é observar as interações possíveis entre as moléculas, polaridades, interações não covalentes, ligações iônicas, ligações de hidrogênio, mediadas ou não por água, interações hidrofóbicas e de van der Waals, entendendo-as e provocando-as (ZHANG, 2003). A associação molecular através de grupos que se reconhecem quimicamente é uma forma eficiente de promover a automontagem (*self-assembly*) de sistemas organizados.

Entre os materiais que se associam e formam sistemas auto-organizados estão: moléculas de polipiridinas lineares, que se associam espontaneamente na presença de íons de cobre (I), formando fios e redes moleculares perfeitamente organizados; a modificação de moléculas com derivados de bases nucleicas, a qual permite realizar sua associação espontânea para gerar rosetas que se auto-organizam, gerando nanotubos; filmes organizados podem ser convenientemente obtidos através de técnicas, como a de Langmuir/Blodget; dendrímeros com grupos funcionais usados para carregamento de medicamentos antineoplásicos, ciclodextrinas (LEHN, 1995) e nanocristais de celulose.

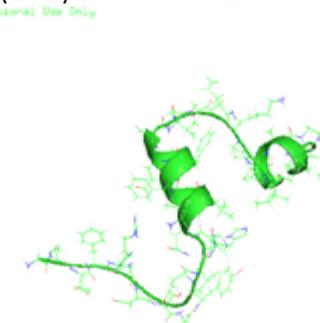
Peptídeos podem se auto-organizar em nanoesferas, nanofibrilas, nanoadesivos e em outras estruturas de escala nanométrica (GAZIT, 2007). A inserção de resíduos de aminoácidos podem guiar estruturas inorgânicas ou polímeros para a auto-organização. Os blocos construtivos com resíduos de aminoácidos de grande afinidade entre si acabam por determinar a estrutura maior, num processo *bottom-up*. Horne, Stout e Ghadiri (2003) criaram nanotubos a partir do bloco construtivo formado por aminoácidos  $\alpha$ - e  $\epsilon$ -, ligados

alternadamente. Essa molécula possui a capacidade de se justapor, formando um agregado criado a partir de biomoléculas. Adicionando-se grupos funcionais aromáticos, pode-se transmitir corrente através desses nanotubos, viabilizando o uso em componentes eletrônicos (GAZIT, 2007).

Entre os polissacarídeos cuja tendência é de estruturarem-se, os nanocristais de celulose — produtos de hidrólise que possuem cerca de 100 nm de comprimento e de 5 a 10 nm de espessura, quando sua origem é o algodão (HABIBI; LUCIA; ROJAS, 2010) — organizam-se em camadas, que sobrepostas são capazes de desviar a luz polarizada (LIMA; BORSALI, 2004), gerando possibilidades de uso em fotoeletrônica.

Além das interações covalentes, outro fator com influência na auto-organização é a polaridade magnética, observada, por exemplo, em nanotubos, polissacarídeos e polipeptídeos lineares, ainda que na forma de hélices ou folhas. Peptídeo e proteínas mostram a capacidade de formar nanofibras muito estáveis, as conhecidas fibras amiloides (PERUTZ *et al.*, 2002), como a relacionada com o Mal de Alzheimer. Nessas fibras, sequências maiores do que 37 a 40 resíduos de aminoácidos formam duas ou três folhas  $\beta$  cilíndricas e concêntricas (ver figura 3), além de outras patologias como a encefalopatia espongiforme bovina (doença da vaca-louca), diabetes do tipo II e doença de Creutzfeld-Jakob. Esses peptídeos parecidos e hábeis em se reorganizarem podem ser controlados, o que é útil na organização de nanocristais para uso na indústria eletrônica (ZHANG, 2003).

**Figura 3** – Estrutura do peptídeo amiloide-beta com folhas- $\beta$  cilíndricas. Dados cristalográficos (pdb) do peptídeo amiloide A-4 (1-40) do mal de Alzheimer (STICHT *et. al.*, 1995).



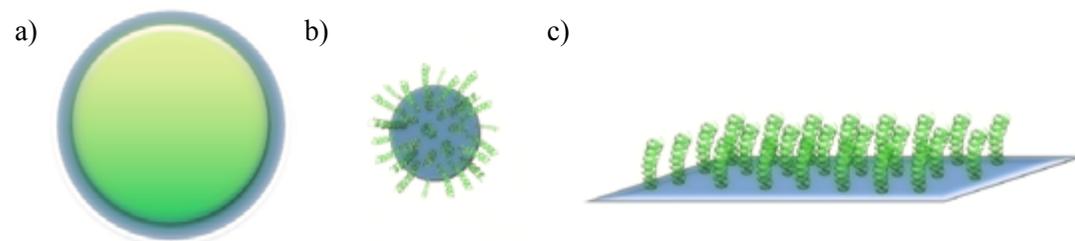
### Nanopartículas

Partículas com tamanhos menores do que 100 nm apresentam propriedades que as diferenciam de materiais com tamanhos maiores ou de partículas

agregadas. Caracterizam-se como nanopartículas e são assim referenciadas nos meios oficiais, como o *British Standards Institution* (BSI), no seu documento PAS 71: 2011 (BRITISH STANDARDS INSTITUTION, 2011).

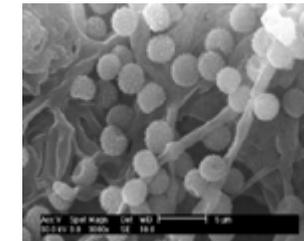
Entre as nanopartículas, esférica ou romboide, ainda que não exista uma definição clara, podem ser ocas, servindo de depósito para compostos ativos, chamados de nanocápsulas, ou ainda de massivos. São designados como nanoesferas, que podem ser funcionalizados na sua face, como se observa na figura 4:

**Figura 4** – Representação esquemática dos três principais tipos de nanoestruturas envolvendo biomateriais: (a) uma nanocápsula, contendo em seu interior, tando princípios ativos como estabilizantes desta estrutura, e em ambos os casos biopolímeros podem ter papel; (b) nanoesferas funcionalizadas, representada em azul a nanoesfera, em geral inorgânica (Au), e em verde o biopolímero funcional, quer seja um polissacarídeo ou proteína ou mesmo uma cadeia de ácido graxo que desempenha uma ação sítio específica; (c) nanofilmes funcionalizados, onde um filme, e o próprio filme pode ser um biopolímero nanoestruturado, pode estar recoberto com biomateriais através de interações fracas, ou iônicas, ou covalentes.



Filmes que recebem uma camada de biopolímero aderido fortemente podem ser chamados de nanofilmes funcionalizados. Biomoléculas, como glucose, amido solúvel e quitosana, atuam estabilizando nanopartículas (VIGNESHWARAN; JAIN, 2011). As nanoesferas, a partir de biomoléculas, podem ser produzidas por meio da fermentação. Um exemplo são partículas esféricas de celulose, obtidas através do cultivo da bactéria *G. xylinum* por fermentação, na presença de um resíduo da agricultura (casca de arroz) (GOELZER *et al.*, 2009) (figura 5). Essas nanopartículas parecem ser ocas, podendo ser utilizadas para incorporação de compostos ativos.

**Figura 5** -Nanoesferas produzidas a partir da fermentação de casca de arroz processada enzimaticamente pela bactéria *G. xylinum* (GOELZER *et. al.*, 2009). A rede de celulose cristalina produzida pela bactéria está envolvida na formação da nanoesfera.



As nanocápsulas podem ser produzidas a partir de diferentes materiais. Watanabe e cols. realizaram a imobilização de diferentes fármacos em partículas de 200 nm (WATANABE; IWAMOTO; ICHIKAWA, 2005), utilizando-se misturas de hidrolizados de quitosana e carboximetil celulose (CMC) e duas enzimas diferentes, para obter a nanopartícula A (quitosanase) e nanopartícula B (lisozima). Compostos carregados negativamente ou anfotéricos podem ser retidos eficientemente por esse método.

As nanoesferas funcionalizadas são veículos eficientes para biomoléculas, nas quais os biopolímeros são associados covalentemente ou por interações estáveis à nanopartícula (ver figura 4). O uso dessas estruturas é uma das mais frutíferas aplicações da nanobiotecnologia, com produtos nas áreas de prevenção à aderência de bactérias, ligação celular, eletroquímica e formação de cristais coloidais (AYRES, 2010).

A empresa PlasmaChem (PLASMACHEM SURFACE AND NANO-TECHNOLOGY, 2012) produz nanoesferas de 3 a 8 nm, que podem ser funcionalizadas com diferentes compostos. Uma das aplicações dessas partículas é a imobilização de enzimas, como realizado por Khoshnevisan e cols. (2011), que inseriram celulases de *Trichoderma viride*, com aplicações na produção de etanol de 2ª geração.

A produção de combustíveis de origem biológica (etanol e substituintes de petróleo) é uma das aplicações em que se usam enzimas encapsuladas para a biotransformação de biomassa (PUGH *et al.*, 2011). Não apenas enzimas, mas também microrganismos podem ser inteiramente incorporados a estruturas organizadas, utilizando-se nanopartículas (FLICKINGER *et al.*, 2007) e gerando microfábricas com grande longevidade, se comparada ao uso de microrganismos não confinados.

Mimetizando o sistema imunológico (LEROUEIL *et al.*, 2007), a área de diagnósticos é um campo bastante fértil para aplicações nanobiotecnológicas com o uso de nanopartículas. O sistema Verigene® é uma solução para diagnóstico de presença de patógenos de diferentes tipos que usa nanopartículas de ouro, entre 13 e 20 nm, em que o sinal de resposta é amplificado, ao invés do DNA (usando PCR) (MAURICE *et al.*, 2010). A eficiência desse produto se dá pela funcionalização da superfície da nanoesfera, ou com oligonucleotídeos que pareiam com as sequências de DNA de interesse, ou com imunoglobulinas contra um antígeno de interesse (NANOSPHERE DIAGNOSTICS, 2012).

Outro produto na mesma linha é o *nano-screenMAG*, no qual há partículas de 100, 150 ou 200 nm, com um centro de magnetita coberto com uma camada de corante lipofílico fluorescente. Este último é recoberto por um polissacarídeo. O DNA genômico pode ser isolado diretamente a partir de amostras de sangue, utilizando-se a capacidade magnética das esferas após estas terem se ligado aos compostos com os quais possuem preferência por interação (NANOSPHERE DIAGNOSTICS, 2012).

A produção de nanopartículas incluem a nanolitografia, processos físicos, ou ainda síntese química, com custo da produção ou capacidade de produção em volume como condições limitantes. Esforços têm sido feitos para a síntese de nanopartículas com compostos químicos diferentes, de tamanhos controlados e monodispersos. Por exemplo, a síntese de biominerais compostos de uma parte inorgânica e de uma matriz orgânica específica pode ser proteica, lipídica, ou ainda formada por polissacarídeos, controlando a morfologia do composto inorgânico (WAN *et al.*, 2006).

As nanopartículas de prata são usadas massivamente em superfícies ou incorporadas a outros materiais que se tornam assim autoesterilizáveis, com aplicação atual no revestimento de instrumentos cirúrgicos, em tecidos (muito usado em meias), filtros de ar para ar-condicionado, entre outras dezenas de aplicações. Kowshik e colaboradores (2003) utilizaram a levedura MKY3, resistente à prata, para a síntese extracelular de nanopartículas entre 2 e 5, quando expostas a 1 mM de prata solúvel no meio. A sincronia dos efeitos de redução dos íons de prata provoca metabólitos excretados pelo microrganismo e a presença de peptídeos e polissacarídeos no meio; juntos, promovem a formação dos agregados de prata, bem como o controle do seu tamanho. Outros autores já haviam reportado ação semelhante (KLAUS *et al.*, 1999), contudo com

dimensões maiores, em torno de 200 nm.

### **Nanofilmes: Técnica *Layer-by-Layer***

Em escala laboratorial, é possível desenvolver estruturas e filmes finos, tais como: revestimentos nanocompósitos, filmes multicamadas, filmes nanoestruturados, filmes nanomodulados, filmes nanocristalinos e revestimentos nanograduados. Filmes nanoestruturados podem ser naturalmente sintetizados, como é o caso do filme de celulose produzido pela bactéria *G. xylinum*. Filmes multicamadas podem ser montados por deposição, método no qual os átomos ou as moléculas são adicionados à superfície do filme que está sendo preparado sobre determinado substrato.

Entre as metodologias de deposição para fabricação de nanofilmes, destaca-se a metodologia *Layer-by-Layer* (LbL), criada por Decher (1997). Basicamente essa metodologia consiste em imergir um substrato em soluções catiônicas e aniônicas, o que resulta em uma automontagem eletrostática. Utilizam-se polieletrólitos, polímeros que contêm grupos iônicos nas suas unidades repetitivas. Esses grupos iônicos em solução aquosa são parcialmente ionizados, e assim diferentes densidades de carga no polímero são obtidas. Baseada nessa propriedade, a formação de complexos polieletrólíticos pela interação entre poliânions e policátions na interface levou ao desenvolvimento de materiais híbridos nanoestruturados na forma de filmes finos (DECHER *et al.*, 1994; DECHER; SCHMITT, 1992). Esses polímeros, na sua maioria, são solúveis em solventes polares (SELVAN *et al.*, 1998), e os filmes assim produzidos são denominados filmes LbL.

Em função da faixa de pH, o íon se dissocia em solução. Há polieletrólitos fortes ou fracos. São exemplos de poliácidos: o poli (L-ácido láctico) (PLLA), o poli (ácido glicólico) (PGA), a poli (p-dioxanona) (PPD), o poli (hidróxi butirato) (PHB), o poli (hidróxi valerato) (PHV) e seus copolímeros; e são exemplos de polibases: as poli (amidas), poli (imidazidas), entre outras (VAN DER ELST *et al.*, 1999).

A popularização da formação de nanofilmes baseada na deposição de polímeros carregados via *layer-by-layer* ocorreu devido à versatilidade, facilidade de preparo e ao fato de que essa técnica pode ser aplicada não somente para polieletrólitos com cargas opostas, mas também para vários outros polímeros que possuam mútuas funcionalidades complementares (doador/receptor, adsorção/ciclos de secagem, ligações covalentes ou formação de estereocomplexos)

(DECHER *et al.*, 1994; DECHER; SCHMITT, 1992). Entre as técnicas usadas para obtenção de nanofilmes (filmes finos LbL), estão *casting*, *spin coating* e *dip coating* (DECHER; SCHMITT, 1992).

O que diferencia a metodologia *layer-by-layer* para obtenção de filmes finos de outras metodologias é o amplo espectro de materiais que podem ser incorporados nas multicamadas, entre eles: pequenas moléculas, proteínas, DNA, complexos iônicos, polímeros ou diferentes coloides. Outra característica interessante dessa metodologia é a possibilidade de controlar e ajustar a espessura e a estrutura do filme na escala nanométrica, simplesmente ajustando fatores como: força iônica, pH da deposição e números de ciclos (SCHLENOFF; DUBAS, 2001).

Os filmes LbL podem ter várias aplicações, incluindo eletrocromismo, catálise, sensores eletroquímicos, biossensores (CRESPILO *et al.*, 2006), entre outras áreas emergentes na nanotecnologia, especialmente aplicações biomédicas, nanoeletrônicas, como filmes antirreflexivos, filmes dielétricos (UNITED STATES NATIONAL NANOTECHNOLOGY INITIATIVE, 2012) ou isolantes (ONAH, 2005).

Entre os polímeros naturais utilizados para fabricação de diferentes produtos usando *layer-by-layer*, está a celulose. O elevado número de grupos de hidroxilas presentes na superfície das microfibrilas as torna susceptíveis para introdução de grupos funcionais por diferentes reações. Entre as principais formas de celulose utilizadas para funcionalização e formação de filmes finos, estão a celulose microcristalina (AULIN *et al.*, 2009; KONTTURI *et al.*, 2006) e a nanocelulose (nano *whiskers* - CNWs) (DONG, REVOL, JEAN, 1998; JEAN *et al.*; JEAN *et al.*, 2009).

Além de filmes finos feitos a partir de nanocelulose, recentemente diferentes filmes nanoestruturados de celulose foram produzidos com o emprego do ultrassom de alta potência. Filmes com diferentes características morfológicas e conseqüentemente distintas porosidades, cristalinidades, capacidades de retenção de água e rugosidades foram obtidos (FARIA TISCHER *et al.*, 2010).

Na nanobiotecnologia, os grupos que exploram a formação de nanofilmes de multicamadas com polieletrólitos e proteínas têm desenvolvido biossensores enzimáticos. Entre os trabalhos iniciais, destacam-se a formação de nanofilmes com polieletrólitos (PHA e PSS), usados como substratos para imobilização de IgG e anti-IgG (CARUSO *et al.*, 1997); a formação de nanofilmes marcados com

a proteína avidina e o anticorpo marcado biotina (HOSHI, ANZAI, OSA, 1995; ANZAI, KOBAYASHI, TAKESHITA, 1997; ANICET *et al.*, 1998) e a interação entre carboidrato e lecitina (ANZAI, HOSHI, NKAMURA, 2000a; ANZAI; KOBAYASHI, 2000b). Nesses trabalhos, a atividade da enzima foi medida por métodos eletroquímicos. Posteriormente a cinética de adsorção de DNA na superfície de PDDA foi avaliada, usando a técnica de BIACore (PEI *et al.*, 2001).

Mais recentemente, tem-se utilizado a técnica SPR (*Surface plasmon resonance*) para monitorar pequenas moléculas adsorvidas na superfície de filmes finos (HOMOLA; YEE; GAUGLITZ, 1999). Essa metodologia é mais utilizada para moléculas pequenas, como esteroides, toxinas, componentes de alimentos, drogas (MITCHELL, 2010).

Na ação de enzimas sobre proteínas ou polipeptídeos incorporados em nanofilmes, foram realizados trabalhos com a poligalacturonase em nanofilmes de multicamadas compostos por poli L-lisina e ácido poligalacturônico (WESTWOOD *et al.*, 2011), com a formação de nanoestruturas tubulares formadas por poli L-lisina e ácido poli L-glutâmico, usando membranas de policarbonato como modelo (JAN *et al.*, 2011), com o confinamento de polieletrólitos de multicamadas formados por PLL, PGA, CHI e DEX (dextran sulfato), em microgéis porosos termorresponsíveis (DÍEZ-PASCUAL; WONG, 2010).

Na engenharia de tecidos, destaca-se o uso de ácido hialurônico em combinação com diferentes polications e biopolímeros, como poli (L-lisina) PLL (PICART *et al.*, 2001; FUKUDA *et al.*, 2006), quitosana (CHI) (RICHERT *et al.*, 2004; THIERRY *et al.*, 2003), PHA (BURKE; BARRETT, 2005) e colágeno (ZHANG *et al.*, 2005; JOHANSSON *et al.*, 2005).

### Nanoemulsões

A principal diferença entre emulsões e nanoemulsões diz respeito ao tamanho e formato das partículas dispersas na fase contínua: as partículas ou gotas presentes nas nanoemulsões são menores (5-200 nm) frente às emulsões convencionais (1-20 µm). Como o tamanho das gotas são menores que 25% do comprimento de onda da luz visível, as nanoemulsões são transparentes (TENJARLA, 1999).

Enquanto as emulsões consistem de gotas esféricas rugosas de uma fase dispersa em outra, as nanoemulsões constantemente são formadas pela associação de várias estruturas, variando desde micelas inchadas no formato

de gotas a estruturas bicontínuas, fazendo com que a distinção usual “óleo em água” e “água em óleo” se torne irrelevante em alguns casos. A formação de uma nanoemulsão só ocorre quando a tensão interfacial óleo/água for diminuída a um nível muito baixo, fazendo com que a camada interfacial seja muito flexível e fluída (REISS, 1975).

Essas duas condições são geralmente atendidas pela escolha precisa e cuidadosa dos componentes e suas respectivas proporções, assim como pelo uso de “cossurfactantes ou cossolventes”, os quais fornecem flexibilidade à interface óleo/água (DEVARAJAN; RAVICHANDRAN, 2011).

A diferença principal entre emulsões e nanoemulsões é: enquanto as emulsões exibem excelente estabilidade cinética, elas são termodinamicamente instáveis, o que pode causar separação de fases. Outra diferença importante é a aparência: as emulsões são turvas, enquanto que as nanoemulsões são claras e translúcidas (SHINODA; LINDMAN, 1987).

Para se preparar uma nanoemulsão, requisitos adicionais precisam ser analisados cuidadosamente: 1) as moléculas da fase dispersa devem ser essencialmente insolúveis na fase contínua (WEBSTER; CATES, 2001); 2) o surfactante não pode resultar na formação de cristais líquidos liotrópicos (TLUSTY; SAFRAN, 2000); 3) a fase contínua deve ter significativo excesso de surfactante, normalmente na forma de micelas que se dissociam em monômeros, o que permite o rápido cobrimento das nanogotículas durante a emulsificação, inibindo coalescência; 4) alguma forma de cisalhamento extremo deve ser aplicado para ruptura das gotas em nanogotas (MASON *et al.*, 2006).

A composição flexível das nanoemulsões oferece uma grande faixa de aplicações nas indústrias: farmacêutica, de alimentos e de produtos de higiene pessoal. A incorporação de corantes fluorescentes e de outras moléculas na nanoemulsão torna-as interessantes sondas para explorar as propriedades de células vivas e para liberação de medicamentos. A natureza líquida e deformável das gotículas permite descobrir novos caminhos para a captação celular e dispersão. Ambos os medicamentos solúveis em óleo e em água podem ser incorporados nas nanogotas de nanoemulsões direta ou inversa, com potencial uso farmacêutico (MASON *et al.*, 2006).

Na área de higiene pessoal e na indústria de alimentos, produtos com melhores propriedades sensoriais e mais agradáveis podem ser produzidos com nanoemulsões, permitindo a formação de produtos sólidos transparentes

e macios, mas com propriedades reológicas plásticas. O tamanho reduzido das nanogotas poderá aumentar a eficiência no transporte de qualquer composto ativo ou outras moléculas através das membranas biológicas, incluindo a pele.

Entre as vantagens das nanoemulsões sobre outras formas farmacêuticas estão (MASON *et al.*, 2006):

- aumento da taxa de absorção;
- auxílio na solubilização de drogas lipofílicas;
- eliminação da variabilidade na absorção;
- aumento da biodisponibilidade;
- permite o uso por diferentes vias de administração;
- permite a veiculação de drogas lipofílicas e hidrofílicas;
- em liberação controlada de medicamentos, o uso de nanoemulsões aumenta a eficácia da droga, permitindo redução da dose do medicamento, assim minimiza efeitos colaterais.

Entre as desvantagens no uso das nanoemulsões, destacam-se (MASON *et al.*, 2006):

- capacidade de solubilização limitada para substâncias com alto ponto de fusão;
- a estabilidade é influenciada por parâmetros ambientais, como temperatura e pH, o que pode alterar a liberação da droga ao paciente;
- necessidade de grande concentração de surfactante e cossurfactante para estabilizar as nanogotas, e o mesmo deve ser não tóxico para uso farmacêutico.

#### **Nanoestruturas para encapsulação de ativos – liberação controlada**

As nanoestruturas (nanocarreadores), cuja arquitetura varia, podendo ser usadas como plataforma para liberação de compostos ativos, são (BAWA, 2007):

- nanopartículas/dispersão coloidal/nanocristais;
- *quantum-dots* (QDs);
- nanoconchas (*Nanoshells* – NSs);
- dendrímeros;
- lipossomas;
- micelas;
- ciclodextrinas;
- nanopartículas magnéticas;

- hidrogéis com nanoesferas;
- fulerenos.

Os lipossomas, as ciclodextrinas, as nanopartículas poliméricas e as nanopartículas lipídicas estão entre as principais nanoestruturas para encapsulação de ativos. As nanopartículas poliméricas compreendem dois tipos: as matriciais ou nanoesferas, compostas só de polímeros, e as vesiculares ou nanocápsulas, feitas de óleo e recobertas com polímero. Ambas são empregadas para encapsular ativos lipofílicos. Entre os polímeros naturais, destacam-se: quitosana, dextranas, gelatina, alginatos e amido, usados em sistemas para liberação de medicamentos e terapias gênicas. Os dendrímeros estão entre os polímeros ramificados usados para liberação de medicamentos, assim como os fulerenos (carreadores à base de carbono) (JONG *et al.*, 2008).

Entre os polímeros sintéticos, o mais utilizado em liberação controlada com administração parenteral é o ácido poli D-lático coglicólico (PLGA). Outros polímeros sintéticos bastante utilizados são o poli DL-lático (PLA) e a poli  $\epsilon$ -caprolactona. Eles não são tóxicos, e a velocidade de degradação pode ser modulada de acordo com a aplicação pretendida. O polímero poli hidroxibutirato (PHB), atualmente produzido no Brasil, é uma das alternativas mais promissoras devido às suas propriedades e ao baixo custo. Uma desvantagem de alguns polímeros sintéticos é o seu potencial antigênico, podendo apresentar toxicidade quando degradados ou hidrolisados (PICOS *et al.*, 2000; MOHAPATRA *et al.*, 2007). Ainda a hidroxipropil metilcelulose (HPMC), etilcelulose (EC), polivinilpirrolidona (PVP) e ésteres poliacrílicos são também muito utilizados. Esses materiais podem ser usados tanto para matriz quanto para revestimento na liberação controlada do fármaco. A estrutura cristalina de um polímero tem maior grau de empacotamento molecular e, portanto, tende a resistir mais à difusão de um fármaco em relação a polímeros amorfos com a mesma estrutura química (ZHU, 2002).

Quando se fala em medicamentos, as vantagens desse sistema estão na melhora da estabilidade química e física dos ativos, melhora da disponibilidade, manutenção do ativo no tecido alvo, possibilitando a penetração em regiões corpóreas de difícil acesso, solubilização de ativos hidrofóbicos, redução de efeitos colaterais e da toxicidade, assim como do número de doses e frequência de administração, o que proporciona maior conforto para o paciente (ANSEL *et al.*, 2007).

### Soluções para Agroindústria e Alimentos

A pesquisa em nanobiotecnologia voltada para a agroindústria está incluída dentre as políticas públicas descritas no documento colegiado e desenvolvido no *Fórum de Competitividade de Biotecnologia*, divulgado através do relatório *Estratégia Nacional de Biotecnologia* (FÓRUM DE COMPETITIVIDADE DE BIOTECNOLOGIA, 2006), publicado em dezembro de 2006, sob a supervisão do MDIC (Ministério do Desenvolvimento, Indústria e Comércio Exterior) e do CGEE (Centro de Gestão de Estudos Estratégicos). Dentre os temas a serem apoiados financeiramente, estão os métodos de liberação controlada e encapsulamento, tanto para uso humano como para a agroindústria.

As aplicações para a agroindústria de produtos nanobiotecnológicos ainda é experimental. Os dois campos mais promissores são o de nanossensores e o de liberação controlada de insumos (JOSEPH; MORRISON, 2006).

Os nanobiosensores derivam da tecnologia desenvolvida para diagnósticos associados ainda à tecnologia da informação. Um exemplo é o da empresa Dust Inc., que monitora as condições dos grãos de milho armazenados em silos e seu uso diretamente em plantações (HARDY, 2003), fornecendo informações em tempo real, a partir de sensores micrométricos espalhados em uma rede de informação sem-fio, integrado à agricultura de precisão.

Grandes empresas, como BASF, possuem patentes de produtos nanobio, como partículas de liberação controlada (WO03039249A3, 2006). A Syngenta possui produtos formulados com nanopartículas. Os produtos, como pesticidas, e reguladores de crescimento, formulados com nanoemulsões com esferas de 100 nm, melhoram, por sua vez, as características do espalhamento por *spray* do produto no implemento agrícola. Esse tipo de produto encontra incentivo para pesquisa e é listado como ponto estratégico para a bioindústria (FÓRUM DE COMPETITIVIDADE DE BIOTECNOLOGIA, 2006).

A nanotecnologia, contudo, esbarra na dúvida em relação à segurança dos alimentos que utilizam em algum nível esses produtos ou processos. A incorporação desses compostos e o efeito da sua ingestão precisam ser estudados exaustivamente, antes do lançamento como produto acabado (CHAU *et al.*, 2007).

Apesar disso, a capacidade de nanoestruturas de interagir com as células pode gerar resultados interessantes. Nanotubos de carbono (NTC) podem penetrar nas sementes de tomate e afetar positivamente seu crescimento. A

germinação foi significativamente maior em sementes que receberam NTC (10–40 µg/mL), comparados ao controle (KHODAKOVSKAYA *et al.*, 2009). Os métodos analíticos utilizados pelos autores demonstraram a efetiva penetração nas sementes de tomate.

Outras moléculas são mais inertes pela sua natureza química. Mesmo ingeridos, não causam dúvida quanto a sua toxicidade. Nanopartículas de carboidratos foram criadas para prolongar a eficácia de um peptídeo antimicrobiano (YANG *et al.*, 2011), a nisina (MELO *et al.*, 2005), ativa contra *Listeria monocytogenes*, contaminante usual de alimentos, como frangos e carnes. Esta nanopartícula foi capaz de liberar gradualmente a nisina, aumentando o tempo de prateleira de dias para até 3 semanas e diminuindo efetivamente a população de *Listeria*. A nisina tem tempo de meia-vida reduzido, sendo inativada rapidamente, o que não ocorre se envolta pelo biomaterial da nanopartícula, liberando gradualmente o antimicrobiano em uma quantidade suficiente para eliminar o contaminante.

### Nanotecnologia e Saúde

Entre as áreas que tiveram um avanço significativo com as pesquisas nanotecnológicas, destaca-se a área da saúde, englobando os setores farmacêutico, odontológico e médico.

Raj Bawa (2007) destaca importantes avanços que poderão ser alcançados em diferentes áreas da nanomedicina:

- síntese e uso de novos materiais nanoestruturados e nanomateriais (menos antigênicos);
- nanoestruturadas biomiméticas (produtos sintéticos desenvolvidos a partir da compreensão dos sistemas naturais biológicos);
- ferramentas, métodos e instrumentos analíticos para entendimento de biomoléculas com uma ou multissubunidades, ou doenças celulares individuais (combinando técnicas bioquímicas, espectroscópicas e de imagem);
- dispositivos e nanossensores para precoce detecção pontual de doenças e patógenos (diagnóstico *in vitro*, através de *biochips* ultrasensíveis e altamente integrados, que respondem à reação da DNA polimerase acoplada com micro ou nanofluidos);
- marcadores/alvos/receptores/ligantes biológicos para imagem,

diagnóstico e terapia;

- construção de dispositivos, implantes, sistemas, nanoestruturas biológicas multifuncionais que integrem diagnóstico, liberação controlada de medicamentos marcados e imagem;
- nanodispositivos capazes de atravessar barreiras biológicas;
- nanossensores *in vivo*, incorporados em dispositivos sensíveis a estímulo (cateteres), capazes de fornecer informações sobre o estado patológico, identificando a patologia ou alteração molecular.

Na área farmacêutica, podemos destacar o desenvolvimento nanotecnológico nos setores de embalagens, descoberta de biomarcadores, produtos para diagnóstico e liberação de medicamentos.

Os biomarcadores são moléculas que podem ser medidas no sangue, em fluidos corporais e tecidos, para avaliar a presença de doença ou o estágio de desenvolvimento patológico. A variação de somente um par de bases no genoma entre indivíduos da mesma espécie é denominada polimorfismo de nucleotídeo único (*single-nucleotide polymorphism* - SNPs). A nanotecnologia tem auxiliado na produção de *chips*, melhorando e aumentando sua capacidade de detecção (sensibilidade) e credibilidade, com um método analítico que usa *quantum-dots* (cristais semicondutores de dimensões nanométricas que apresentam propriedades de fluorescência ajustadas de acordo com seus diâmetros). Pesquisadores americanos têm usado esse método para avaliar os SNPs em genes que codificam para enzimas do citocromo P450, família de enzimas envolvida na modificação de substâncias, inclusive medicamentos, no corpo. É um método adequado para o estudo de grande quantidade de amostras e de vários SNPs simultaneamente (análise múltipla) (THOMPSON, 2011).

Anticorpos inseridos em nanofios podem ser usados, de maneira semelhante, para detectar vírus, por exemplo, em amostras de sangue (LARKIN, 2004; PATOLSKY *et al.*, 2004). A ligação de uma única partícula viral ao anticorpo resulta em mudança na condutividade elétrica do nanofio; o método é muito sensível e pode detectar doenças em estágio inicial. Sensores baseados em nanotubos de carbono também têm sido testados para esse propósito (DEISINGH; THOMPSON, 2004).

Métodos de diagnóstico baseados em cantilévers, nanofios e nanotubos oferecem outra vantagem: não é necessário utilizar marcador para a amostra. A detecção do resultado visual (a olho nu) pode ser preferível, evitando técnicas

caras, que requerem equipamento especializado e preparativos adicionais da amostra. Nesse sentido, métodos de diagnóstico têm sido desenvolvidos com partículas de ouro de 10 nm amplificadas com prata, o que permite amplificação do sinal e viabiliza a detecção a olho nu (MA; SUI, 2002).

Entre as nanotecnologias com potencial aplicação em diagnóstico molecular, estão a nanotecnologia sob *chip* (nanoChip™, nanoArrays™), a tecnologia de nanopartículas (partículas de ouro, nanocódigo de barras, tecnologia *Quantum-dot*, sondas nanopartículas) e outras tecnologias (nanofios, nanoporos, ensaio de cantiléver, nanomáquinas de DNA para diagnóstico molecular, nanossensores e tecnologia de *espalhamento de luz* ressonante — *RLS*) (JAIN, 2003). O desenvolvimento de filmes finos apresenta perspectivas interessantes no diagnóstico de endemias brasileiras, como a dengue; filmes finos de polissacarídeos são suporte para proteínas reativas, como a concanavalina, e o sistema imune (VALENGA *et al.*, 2012).

Na área de engenharia tecidual, como os tecidos naturais ou órgãos, as células interagem diretamente com (e criam) a matriz extracelular nanoestruturada; as características biomiméticas e excelentes propriedades físico-químicas dos nanomateriais desempenham um papel chave na estimulação do crescimento celular, funcionando como guia (suporte) para regeneração tecidual. Vários nanomateriais têm sido estudados para aplicação na engenharia de diferentes tecidos, entre eles, o tecido ósseo, cartilagem, pele, bexiga, tecido neural, vascular, entre outros (ATALA, 2009).

Recentemente cientistas da Universidade de Michigan sintetizaram esferas ocas feitas por nanofios, com polímeros biodegradáveis que podem se auto-organizar. Essa estrutura integrou-se ao corpo, mimetizando a arquitetura da matriz extracelular; foi observada eficiente acomodação das células à estrutura, com aumento da regeneração da cartilagem, comparado com microesferas de controle. A regeneração foi mais eficiente do que quando comparada a um grupo que recebeu condrócitos sozinhos em um modelo de implantação ectópica. Assim essas esferas mostraram-se um transportador eficiente de células injetáveis para regeneração da cartilagem (LIU *et al.*, 2011).

Outro grupo desenvolveu uma estratégia para fornecimento de fibroblastos fator de crescimento 9 (FGF9), ao mesmo tempo em que o corpo está os sintetizando, com o objetivo de formar novos vasos sanguíneos em órgãos vulneráveis ou com dano tecidual (FRONTINI *et al.*, 2006).

Na pele, as células epidérmicas devem reagir rapidamente ao sinal de dano tecidual proveniente dos lipídeos extracelulares que circundam os espaços no extrato córneo, participando do processo inicial de reparação tecidual. Pesquisadores do Japão observaram que a administração tópica ao extrato córneo de cristais líquidos liotrópicos nanocúbicos rapidamente romperam a estrutura lamelar de lipídeos, que poderia ser reconhecida como a pele sem dano tecidual. Foi observado um aumento significativo dos fatores de crescimento, enquanto as citocinas inflamatórias foram detectadas após administração dos nanocubos, sugerindo que a mudança estrutural nos lipídeos pode estimular e desencadear o reconhecimento da lesão e o reparo na resposta tecidual como homeostase (YAMAGUCHI *et al.*, 2006).

Na regeneração de tecidos, como cartilagem e ossos, arcabouços (*scaffolds*) a base de nanocompósitos têm sido desenvolvidos. Estudos *in vitro* demonstraram que nanofase de ácido hialurônico (67 nm dimensão do grão) aumentou significativamente a adesão de osteoblastos quando comparado com grãos de maior dimensão (179 nm), após somente 4h de cultura. Os autores sugerem que isso ocorreu devido à maior adesão da vitronectina (proteína que promove a adesão de osteoblastos) (WEBSTER *et al.*, 2000). Em outro estudo, a fabricação de *scaffold* constituído por microesferas 3D biodegradáveis, formadas por nano-hidroxiapatita/polímeros inorgânicos, apresentaram boas propriedades mecânicas (módulo de compressão de 46 a 81 mPa) e citocompatibilidade para aplicação em regeneração de ossos (NUKAVARAPU *et al.*, 2008).

Nanocerâmicas, incluindo óxido de zinco, titânio e alumina, apresentaram bons resultados para a regeneração de tecidos ósseos e cartilagem, por exemplo, a adesão de osteoblastos aumentou de 146% a 200%, quando avaliado nanofase de óxido de zinco (23 nm) e de titânio (32 nm) em comparação com microfase de óxido de zinco (4,9 µm) e de titânio (4,1 µm), respectivamente (COLON *et al.*, 2006). Também foi observado aumento da síntese de colágeno; e, em particular, as nanofibras de alumina aumentaram a síntese de colágeno, a atividade da fosfatase alcalina e a deposição de cálcio mineral pelos osteoblastos (WEBSTER *et al.*, 2005).

Adicionalmente, devido às superiores propriedades mecânicas e elétricas e à citocompatibilidade, os nanotubos e nanofibras de carbono sozinhos ou como compósitos com polímeros são excelentes candidatos de (arcabouços) *scaffolds*, para regeneração de ossos (TRAN *et al.*, 2009).

*Scaffolds* constituídos por nanofibras de PLLA ou PCL, fabricados por *eletrospinning* e separação de fase, demonstraram excelente citocompatibilidade para aplicação na engenharia de tecidos neurais (KOH *et al.*, 2008). Outros estudos realizaram a incorporação de laminina e quitosana (PRABHAKARAN *et al.*, 2008) aos polímeros PLLA e PCL respectivamente.

Implantes dentários feitos com titânio modificado por nanotopografia aumentam enormemente a osteointegração, diminuindo o tempo de tratamento e melhorando os resultados a longo prazo (MENDONÇA *et al.*, 2008). Com a superfície dos implantes de titânio modificado, criam-se nanoestruturas que propiciam uma adesão mais eficiente dos osteoblastos com efeito positivo, portanto, na formação óssea.

### Nanoprodutos Comercializados

A nanotecnologia como ciência está em processo de transformação. Segundo o tipo de produtos gerados, o presidente do Conselho Nacional de Ciência dos Estados Unidos, Mihail Roco, desenvolveu quatro gerações de nanotecnologia (NANOWERK, 2012a):

- **Nanoestruturas passivas:** de 2000 a 2005 — primeira geração de produtos feitos de nanopartículas, superfícies e materiais nanoestruturados;
- **Nanoestruturas ativas:** a partir de 2006, as iniciativas de P&D se concentram na fabricação de elementos nanoeletrônicos (transistores, amplificadores), de sistemas de distribuição de medicamentos (*drug-delivery*) e de estruturas adaptativas;
- **Nanossistemas:** em 2010, os grandes objetivos estão relacionados, sobretudo, à produção controlada de montagens de nanossistemas, de novas arquiteturas e redes para eletrônica, de desenvolvimento da robótica e de sistemas evolutivos;
- **Nanossistemas moleculares:** em torno de 2015 e 2020, tratar-se-á de conceber novos dispositivos moleculares e de tornar possível sua concepção em nível atômico, com a realização de funções emergentes.

Os principais campos onde os nanoprodutos têm aplicação são nas áreas de (NANOWERK, 2012b):

- química;
- comodites;
- construção;

- energia;
- meio ambiente;
- alimentos;
- industrial;
- informática e tecnologia da informação;
- medicina;
- engenharia de precisão;
- têxteis e vestuário;
- transportes.

As dezenas de produtos de base, atualmente computados acima e considerados derivados de nanotecnologias, são matéria-prima e base para outros milhares de produtos. Uma infinidade de outros surgem a partir destes: de tintas a produtos *pet*; alguns desses serão retratados aqui. Um exemplo clássico e tangível está nos processadores usados hoje; com componentes na faixa de 22 nm (Intel série i5 e i7), são usados em equipamentos, como *smartphones*, e em todas as formas de computadores (*tablets*, *notebooks* e *desktops*).

Na área química, por exemplo, o EcoSphere® é uma nanoesfera de polímeros produzidos a partir carboidratos (mono e oligossacarídeos), portanto de origem natural. O EcoSphere biolátex é usado como aglutinante para manufatura industrial de papel. Substitui o estireno, um derivado do petróleo, aumentando a qualidade de gráficos coloridos em revistas, livros e embalagens coloridas (ECOSYNTHETIX, 2012).

A Cargil associou-se a TopChim, empresa de pesquisa e desenvolvimento de origem belga, com unidade no Brasil, para desenvolver nanocompósitos de origem biológica, como selantes de papel e madeira. Esses materiais cobertos com os biopolímeros modificados se tornam hidrofóbicos e hidrofílicos, possuem efeito retardante de chamas e resistência à permeação de água e vapor (TOPCHIM, 2012).

Na área de protetores solares e cosméticos, destaca-se o uso de nanopartículas de dióxido de titânio e óxido de zinco. Eles refletem os raios ultravioletas (UV) e são transparentes à luz visível, sendo mais atrativos aos consumidores.

Como tecidos impermeáveis, a empresa americana chamada Nano-Tex LLC cria tecidos especiais, que repelem a água. A adição permanente de *whiskers* hidrofóbicos às fibras do tecido que se aderem à fibra de celulose não alteram

a aparência do tecido, por serem nanopartículas. Isso permite a modificação no âmbito molecular das fibras individuais do tecido, que efetiva e rapidamente repelem o líquido, sem deixar nenhum vestígio (RATNER; RATNER, 2002).

Nanopartículas de argila modificadas que contêm plásticos e nanoflocos de argila estão sendo aplicados na construção de amortecedores de carros mais resistentes (GACITUA *et al.*, 2005).

A empresa chamada Pilkington oferece um produto, por eles chamado de *Activ Glass*, que usa nanopartículas para fazer o vidro fotocatalítico e hidrofílico. O efeito fotocatalítico significa que as nanopartículas que recobrem o vidro são ativadas pelos raios ultravioleta e quebram as moléculas orgânicas, diminuindo a aderência da sujeira inorgânica (PILKINGTON, 2012). Com isso a sujeira é carregada pela chuva. Vidros hidrofílicos permitem que, quando a água entra em contato com o vidro, ela se espalha uniformemente em toda a superfície, ajudando a lavá-los e a mantê-los limpos.

A multinacional dinamarquesa Dyrup (ADN - *Advanced Dyrup Nanoforce*) marca uma nova geração de tintas, baseada em nanotecnologia. O uso de nanopartículas em tintas traz benefícios: não sujam, há maior resistência ao fogo, mantêm a cor por mais tempo e não absorvem a água da chuva (DYRUP, 2012).

O grande mercado da área de *displays* beneficia-se muito com a nanotecnologia. Os painéis são mais brilhantes, com tela plana, e são desenvolvidos com nanomateriais. Recentemente os nanotubos de carbono são investigados para o uso em telas devido a uma grande variedade de vantagens: telas com menor voltagem de emissão de campo, condutividade, brilho e outras características. Outro material utilizado recentemente na construção de displays são os OLEDs e LEDs, desenvolvidos com materiais orgânicos. Há o desenvolvimento de baterias mais leves e com mais capacidade de energia. Materiais nanocristalinos sintetizados por técnicas sol-gel são os candidatos mais promissores, podendo armazenar bem mais energia do que as baterias convencionais: os *chips* de computador. Em novembro de 2004, um grupo de pesquisadores alemães anunciou a criação do menor transistor obtido até hoje. Esse transistor possui 18 nm de tamanho de canal. Além da miniaturização dos dispositivos atuais, outra tendência ganha força no desenvolvimento da computação e da eletrônica, a Eletrônica Molecular, que, diferentemente da eletrônica convencional, utiliza moléculas orgânicas ao invés de semicondutores baseados em silício.

Entre os fármacos comercializados em nanopartículas poliméricas, estão Lupron Depot e Enantone Depot®, utilizados no tratamento de endometriose, Decapeptil®, Abraxane e Paclitaxel, para câncer, e Paridel®, como anti-inflamatório.

Vários medicamentos (hidrofílicos e hidrofóbicos) têm sido incorporados em nanopartículas lipídicas (sólidos) ou em carreadores lipídicos nanoestruturados para administração oral, entre eles, o ácido transretinoico, ciclosporina A, camptotecina, curcumin, digoxina, fenofibrato, insulina, lovastatin, melatonina, metotrexato, praziquantel, entre outros (DAS; CHAUDHURY, 2011). Entre os medicamentos já aprovados pela *Food and Drug Administration* (FDA) e comercializados, estão Ambisome® anfotericina B lipossomal, Daunoxome® (daunorrubicina lipossomal), Doxil® (daunorrubicina em lipossomas furtivos "stealth liposomes"), Depocyt® (citarabina lipossomal) e Visudyne® (verteporfina lipossomal).

Curativos antimicrobianos são curativos produzidos com nanopartículas de prata, uma vez que os íons prata bloqueiam a respiração celular dos microrganismos, inibindo seu crescimento. Entre os curativos com liberação controlada de prata, estão Acticoat® (Smith & Nephew, Largo, FL) Silverlon® (Argentum, Lakemont, GA) & Silvasorb® (Medline Industries, Inc, Mundelein, IL).

Na área de cosméticos, pelo menos 256 produtos têm um ou mais ingredientes na escala nanométrica. Alguns dos principais ingredientes presentes em cosméticos estão descritos na tabela abaixo:

**Tabela 1** - Produtos com um ou mais insumos nanotecnológicos contidos nas suas formulações (ENVIRONMENTAL WORKING GROUP, 2012).

Nanocomposto	Número de Produtos	Uso do produto
Nanossomos de arnica	1	Tratamento da acne
Fulerenos	3	Anti-idade, hidratante facial, creme para redor dos olhos
Nanoesferas de Lyphazome®	5	Creme para redor dos olhos, hidratante, anti-idade, tratamento da acne
Peróxido de benzoíla micronizado	3	Tratamento de acne
Lipossomas micronizados	3	Hidratante facial, anti-idade, creme para redor dos olhos

*continua*

continuação

Dióxido de titânio micronizado	97	Anti-idade, <i>blush</i> , condicionador, lápis de olho, sombra de olho, hidratante/tratamento facial, limpeza facial, deliniador de lábios, pó, batom, brilho, tratamento de vermelhidão, desbotamento da pele, protetor solar / óleo bronzeador.
Dióxido de titânio micronizado, coberto com dimeticona	15	<i>Blush</i> , base, pó e sombra de olho
Óxido de zinco micronizado	77	Anti-idade, <i>blush</i> , sombra de olho, hidratante facial, brilho, base, protetor solar / óleo bronzeador
Nano-óxido de zinco	5	protetor solar / óleo bronzeador, batom para tratamento labial
Sistemas nano- <i>delivery</i>	4	Creme redor dos olhos, anti-idade, loção firmadora do corpo
Nanossomos de vitamina A	3	Anti-idade, limpeza corporal
Nanovitaminas	26	protetor solar / óleo bronzeador, sombra de olho, brilho

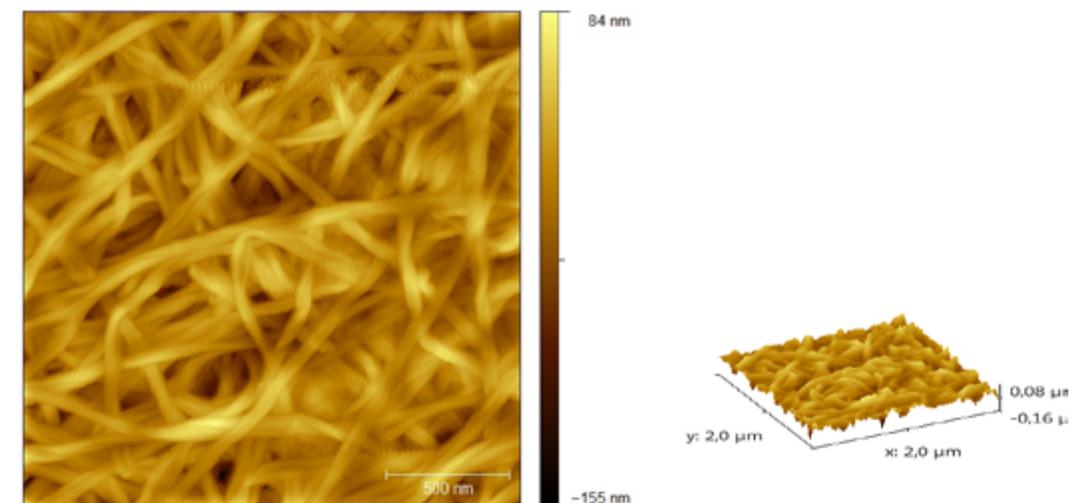
### Metodologias de análise

Em 1873, Johannes D. van der Waals (MAXWELL, 1874) apresentou sua tese de doutorado, inferindo tamanhos finitos a partículas (moléculas) e forças de atração entre elas. Da mesma forma que o trabalho contínuo de van der Waals, premiado com o Nobel em 1910, levou aos trabalhos teóricos de Einstein sobre capilaridade e movimento Browniano, as ciências biológicas se beneficiaram com os avanços tecnológicos da física, microinformática e tecnologia dos materiais.

A própria nanotecnologia tem papel nisso, tanto nos processadores que permitem cálculos e controle preciso dos processos e das análises, como nos materiais utilizados. Um exemplo disso é a capacidade de leitura de dados em analisadores de íons de espectrômetros de massa onde fragmentos de compostos são detectados, separados e apresentados em 20  $\mu$ s, o que traz uma capacidade de determinação estrutural pelo aumento da precisão. A capacidade construtiva conspira a favor da evolução dos equipamentos analíticos. O cantilever, sonda de microscopia de força atômica (AFM), é produzido por fotolitografia, a mesma técnica utilizada para produzir os processadores de computador atuais, por meio do uso de sais de silício. Com a fotolitografia, é possível produzir um cantilever

com 5 a 10 nm de espessura e 200 nm de largura. Essa técnica de construção permite obter componentes mecânicos com regularidade, reprodutibilidade e características físicas determinadas. No caso da AFM — que permite através da constante de mola característica para diferentes tipos de cantiléver, estabelecer parâmetros de interação com o material — informações como rugosidade, textura e topografia, além da já impressionante capacidade de resolução para gerar imagens (figura 6).

**Figura 6** - Microscopia de força atômica (AFM) de filme celulose bacteriana modificada a) visão bidimensional mostrando as fibras (*ribbons*) de celulose com cerca de 120 nm, b) gráfico da variação topográfica da secção diagonal de (a), e c) representação tri-dimensional de (a) mostrando a topografia do filme de celulose bacteriana.



Desafios técnicos que envolvem o ambiente analítico também passam a exigir maior rigor, como estabilidade de corrente, contra vibrações, pois mínimas variações nestes e em outros quesitos alteram resultados e a capacidade de equipamentos. A operação do equipamento, apesar do esforço em tornar a interação homem-máquina a mais amigável possível, exige treinamento e constância; conhecimentos de base mais fortes nas áreas técnicas, como eletrônica e mecânica, são requisitos interessantes para o operador de rotinas desses equipamentos.

Existe literatura bastante variada, inclusive em português, que descreve os diferentes equipamentos usados na nanotecnologia. A combinação de técnicas diferentes permite chegar a conclusões semelhantes. Essa redundância natural

do método científico gera uns cem números de possibilidades de protocolos de análise. Segue-se abaixo uma tabela com as técnicas utilizadas para caracterizar nanomateriais e conseqüentemente nanobiomateriais, adaptada de Tyner (2010), em que os equipamentos estão separados pela natureza da resposta obtida.

**Tabela 2** - Técnicas comuns usadas para caracterização de nanomateriais (TYNER, 2010).

Morfologia	Técnicas <sup>1</sup>
Tamanho (partícula primária)	TEM, SEM, AFM, XRD
Tamanho (primário/agregado/aglomerado)	TEM, SEM, AFM, DLS, FFF, AUC, CHDF, XDC, HPLC, DMA(1), QCM
Distribuição de tamanho	TEM, SEM, AFM, DLS, AUC, FFF, HPLC, SMA
Peso molecular	SLS, AUC, GPC
Estrutura/Formato	TEM, SEM, AFM, NMR
Estabilidade (estrutura 3D)	DLS, AUG, FFF, SEM, TEM, QCM
Superfície	
Área de superfície	BET
Carga de superfície	SPM, GE, métodos de titração
Potencial Zeta	LDE, ESA, PALS
Composição de revestimento da superfície	SPM, XPS, MS, RS, FTIR, NMR,
Cobertura de revestimento da superfície	AFM, AUC, TGA
Reatividade da superfície	Varia com o nanomaterial
Interação núcleo-superfície	SPM, RS, ITC, AUC, GE, QCM
Topologia	SEM, SPM, MS
Química	
Composição química (núcleo, superfície)	XPS, MS, AAS, ICP-MS, RS, FTIR, NMR
Pureza	ICP-MS, AAS, AUC, HPLC, DSC
Estabilidade (química)	MS, HPLC, RS, FTIR
Solubilidade (química)	Varia com o nanomaterial
Estrutura (química)	NMR, XRD
Cristalinidade	XRD, DSC
Atividade catalítica	Varia com o nanomaterial
Outras	
Incorporação de drogas	MS, HPLC, UV-Vis, Varia com o nanomaterial
Potencial/funcionalidade de drogas	Varia com o nanomaterial
Liberção in vitro (detecção)	UV-Vis, MS, HPLC. Varia com o nanomaterial
Deformabilidade	AFM, DMA(2)

<sup>1</sup> A sigla e o nome das técnicas estão descritos em inglês. Abaixo se segue a lista dos acrônimos em inglês, seguidos dos nomes em inglês e em português, como é mais citado; algumas variações existem, e esta lista tem como objetivo ser um guia para busca de literatura em português.

AAS	<i>Atomic absorption spectroscopy</i> : espectroscopia de absorção atômica
AFM	<i>Atomic force microscopy</i> : microscopia de força atômica
AUC	<i>Analytical ultracentrifugation</i> : ultracentrifugação analítica
BET	<i>Brunauer, Emmett, and Teller method</i> : ou método BET
CHDF	<i>Capillary hydrodynamic fractionation</i> : fracionamento por capilar hidrodinâmico
DLS	<i>Dynamic light scattering</i> : espalhamento de luz dinâmico
DMA(1)	<i>Differential mobility analyser</i> : analisador diferencial de mobilidade elétrica
DMA(2)	<i>Dynamic mechanical analyser</i> : análise dinâmico mecânica
DSC	<i>Differential scanning calorimetry</i> : calorimetria diferencial de varredura
ESA	<i>Electroacoustic spectroscopy</i> : espectroscopia eletroacústica
FFF	<i>Field flow fractionation</i> : Fracionamento por Campo e Fluxo
FTIR	<i>Fourier transform infrared spectroscopy</i> : Espectroscopia de Infravermelho com transformada de <i>fourier</i>
GE	<i>Gel eletrophoresis</i> : eletroforese em gel
GPC	<i>Gel permeation chromatography</i> : cromatografia de gel permeação
HPLC	<i>High performance liquid chromatography</i> : cromatografia líquida de alta eficiência
ICP-MS	<i>Inductively coupled plasma mass spectrometry</i> : espectrometria de massa com plasma indutivo
ITC	<i>Isothermal titration calorimetry</i> : calorimetria isotérmica de titulação
QCM	<i>Quartz Crystal Microbalance</i> : microbalança de cristal de quartzo
LDE	<i>Laser Doppler electrophoresis</i> : eletroforese Doppler, ou medida de potencial Zeta, ou ainda conhecido pelo modelo de equipamento ( <i>Zetasizer</i> ®)
MS	<i>Mass spectrometry (GC-MS, TOF-MS, ESI-MS, etc.)</i> : espectrometria de massa hifenada, ou seja, acoplada a algum sistema adicional, como a cromatógrafo gasoso ( <i>GC, gas chromatography</i> ), ou analisador por tempo de voo ( <i>TOF, Time-of-flight</i> ), ou com ionizador por nebulização ( <i>ESI, electrospray ionization</i> )
NMR	<i>Nuclear magnetic resonance</i> : ressonância magnética nuclear
PALS	<i>Phase analysis light scattering</i> : análise de fase de luz espalhada
RS	<i>Raman spectroscopy</i> : espectroscopia de Raman
SEM	<i>Scanning electron microscopy</i> : microscopia eletrônica de varredura
SLS	<i>Static light scattering</i> : espalhamento de luz estático
SMA	<i>Scanning mobility particle size</i> : tamanho de partículas por mobilidade elétrica
SPM	<i>Surface probe microscopy (AFM, STM, NSOM, etc.)</i> : STM, microscopia de tunelamento, NSOM, microscópio óptico de campo próximo

TEM	<i>Transmission electron microscopy</i> : microscopia eletrônica de transmissão
TGA	<i>Thermal gravimetric analysis</i> : análise termogravimétrica
UV-Vis	<i>Ultraviolet-visible spectroscopy</i> : espectroscopia do Ultravioleta
XDC	<i>X-ray disk centrifuge</i> : sedimentômetro por centrífuga a disco
XPS	<i>X-ray photoelectron spectroscopy</i> : <i>espectroscopia</i> de fotoelétrons excitados por raios-x
XRD	X-ray diffraction: difração de raios-x

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

A nanobiotecnologia é uma área emergente da nanotecnologia que tem contribuído e trará avanços significativos para diferentes áreas, como medicina preventiva, curativa ou diagnóstica, na área farmacêutica, para agricultura, na área de alimentos, embalagens, entre outros. O desenvolvimento da nanobiotecnologia se faz através da união de diferentes centros de pesquisa, associando conhecimentos específicos em prol do desenvolvimento de produtos, processos, metodologias e instrumentação. O desenvolvimento de biomarcadores, montagem molecular, sensores para crescimento celular, carregadores de fármacos, nanocélulas para tratamento de câncer, nanorrobôs, são alguns exemplos de sucesso, comprovando que a possibilidade de avanço nessa área é tão diversificado e surpreendente quanto são os modelos, mecanismos e as estruturas que constituem o nosso corpo.

Esse admirável mundo novo não está isento de supervisão e crítica. Devem-se considerar efeitos toxicológicos dos nanocompostos, que poderiam atravessar barreiras biológicas e comprometer os processos celulares. Também se devem levar em conta os exemplos que naturalmente existem, como o efeito devastador de prions relacionados a encefalopatia espongiforme bovina. A miniaturização de biossensores e seu uso em diagnóstico permitirá em breve detectar doenças genéticas em horas ou minutos. O uso ético dessa informação gera a necessidade da discussão da responsabilidade do pesquisador nesse processo.

O salto de desempenho já sentido hoje na área da nanoinformática nos permite ver no horizonte que as tecnologias de manipulação e de conhecimento da matéria trarão produtos e processos que outrora era ficção e que, agora, se apresentam na transição entre a ciência de fato e a realidade geradora de benefícios.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALVES, O. L. **Laboratório de química do estado sólido**. Disponível em: <<http://lqes.iqm.unicamp.br/>>. Acesso em: 30 jan. 2012.
- ANICET, N.; BOURDILLON, C.; MIROUX, J.; SAVEANT, J.M. Electron transfer in organized assemblies of biomolecules. step-by-step avidin/biotin construction and dynamic characteristics of a spatially ordered multilayer enzyme electrode. **Journal of Physical Chemistry B**, v. 102, n. 49, 9844-9849, 1998.
- ANSEL, H. C.; POPOVICH, N. G.; ALLEN, L. V. Formas farmacêuticas com velocidade controlada e sistemas de liberação de fármacos. In: **Farmacotécnica: formas farmacêuticas e sistemas de liberação de fármacos**. São Paulo: Premier, 2007. cap. 9, p. 283-300.
- ANZAI, J.; HOSHI, T.; NKAMURA, N. Construction of multilayer thin films containing avidin by a layer-by-layer deposition of avidin and poly(anion)s. **Langmuir**, v. 16, n. 15, p. 6306-6311, 2000a.
- ANZAI, J.; KOBAYASHI, Y. 2000. Construction of multilayer thin films of enzymes by means of sugar /lectin interactions. **Langmuir**, v. 16, n. 6, p. 2851-2856, 2000b.
- ANZAI, J.; KOBAYASHI, Y.; TAKESHITA, K. Enzymes multi layer modified biosensors. Use of streptavidin and deglycosylated avidin for constructing glucose oxidase and lactate oxidase multilayers. **Analytical Science**, v. 13, n. 5, p. 859-861, 1997.
- ATALA, A. Engineering organs. *Current Opinion in Biotechnology*, v. 20, p. 575-592, 2009.
- ATWOOD J.L.; DAVIES, J.E.; MACNICOL, D.D.; VOGTLE, F.; REINHOUDT, D. N.; LEHN, J-M. Eds. **Comprehensive Supramolecular Chemistry**, Pergamon-Elsevier Science, Oxford, 1996.
- AULIN, C.; AHOLA, S.; JOSEFSSON, P.; NISHINO, T.; HIROSE, Y.; O STERBERG, M.; WÅGBERG, L. Nanoscale cellulose films with different crystallinities and mesostructures - their surface properties and interaction with water. **Langmuir**. v. 25, n. 13, p. 7675-7685, 2009.
- AYRES, N. Polymer brushes: Applications in biomaterials and nanotechnology. **Polymer Chemistry**, v. 1, n. 6, p. 769-777, 2010.
- BAKER, A. A.; HELBERT, W.; SUGIYAMA, J.; MILES, M. J. New Insight into Cellulose Structure by Atomic Force Microscopy Shows the Ia Crystal Phase at Near-Atomic Resolution. **Biophysical Journal**, v. 79, n. 2, p. 1139-1145, 2000.
- BASF AKTIENGESELLSCHAFT. **"Nanoparticles Comprising a Crop Protection Agent."** Alemanha. WO03039249A3. 2006.
- BAWA, R. The future of nanomedicine. In: T. Mack (Ed.), **Hopes and visions for the 21st Century**, Bethesda, World Future Society, 2007, p. 427.
- BAWA, R.; BAWA, S. R.; MAEBIUS, S. B.; FLYNN, T.; WEI, C. Protecting new ideas and inventions in nanomedicine with patents. **Nanomedicine**, v. 1, n. 2, p. 150-158, 2005.
- BHASKAR, K.; ANBU, J.; RAVICHANDIRAN, V.; VENKATESWARLU, V.; RAO, Y. M. Lipid nanoparticles for transdermal delivery of flurbiprofen: formulation, in vitro, ex vivo and in vivo studies. **Lipids in Health and Disease**, v. 8, n. 6, p. 1-15, 2009.

- BI, L.; YANG, L.; NARSIMHAN, G.; BHUNIA, K.; YAO, Y. Designing carbohydrate nanoparticles for prolonged efficacy of antimicrobial peptide. **Journal of controlled release**, v. 150, p. 150-156, 2011.
- BINNIG, G.; ROHRER, H. 'Scanning tunneling microscopy', **IBM Journal of Research and Development**, v. 30, n. 4, p. 355-369, 1986.
- BURKE, S.E.; BARRETT, C.J. Swelling Behavior of Hyaluronic Acid/Polyallylamine Hydrochloride Multilayer Films. **Biomacromolecules**, v.6, n. 3, p. 1419-1428, 2005.
- CARUSO, F.; NIIKURA, K.; FURLONG, D. N.; OKAHATA, Y. Assembly of Alternating Polyelectrolyte and Protein Multilayer Films for Immunosensing. **Langmuir**, v. 13, n. 13, p. 3427-3433, 1997.
- CHAN, W. C.; NIE, S. Quantum dot bioconjugates for ultrasensitive nonisotopic detection. **Science**, v. 281, n. 5385, p. 2016-2018, 1998.
- CHAU, CHI-FAI; WU, SHIUAN-HUEI; YEN, GOW-CHIN. The development of regulations for food nanotechnology. **Trends in Food Science & Technology**, v. 18, n. 5, p. 269-280, 2007.
- COLES, SIMON J.; GALE, PHILIP A. Changing and challenging times for service crystallography. **Chemical Science**, v.3, p. 683-689, 2012.
- COLON, G.; WARD, B. C.; WEBSTER, T. J. Increased osteoblast and decreased staphylococcus epidermidis functions on nanophase ZnO and TiO<sub>2</sub>. **Journal of Biomedical Materials Research part A**, v. 78, n. 3, p. 595-604, 2006.
- CRESPILHO, F. N.; ZUCOLOTTI, V.; OLIVEIRA JR, O. N.; NART, F. C. Electrochemistry of Layer-by-Layer Films: a review. **International Journal of Electrochemical Science**. v. 1, p. 194-214, 2006.
- DALLAVECCHIA, E.; LUNA, Michela; SETHI, Rajandrea. Transport in porous media of highly concentrated iron micro- and nanoparticles in the presence of xanthan gum. **Environmental Science & Technology**, v. 43, n. 23, p. 8942-8947, 2009.
- DAS, S.; CHAUDHURY, A. Recent advances in lipid nanoparticle formulations with solid matrix for oral drug delivery. **AAPS PharmSciTech**, v. 12, v. 1, p. 62-76, 2011.
- DECHER, G. Fuzzy Nanoassemblies: Toward Layered Polymeric Multicomposites, **Science**, v. 277, n. 5330, p. 1232-1237, 1997.
- DECHER, G.; HONG, J-D.; SCHMITT, J. Buildup of ultrathin multilayer films by a self-assembly process: III. Consecutively alternating adsorption of anionic and cationic polyelectrolytes on charged surfaces. **Thin Solid Films**, v. 210/211, p. 831-835, 1992.
- DECHER, G.; LEHR, B.; LOWACK, K.; LVOV, Y.; SCHMITT, J. New nanocomposite films for biosensors: Layer-by-Layer absorbed films of polyelectrolytes. **Proteins or DNA, Biosensors and Bioelectronics**, v. 9, p. 677-684, 1994.
- DECHER, G.; SCHMITT, J. Fine – Tuning of the film Thickness of Ultrathin Multilayer Films Composed of Consecutively Alternating Layers of Anionic and Cationic Polyelectrolytes. **Progress in Colloid & Polymer Science**. v. 89, p. 160-164, 1992.
- DEISINGH, A. K.; THOMPSON, M. Biosensors for the detection of bacteria. **Canadian Journal of Microbiology**, v. 50, n. 2, p. 69-77, 2004.
- DEVARAJAN, V.; RAVICHANDRAN, V. Nanoemulsions: As Modified Drug Delivery Tool. **Pharmacie Globale**, v. 4, n. 1, p. 1-6, 2011.
- DÍEZ-PASCUAL, A. M.; WONG, J. E. Effect of layer-by-layer connement of polypeptides and polysaccharides onto thermoresponsive microgels: A comparative study. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 347, n. 1, p. 79-89, 2010.
- DONG, X. M.; REVOL, J. F.; GRAY, D. G. Effect of microcrystallite preparation conditions on the formation of colloid crystals of cellulose, **Cellulose**, v. 5, n. 1, p.19-32, 1998.
- DREXLER, K. E. **Engines of Creation 2.0: The Coming Era of Nanotechnology**. February 2007, 646 p. Disponível em: <<http://www.wowio.com/users/product.asp?BookId=503>>. Acesso em: 25 jan. 2012
- DURAN, N.; MATTOSO, C.L.H.; MORAIS, P.C. In: **Nanotecnologia: introdução, preparação e caracterização de nanomateriais e exemplos de aplicação**. 1. ed. São Paulo. ARTLIBER. 2006.
- DYRUP. **Informação técnico/comercial: ADN-fachadas**. Disponível em: <<http://www.dyrup.com/>>. Acesso em: 14 fev. 2012.
- ECOSYNTHETIX®, **Ecosynthetix®**. Disponível em: <<http://www.ecosynthetix.com/ecosphere.html>>. Acesso em: 26 jan. 2012.
- EIGLER, D. M.; SCHWEIZER, E. K.; Positioning single atoms with a scanning tunnelling microscope. **Nature**, v. 344, n. 6266, p. 524-526, 1990.
- ELAZZOUI-HAFRAOUI, S.; NISHIYAMA, Y.; PUTAUX, J-L.; HEUX, L.; DUBREUIL.; ROCHAS, C. The Shape and Size Distribution of Crystalline Nanoparticles Prepared by Acid Hydrolysis of Native Cellulose. **Biomacromolecules**, v. 9, n. 1, p. 57-65, 2008.
- ENVIRONMENTAL WORKING GROUP. **Nano-scale and micronized ingredients in personal care products**. Disponível em: <<http://www.ewg.org/table-1-nano-scale-and-micronized-ingredients-personal-care-products>>. Acesso em: 10 fev. 2012.
- FARIA TISCHER, P. C. S.; SIERAKOWSKI, M-R.; WESTFAHL, H. Jr.; TISCHER, C. A. Nanostructural Reorganization of Bacterial Cellulose by Ultrasonic Treatment. **Biomacromolecules**, v. 11, n. 5, p. 1217-1224, 2010.
- FLICKINGER, M. C.; SCHOTTEL, J. L.; BOND, D. R.; AKSAN, A.; Scriven, L. E. Painting and Printing Living Bacteria: Engineering Nanoporous Biocatalytic Coatings to Preserve Microbial Viability and Intensify Reactivity. **Biotechnology Progress**, v. 23, n. 1, p. 2-17, 2007.
- FÓRUM DE COMPETITIVIDADE DE BIOTECNOLOGIA. **Estratégia Nacional De Biotecnologia: Política de Desenvolvimento da Bioindústria**. Ministério do Desenvolvimento, Indústria e Comércio Exterior, Secretaria do Desenvolvimento da Produção. 2006.
- FREEMAN, J. W.; WRIGHT, L. D.; LAURENCIN, C. T.; BHATTACHARYYA, S. In: GONSALVES, K.E.; HALBERSTADT, C. R.; LAURENCIN, C. T.; NAIR, L. S. **Biomedical Nanostructures**. New Jersey. John Wiley & Sons. 2008.
- FRONTINI, M. J.; NONG, Z.; GROS, R.; *et al.*. Fibroblast growth factor 9 delivery during angiogenesis produces durable, vasoresponsive microvessels wrapped by smooth muscle cells. **Nature Biotechnology**, v. 29, 421-427, 2011.
- FUKUDA J.; KHADEMHOSEINI A.; YEH J.; ENG, G.; CHENG, J. J.; FAROKHZAD, O. C.; LANGER, R. Micropatterned cell co-cultures using layer-by-layer deposition of extracellular matrix components. **Biomaterials**, v.27, p. 1479-1486, 2006.
- GACITUA, W.; BALLERINI, A.; ZHANG, J. Polymer nanocomposites: synthetic and natural fillers. a review. **Maderas Ciencia y tecnología**, v. 7, n. 3, p. 159-178, 2005.

- GAZIT, E. Self-assembled peptide nanostructures: the design of molecular building blocks and their technological utilization. **Chemical Society Reviews**, v. 36, n. 8, p. 1263-1269, 2007.
- GOELZER, F. D. E.; FARIA-TISCHER, P.; VITORINO, J.; SIERAKOWSKI, M.; TISCHER, C. A. Production and characterization of nanospheres of bacterial cellulose from *Gluconoacetobacter xylinus* from processed rice bark. **Materials Science & Engineering, C, Biomimetic Materials, Sensors and Systems**, v. 29, p. 546-551, 2009.
- GOODSELL, D.S. **Bionanotechnology: Lessons from Nature**, New Jersey, USA. Wiley-Liss, Hoboken, 2004.
- HABIBI, YOUSSEF; LUCIA, L. A.; ROJAS, O. J. Cellulose Nanocrystals: Chemistry, Self-Assembly and Applications. **Chemical Reviews**, v. 110, p. 3479-3500, 2010.
- HARDY, Q. **Sensing opportunity, Forbes Magazine, 2003**. Disponível em: <<http://www.forbes.com/forbes/2003/0901/107.html>>. Acesso em: 12 fev. 2012.
- HELMUS, M. N.; TWEDEN, K. Materials Selection. In: **Encyclopedic Handbook of Biomaterials and Bioengineering**, 1995.
- HENCH, L.L.; WILSON, J. **Introduction to bioceramics**. Singapore. World Scientific Publishing Co. Pte. Ltd. 1993.
- HOENICH, N. Cellulose for medical applications: past, present and future. **BioResources**, v. 1, n. 2, p. 270-280, 2006.
- HOMOLA, J.; YEE, S.S.; GAUGLITZ, G. Surface plasmon resonance sensors: review. **Sensors & Actuators, B: Chemical**, v. 54, p. 3-15, 1999.
- HORNE, W. S.; STOUT, C. D.; GHADIRI, M. R. J. Heterocyclic Peptide Nanotube. **Journal of the American Chemical Society**, v. 125, n. 31, p. 9372-9376, 2003.
- HOSHI, T.; ANZAI, J.; OSA, T. Controlled deposition of glucose oxidase on platinum electrode based on an avidin/biotin system for the regulation of output current of glucose sensors. **Analytical Chemistry**, v. 67, n. 4, p. 770-774, 1995.
- IJIMA, S. Helical microtubules of graphitic carbon, **Nature**, v. 354, n. 6348, p. 56-58, 1991.
- IWAMOTO, S.; KAI, W.; ISOGAI, A.; IWATA, T. Elastic Modulus of Single Cellulose Microfibrils from Tunicate Measured by Atomic Force Microscopy. **Biomacromolecules**, v. 10, n. 9, p. 2571-2576, 2009.
- JAIN, K. K. Nanodiagnosics: application of nanotechnology in molecular diagnostics. **Expert Review of Molecular Diagnostics**, v. 3, n. 2, p. 153-161, 2003.
- JAN, J-S.; CHUANG, T-H.; CHEN, P-J.; TENG, H. Layer-by-Layer Polypeptide Macromolecular Assemblies-Mediated Synthesis of Mesoporous Silica and Gold Nanoparticle/Mesoporous Silica Tubular Nanostructures. **Langmuir**, v. 27, n. 6, p. 2834-2843, 2011.
- JEAN, B.; DUBREUIL, F.; HEUX, L.; COUSIN, F. Structural details of cellulose nanocrystals/polyelectrolytes multilayers probed by neutron reflectivity and AFM. **Langmuir**, v. 24, n. 7, p. 3452-3458, 2008.
- JEAN, B.; HEUX, L.; DUBREUIL, F.; CHAMBAT, G.; COUSIN, F. Non-Electrostatic Building of Biomimetic Cellulose Xyloglucan Multilayers, **Langmuir**, v. 25, n. 7, p. 3920-3923, 2009.
- JOHANSSON, J.A.; HALTHUR, T.; HERRANEN, M.; SODERBERG, L.; ELOFSSON, U.; HILBORN, J. Build-up of collagen and hyaluronic acid polyelectrolyte multilayers. **Biomacromolecules**, v. 6, n. 3, p. 1353-1359, 2005.
- JONG, WIN H. D.; BORM, PAUL J. A. Drug delivery and nanoparticles: applications and hazards. **International Journal of Nanomedicine**, v. 3, p. 133-149, 2008.
- JOSEPH, T.; MORRISON, M. Nanotechnology in Agriculture and Food. **Nanoforum.org**, 2006. Disponível em: <<http://www.nanoforum.org>>. Acesso em: 10 fev. 2012.
- KHODAKOVSKAYA, M.; DERVISHI, E.; MAHMOOD, M.; XU, Y.; LI, Z.; WATANABE, F.; BIRIS, A. S.. Carbon nanotubes are able to penetrate plant seed coat and dramatically affect seed germination and plant growth. **Acs Nano**, v. 3, n. 10, p. 3221-3227, 2009.
- KHOSHNEVISAN, K.; BORDBAR, A-K.; ZARE, D.; DAVOODI, D.; NORUZI, M.; BARKHI, M.; TABATABAE, M. Immobilization of cellulase enzyme on superparamagnetic nanoparticles and determination of its activity and stability. **Chemical Engineering Journal**, v. 171, n. 1, p. 669-673, 2011.
- KINTER, P. K.; van BUREN, J. P. Carbohydrate interference and its correction in pectin analysis using the m-hydroxydiphenyl method. **Journal Food Science**, v. 47, n. 3, p. 756-764, 1982.
- KLAUS T.; JOERGER R.; OLSSON E.; GRANQVIST, C. G. Silver-based crystalline nanoparticles, microbially fabricated. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 96, n. 24, p. 13611-13614, 1999.
- KOH, H. S.; YONG, T. C.; CHAN, K.; RAMAKRISHNA, S. Enhancement of neurite outgrowth using nanostructured scaffolds coupled with laminin. **Biomaterials**, v. 29, n. 26, p. 3574-3582, 2008.
- KONTTURI, E.; TAMMELIN, T.; OSTERBERG, M. Cellulose—model films and the fundamental approach. **Chemical Society Reviews**, v. 35, p. 1287-1304, 2006.
- KOWSHIK, M.; ASHTAPUTRE, S.; KHARRAZI, S.; VOGEL, W.; URBAN, J.; KULKARNI, S. K.; PAKNIKAR, K. M. Extracellular synthesis of silver nanoparticles by a silver-tolerant yeast strain MKY3. **Nanotechnology**, v. 14, n. 1, p. 95-100, 2003.
- KROTO, H.W.; HEATH, J.R.; O'BRIEN, S.C.; CURL, R.F.; SMALLEY, R.E. C60-Buckminster fullerene. **Nature**, v. 318, n. 6042, p. 162-163, 1985.
- LARKIN, M. Nanowires show potential as virus detectors. **Lancet Infectious Diseases**, v. 4, n. 11, p. 656, 2004.
- LEHN, J-M. **Supramolecular Chemistry: Concepts and Perspectives**, VCH. New York, 1995.
- LEROUEIL, P. R.; HONG, S.; MECKE, A.; BAKER, J. R.Jr.; ORR, B.G.; HOLL, M. M. B. Nanoparticle Interaction with Biological Membranes: Does Nanotechnology Present a Janus Face? **Accounts of Chemical Research**, v. 40, n. 5, p. 335-342, 2007.
- LIMA, M. S.; BORSALI, R. Rodlike Cellulose Microcrystals: Structure, Properties, and Applications. **Macromolecular Rapid Communications**, v. 25, n. 7, p.771-787, 2004.
- LIU, X.; JIN, X.; MA, P. X.. Nanofibrous hollow microspheres self-assembled from star-shaped polymers as injectable cell carriers for knee repair. **Nature Materials**, v. 10, p. 398-406, 2011.
- MA, Z.; SUI, S. F. Naked-eye sensitive detection of immunoglobulin G by enlargement of Au nanoparticles in vitro. **Angewandte Chemie International Edition**, v. 41, n. 12, p. 2176-2179, 2002.
- MASON, T.G.; WILKING, J.N.; MELESON, K.; CHANG, C.B.; GRAVES, S.M. Nanoemulsions: formation, structure, and physical properties. **Journal of Physics: Condensed Matter**, v. 18, p.6 35-666, 2006.
- MAURICE, C. B.; BARUA, P. K.; SIMSES, D.; SMITH, P.; HOWE, J. G.; STACK, G. Comparison of assay systems for warfarin-related CYP2C9 and VKORC1 genotyping. **Clinica Chimica Acta**, v. 411, n. 4, p. 947-954, 2010.

- MELO, N. R.; SOARES, N. F. F.; GONÇALVES, M. P. J. C. Nisina: um conservante natural para alimentos. **Revista Ceres**, v. 52, n. 303, p. 921-938, 2005.
- MENDONÇA, G.; MENDONÇA, D. B. S.; ARAGÃO, F. J. L.; COOPER, L. F. Advancing dental implant surface technology – From micron- to nanotopography. **Biomaterials**, v. 29, n. 28, p. 3822-3835, 2008.
- MITCHELL, John. Small Molecule Immunosensing Using Surface Plasmon Resonance. **Sensors**, v. 10, p. 7323-7346, 2010.
- MOHAPATRA S. S.; SAHOO, B.; KUMAR, A. *et al.* A method of transdermal drug delivery using hyaluronic acid nanoparticles. **US Patent** 2007/0036728 A1, 2007.
- MOON, R. J.; MARTINI, A.; NAIRN, John; SIMONSEN, J.; YOUNGBLOO, J. Cellulose nanomaterials review: structure, properties and nanocomposites. *Chemical Society Reviews*. v. 40, p. 3941-3994, 2011.
- NANOSPHERE DIAGNOSTICS, **Gold Nanoparticle Technology**. Disponível em: <<http://www.nanosphere.us/page/gold-nanoparticle-technology>>. Acesso em: 09 fev. 2012.
- NANOWERK a, Ten things you should know about nanotechnology. **Nanotechnology Products database**. Disponível em: <[http://www.nanowerk.com/nanotechnology/ten\\_things\\_you\\_should\\_know\\_7.php](http://www.nanowerk.com/nanotechnology/ten_things_you_should_know_7.php)>. Acesso em: 26 jan. 2012.
- NANOWERK b, Nanotechnology information and Nanomaterial Database™. **Nanotechnology Products database**. Disponível em: <<http://www.nanowerk.com/products/products.php>>. Acesso em: 26 jan. 2012.
- NICOLAU, D.E.; PHILLIMORE, J.; CROSS, R.; NICOLAU, D.V. Nanotechnology at the crossroads: the hard or the soft way? **Microelectronics Journal**, v.31, 2000.
- NISHIYAMA, Y. Structure and properties of the cellulose microfibril. **Journal of Wood Science**, v. 55, p. 241-249, 2009.
- NUKAVARAPU, S. P.; KUMBAR, S. G.; BROWN, J. L.; KROGMAN, N. R.; WEIKEL, A. L.; HINDENLANG, M.D.; *et al.*, Polyphosphazene/Nano-Hydroxyapatite Composite Microsphere Scaffolds for Bone Tissue Engineering. **Biomacromolecules**, v. 9, n. 7, p. 1818, 2008.
- ONAH, E. J. Fluorine-Containing Polymers and the Emerging Nanotechnology. **Polymer News**, v. 30, n3, p. 79-84, 2005.
- PAS 71:2011. Nanoparticles – Vocabulary. British Standards Institution, 2011.**
- PATOLSKY, F.; ZHENG, G.; HAYDEN, O.; *et al.* Electrical detection of single viruses. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 101, n. 39, p. 14017-22, 2004.
- PEI, R.; CUI, X.; YANG, X.; WANG, E. Assembly of alternating polycation and DNA multilayer films by electrostatic layer-by-layer adsorption. **Biomacromolecules**. v.2, n. 2, p. 463-468, 2001.
- PERUTZ, M. F.; FINCH, J. T.; BERRIMAN, J.; LESK, A. Amyloid fibers are water-filled nanotubes. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 99, n.8, p. 5591-5595, 2002.
- PICART C.; LAVALLE, P.; HUBERT P.; CUISINIER, F.J.G.; DECHER G.; SCHAAF, P.; VOEGEL, J-C. Buildup mechanism for poly(L-lysine)/hyaluronic acid films onto a solid surface. **Langmuir**, v.17, p.7414-7424, 2001.
- PICOS, D. R.; CARRIL, M. G.; MENA, D. F. Microesferas biodegradables de liberación controlada para administración parenteral. **Revista Cubana Farmacia**, v. 34, n. 1, p. 70-77, 2000.
- PILKINGTON, **Pilkington Activ™ Global Brochure**. Disponível em: <<http://www.pilkington.com>>. Acesso em: 14 fev. 2012.
- PlasmaChem Surface and Nano-Technology. **Brochure: Nanomaterials and related products**. Disponível em: <<http://www.plasmachem.com>>. Acesso em: 27 jan. 2012.
- PRABHAKARAN, M. P.; VENUGOPAL, J.; CHYAN, T. T.; HAI, L. B.; CHAN, C.K.; TANG, A.L.; *et al.*, Electrospun biocomposite nanofibrous scaffolds for neural tissue engineering. **Tissue Engineering Part A**, v. 14, n. 11, p. 1787-1797, 2008.
- PUGH, S.; MCKENNA, R.; MOOLICK, R.; NIELSEN, D. R. Advances and opportunities at the interface between microbial bioenergy and nanotechnology. **The Canadian Journal of Chemical Engineering**, v. 89, p. 2-12, 2011.
- RATNER, M.; RATNER, D. **Nanotechnology: A Gentle Introduction to the Next Big Idea**. New Jersey, Pearson Education, 2002.
- Reiss, H. Entropy-induced dispersion of bulk liquids **Journal of Colloid and Interface Science**. v. 53, p.61-70, 1975.
- RICHERT L.; LAVALLE P.; PAYAN E.; STOLTZ J-F.; SHU, XZ.; PRESTWICH, G.D.; SCHAAF, P.; VOEGEL, J-C.; PICART C. Layer by Layer Buildup of Polysaccharide Films: Physical Chemistry and Cellular Adhesion Aspects. **Langmuir**, v. 20, n. 2, p. 448-458, 2004.
- RIET, M. Nano-engineering in science and technology: an introduction to the world of nano design. In: **Series on the Foundations of Natural Science and Technology**, World Scientific, New Jersey, v. 6, p. 164, 2003.
- SAPHIRE, E.O.; PARREN, P.W.; PANTOPHLET, R.; ZWICK, M.B.; MORRIS, G.M.; RUDD, P.M.; DWEK, R.A.; STANFIELD, R.L.; BURTON, D.R.; WILSON, I.A. Crystal structure of a neutralizing human IGG against HIV-1: a template for vaccine design. **Science**, v. 293, n. 5532, p. 1155-1159, 2001.
- SCHLENOFF, J. B.; DUBAS, S. T. Mechanism of polyelectrolyte multilayer growth: Charge overcompensation and distribution. **Macromolecules**, v. 34, n. 3, p. 592-598, 2001.
- SELVAN, S. T.; SPATZ, J.P.; KLOCK, H.-A.; MOLLER, M. Gold polypyrrole Core-Shell particles in Diblock Copolymer Micelles. **Advanced Materials**. v.10, n. 2, p. 132-134, 1998.
- SHI, H.; TSAI, W-B.; GARRISON, M. D.; FERRARI, S.; RATNER, B. D. Template-imprinted nanostructured surfaces for protein recognition. **Nature**. v. 398, n. 6728, p. 593-597, 1999.
- SHINODA, K.; LINDMAN, B.; Organised surfactant systems: microemulsions. **Langmuir**, v.3, n. 2, p. 135-149, 1987.
- STICHT, H.; BAYER, P.; WILLBOLD, D.; DAMES, S.; HILBICH, C.; BEYREUTHER, K.; FRANK, R.W.; ROSCH, P. Structure of amyloid A4-(1-40)-peptide of Alzheimer's disease. **European Journal of Biochemistry**, v. 233, n. 1, p. 293-298, 1995.
- SUGIMOTO, Y.; ABE, M.; YOSHIMOTO, K.; CUSTANCE, O.; YI, I.; MORITA, S.. Non-contact atomic force microscopy study of the Sn/Si mosaic phase. **Applied Surface Science**, v. 241, n. 28, p.23-27, 2005.
- TENJARLA, S.N. Microemulsions: An overview and pharmaceutical applications. **Critical Reviews in Therapeutic Drug Carrier Systems**, v. 16, p. 461-521, 1999.

- THIERRY B.; WINNIK, F.M.; MERHI, Y.; SILVER, J.; TABRIZIAN, M. Bioactive Coatings of Endovascular Stents Based on Polyelectrolyte Multilayers. **Biomacromolecules**, v.4, n.6, p.1564–1571, 2003.
- THOMPSON, J. A., **Microbead-based biosensing in microfluidic devices**. Disponível em < <http://repository.upenn.edu/edissertations/334>>. Acesso em: 01 fev. 2012.
- TISCHER, C. A.; VITORINO, J. C. Biotecnologia como Fonte de Fármacos e Excipientes de Importância Farmacêutica. In: **Fármacos e Medicamentos - Uma Abordagem Multidisciplinar** – Bresolin, Tani Mari Belle; Cechinel Filho, Valdir, Orgs., Editora Santos, 2009.
- TLUSTY, T.; SAFRAN, S.A. Microemulsion networks: The onset of bicontinuity. **Journal of Physics: Condensed Matter**, v.12, p. A253-A262, 2000.
- TOKOH, C.; TAKABE, K.; FUJITA, M.; SAIKI, H. Cellulose synthesized by *Acetobacter xylinum* in the presence of acetyl glucosaminan. **Cellulose**, v. 5, n.4, p. 249- 261, 1998.
- TOPCHIM. **Cargill and Topchim Take Sustainable Innovations to the Biggest Pulp and Paper Fair in Brazil**. Disponível em: <<http://www.topchim.com/?abtcp09>>. Acessado em: 26 jan. 2012.
- TOPS SCREEN DS13 BROCHURE, **TopChim chemical company, specializing in paper and cardboard coating technology**. Disponível em: <<http://www.topchim.com/?topscreen>>. Acesso em: 26 jan. 2012.
- TRAN, P.; ZHANG, L.; WEBSTER, T.J. Carbon Nanofibers and Nanotubes in Regenerative Medicine. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 61, n. 12, p. 1097-1114, 2009.
- TYNER, K.M. Nano-methods. In: **Handbook of Analysis and Pharmaceutical Quality**. New Jersey, Shayne Gad, Ed. John Wiley and Sons Inc (US), p. 1600, 2010.
- United States National Nanotechnology Initiative**. Disponível em: <<http://www.nano.gov>>. Acesso em: 10 fev. 2012.
- VALENGA F., PETRI D. F., LUCYSZYN N., JÓ T. A., SIERAKOWSKI M. R. Galactomannan thin films as supports for the immobilization of Concanavalin A and/or dengue viruses. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 50, n. 1, p. 88-94, 2012.
- VAN DER ELST, M.; KLEIN, C. P. A. T.; BLIECK-HOGERVORST, J. M.; PATKA, P.; HAARMAN, H. J. Th. M. Bone tissue response to biodegradable polymers used for intra medullary fracture fixation: A long-term in vivo study in sheep femora. **Biomaterials**, 20, p. 121-128, 1999.
- VIGNESHWARAN, N.; JAIN, P. Biomolecules-Nanoparticles: Interaction in Nanoscale. In: **Metal nanoparticles in microbiology**, M. Rai E N. Duran (Eds.), p. 135-150, 2011.
- WAN, Y.Z.; HONG, L.; JIA, S.R.; HUANG, Y.; ZHU, Y.; WANG, Y.L.; JIANG, H.J. Synthesis and characterization of hydroxyapatite-bacterial cellulose nanocomposites. **Composites Science and Technology**, v. 66, p. 1825-1832, 2006.
- WATANABE, J.; IWAMOTO, S.; ICHIKAWA, S. Entrapment of some compounds into biocompatible nano-sized particles and their releasing properties. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces** v.42, n. 2, p.141-146, 2005.
- WEBSTER, A.J.; CATES, M.E. Osmotic stabilization of concentrated emulsions and foams **Langmuir**, v. 17, p.595-608, 2001.
- WEBSTER, T. J.; HELLENMEYER, E. L.; PRICE, R. L. Increased osteoblast functions on theta + delta nanofiber alumina. **Biomaterials**, v. 26, n. 9, p. 953-960, 2005.
- WEBSTER, T.J.; ERGUN, C.; DOREMUS, R.H.; SIEGEL, R.W.; BIZIOS, R. Specific proteins mediate enhanced osteoblast adhesion on nanophase ceramics. **Journal of Biomedical Materials Research**, v. 51, n. 3, p. 475-483, 2000.
- WESTWOOD, M.; ROBERTS, D.; PARKE, R. Enzymatic degradation of poly-l-lysine-polygalacturonic acid multilayers. **Carbohydrate Polymers**, v. 84, p. 960–969, 2011.
- WHITESIDES, G. M.; GRZYBOWSKI, B. Self-Assembly at All Scales. **Science**, v. 295, n. 5564, p. 2418-2421, 2002.
- WILLIAMS, D. F. Tissue-biomaterial interactions. **Journal of Materials science**, v. 22, n.10, p. 3421-3445, 1987.
- XU, H.; S, M. Y.; WONG, E. Y.; *et al.* Multiplexed SNP genotyping using the Qbead™ system: a quantum dot-encoded microsphere-based assay. **Nucleic Acids Research**, v. 31, n. 8, e43, 2003
- YAMAGUCHI, Y.; NAGASAWA, T.; KITAGAWA, A; *et. al.* New nanotechnology for the guided tissue regeneration of skin--potential of lyotropic liquid crystals. **Die Pharmazie**, v. 61, n. 2, p. 112-6, 2006.
- ZHANG, J.; SENGER, B.; VAUTIER, D.; PICART, C.; SCHAAF, P.; VOEGEL, J-C.; LAVALLE, P. Natural polyelectrolyte films based on layer-by layer deposition of collagen and hyaluronic acid. **Biomaterials**, v. 26, n. 16, p. 3353– 3361, 2005.
- ZHANG, S. Fabrication of novel biomaterials through molecular self-assembly. **Nature biotechnology**, v. 21, p. 1171-1178, 2003.
- ZHU, Y. **Properties of polymeric drug delivery systems prepared by hot-melt extrusion**. Austin, 2002. Tese (Doutorado) - Faculty of the Graduate School of the University of Texas.