



UNIVERSIDADE FEDERAL FLUMINENSE
INSTITUTO DE BIOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS E BIOTECNOLOGIA

MATHEUS FERREIRA DA SILVA VENTURA

Potencial biotecnológico da linhagem
fúngica *Penicillium pedernalense* F4B1

Orientador(es): Caio Pinho Fernandes
Sorele Batista Fiaux
Edlene Ribeiro Prudêncio de Souza

MATHEUS FERREIRA DA SILVA VENTURA

Potencial biotecnológico da linhagem
fúngica *Penicillium pedernalense* F4B1

Trabalho desenvolvido no Laboratório de Tecnologia Microbiana e
Laboratório de Tecnologia de Produtos Naturais do Departamento de Tecnologia
Farmacêutica, Programa de Pós-Graduação em Ciências e Biotecnologia,
Universidade Federal Fluminense.

Dissertação de Mestrado
submetida a Universidade
Federal Fluminense como
requisito parcial visando à
obtenção do grau de Mestre em
Ciências e Biotecnologia

**Orientador(es): Caio Pinho Fernandes
Sorele Batista Fiaux
Edlene Ribeiro Prudêncio de Souza**

Ficha catalográfica automática - SDC/BCV
Gerada com informações fornecidas pelo autor

S586p Silva Ventura, Matheus Ferreira da
Potencial biotecnológico da linhagem fúngica *Penicillium*
pedernalense F4B1 / Matheus Ferreira da Silva Ventura. - 2025.
100 f.: il.

Orientador: Caio Pinho Fernandes.
Coorientador: Sorele B Fiaux.
Dissertação (mestrado)-Universidade Federal Fluminense,
Instituto de Biologia, Niterói, 2025.

1. Fungo. 2. Nanopartícula. 3. Antioxidante. 4.
Bactericida. 5. Produção intelectual. I. Fernandes, Caio
Pinho, orientador. II. Fiaux, Sorele B, coorientadora. III.
Universidade Federal Fluminense. Instituto de Biologia. IV.
Título.

CDD - XXX

MATHEUS FERREIRA DA SILVA VENTURA

Potencial biotecnológico da linhagem fúngica *Penicillium pedernalense* F4B1

Dissertação de
Mestrado submetida a
Universidade Federal
Fluminense como requisito
parcial visando à obtenção do
grau de Mestre em Ciências
e Biotecnologia

Banca Examinadora:

Sorele Batista Fiaux
Departamento De Tecnologia Farmacêutica
Universidade Federal Fluminense (Presidente)

Gabrielle Alves Ribeiro da Silva
Instituto de Química
Universidade Federal do Rio de Janeiro

Bettina Monika Ruppelt
Departamento de Tecnologia Farmacêutica
Universidade Federal Fluminense

Leandro Machado Rocha
Departamento de Tecnologia Farmacêutica
Universidade Federal Fluminense

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, por ter me concedido forças nos momentos mais difíceis, guiando meus passos durante essa jornada. À minha família, minha esposa, minha mãe, que sempre me apoiaram, deixo o meus mais sinceros obrigado! Pela ajuda constante e pela paciência nos momentos em que mais precisei. Aos meus orientadores, minha profunda gratidão pela confiança, pela orientação e por acreditarem no potencial deste projeto. Aos meus colegas de laboratório, que me acolheram e tiveram paciência comigo. Ao Programa de Pós-Graduação em Ciências e Biotecnologia, agradeço pela oportunidade de transformar um sonho em realidade, abrindo portas para o meu crescimento pessoal e profissional. Cada etapa desta caminhada foi construída com o apoio de vocês e por isso, muito obrigado a todos.

SUMÁRIO

<i>Lista de abreviaturas, siglas e símbolos</i>	vi
<i>Lista de Figuras</i>	vii
<i>Lista de Tabelas</i>	viii
<i>Resumo</i>	ix
<i>Abstract</i>	x
1. Introdução	1
1.1 Fungos filamentosos	2
1.1.1 Formação dos Pellets Fúngicos	4
1.2 Gênero <i>penicillium</i>	7
1.2.1 <i>Penicillium Pedernalense</i> F4B1	10
1.3 Compostos Bioativos Produzido pelo Gênero <i>Penicillium</i>	12
1.3.1 Metabólitos Primários e Secundários	12
1.3.2 Antimicrobianos	13
1.3.3 Antioxidantes	16
1.4 Nanopartículas de Prata	17
1.4.1 Síntese das Nanopartículas de Prata	18
1.4.2 Síntese Verde	20
1.4.3 Caracterização da Nanopartícula	22
2. Objetivos	25
2.1 Objetivo Geral	25
2.2 Objetivos Específicos	25
3. Material e Métodos	26
3.1 Microrganismos:.....	26
3.2 Meios de cultura.....	26
3.2.1 Meio para Obtenção Dos Conídios.....	26
3.2.2 Meio para Obtenção dos Compostos Bioativos em Cultivo Submerso.....	26
3.2.3 Meios Para Ensaios Antimicrobianos	27
3.2.4 Meios para Ensaios Antioxidantes.....	27
3.3 Pré-cultura e cultivo principal para obtenção dos metabólitos	27
3.4 Preparo das amostras para extrações	28
3.5 Extração das amostras	28
3.6 Análise da concentração celular	29

3.7	Biossíntese das Nanopartículas de Prata (AgPNs).....	29
3.7.1	Caracterização das Nanopartículas de Prata por Espalhamento	
	Diâmetro da Luz (EDL).....	29
3.8	Ensaio Antibacteriano.....	30
3.9	Determinação da Concentração Mínima Inibitória para Análise Citotóxica do Extrato Bruto	30
3.10	Ensaio Antioxidante.....	31
3.11	Análise Estatística.....	32
4.	<i>Resultados</i>	33
4.1	Obtenção dos Extratos Bioativos	33
4.1.1	Pré-Cultura e Cultivo Principal Para Obtenção Dos Metabólitos	33
4.1.2	Extração dos Compostos	34
4.2	Ensaio atividade Antioxidante e Citotoxicidade	36
4.3	Formação da Nanopartícula de Prata (AgPNs).....	40
4.4	Ensaio Antimicrobiano	43
5.	<i>Discussão</i>	48
5.1	Biossíntese e Caracterização das AgNPs Produzidas de <i>Penicillium pederlansense</i> F4B1	50
5.2	Atividade Antimicrobiana.....	55
5.3	Atividade Antioxidante.....	57
6.	<i>Considerações Finais</i>	64
7.	<i>Referências Bibliográficas</i>	66
7.1	Obras Citadas	66

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

EROs - Espécies Reativas de Oxigênio

H₂O₂ - Peróxido de Hidrogênio

AgPNs - Nanopartícula de prata

P. pedernalense F4B1 - *Penicillium pedernalense* F4B1

S. cerevisiae - *Saccharomyces cerevisiae*

S. aureus - *Staphylococcus aureus*

E. Coli - *Escherichia coli*

UFC - Unidade Formadora de Colônia

EDL- Espalhamento dinâmico de luz

EEL - Espalhamento eletroforético de luz

IP - Índice de polidispersão

LTM – Laboratório de Tecnologia Microbiana

UFF- Universidade Federal Fluminense

OMS – Organização Mundial da Saúde

PBPs - Proteínas ligadoras de penicilina

GBIF - The Global Biodiversity Information Facility

MEV - Microscopia Eletrônica de Varredura

RAM - Resistência antimicrobiana

TEM - Microscopia Eletrônica de Transmissão

FE-SEM - Microscopia Eletrônica de Varredura por Emissão de Campo

DRX - Difração de Raios X

FTIR - Espectroscopia no Infravermelho por Transformada de Fourier

RPS - Ressonância plasmônica de superfície

LPS - Lipopolissacarídeos

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Hifas de <i>Penicillium pedernalense</i> F4B1, coradas com azul de metileno.	7
Figura 2 - Mapa do GBIF contendo ocorrências sinalizadas de registros das espécies do gênero <i>Penicillium</i>	9
Figura 3 - Métodos sintéticos <i>Top-Down</i> e <i>Bottom-up</i>	19
Figura 4 - Método Biológico para a produção das nanopartículas de prata	21
Figura 5 - Pellets de <i>Penicillium pedernalense</i> F4B1.	34
Figura 6 - Pellet Liofilizado com formatos irregulares.....	34
Figura 7 - Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV), do pellet liofilizado	35
Figura 8 - <i>Spot</i> com as células viáveis da levedura <i>Saccharomyces cerevisiae</i> BY4741.	37
Figura 9 - Placas do ensaio antioxidante para contagem da viabilidade celular. ..	38
Figura 10 - Placas do ensaio antioxidante para contagem da viabilidade celular.	38
Figura 11 - Análise estatística da contagem do número de células viáveis após o estresse com agente oxidante H ₂ O ₂ (2mM).....	40
Figura 12 - Espectro de absorção UV-Vis da solução de prata tratada com extrato do micélio fúngico de <i>Penicillium pedernalense</i> mostrando síntese da nanopartícula de prata.	41
Figura 13 - Gráfico de dispersão de tamanho por intensidade das nanopartículas de prata reduzidas com micélio fúngico de <i>Penicillium pedernalense</i>	42
Figura 14 - Ensaio antimicrobiano com a bactéria <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923.	44
Figura 15 - Ensaio antimicrobiano com a bactéria <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922..	44
Figura 16 - Ensaio antimicrobiano com a bactéria <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923.	45
Figura 17 - Ensaio antimicrobiano com a bactéria <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	46
Figura 18 - Análise estatística dos ensaios antimicrobianos com as AgPNs frente a bactéria <i>S. aureus</i> ATCC 25923.....	47

LISTA DE TABELAS

Tabela 1- Aplicações do gênero <i>Penicillium</i>	7
Tabela 2- Métodos de caracterização das AgPNs	22
Tabela 3 - Massa dos Extratos.....	36
Tabela 4 - Resultados das contagens.	39
Tabela 5 - Valores médios de tamanho de partícula (nm), índice de polidispersão, potencial zeta (mV) e condutividade da nanopartícula de prata.....	42
Tabela 6 - Diâmetro do halo de inibição formado nos testes antimicrobianos.	43

RESUMO

Penicillium pedernalense F4B1 é uma espécie fúngica pouco explorada, recentemente isolada de solo contaminado por petróleo pelo Laboratório de Tecnologia Microbiana da Universidade Federal Fluminense. Este trabalho teve como objetivo avaliar o potencial biotecnológico dessa linhagem por meio de ensaios antimicrobianos, antioxidantes e da biossíntese de nanopartículas de prata, utilizando extratos brutos do meio de cultivo e da biomassa fúngica. Os ensaios antioxidantes *in vivo* foram realizados com a levedura *Saccharomyces cerevisiae*, que é uma ferramenta para ensaio biológico, uma vez que apresenta elevada semelhança com células de mamíferos superiores no sistema de defesa antioxidante. Os resultados demonstraram a eficácia do extrato do meio de cultivo, sob estresse oxidativo com H_2O_2 2 mM, que proporcionou uma média de $91,250 \pm 18,626$ UFC de células viáveis, frente a $28,167 \pm 9,412$ UFC do controle positivo sob estresse oxidativo. O controle negativo sem o agente oxidante, corresponde a $112,167 \pm 12,469$ UFC de células viáveis. Embora os extratos não tenham apresentado atividade antimicrobiana direta, o extrato da biomassa foi capaz de realizar a biossíntese intracelular de AgNPs, processo inédito para esta espécie. A formação das nanopartículas foi confirmada por espectrofotometria UV-Vis com banda característica entre 400 e 450 nm e sua caracterização foi realizada por espalhamento dinâmico de luz, índice de polidispersão, potencial zeta por espalhamento eletroforético e análise espectrofotométrica. As AgNPs sintetizadas mostraram atividade antimicrobiana expressiva contra a bactéria *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, com halo de inibição de $31 \pm 1,0$ mm, próximo ao obtido com o controle positivo (ampicilina, $34,67 \pm 0,58$ mm). Os resultados obtidos reforçam o potencial biotecnológico de *P. pedernalense* F4B1 na produção de compostos com atividade antioxidante e antimicrobiana, abrindo novas perspectivas para aplicações nas áreas da saúde e cosmética.

Palavras-chave: Fungos filamentosos; Antibacteriano; Antioxidante; Nanopartículas.

ABSTRACT

Penicillium pedernalense F4B1 is a little-explored fungal species, recently isolated from petroleum-contaminated soil by the Microbial Technology Laboratory at the Fluminense Federal University. This study aimed to evaluate the biotechnological potential of this strain through antimicrobial, antioxidant assays, and the biosynthesis of silver nanoparticles, using crude extracts from both the culture medium and fungal biomass. The in vivo antioxidant assays were conducted using the yeast *Saccharomyces cerevisiae*, which serves as a valuable biological model due to its high similarity to mammalian cells in antioxidant defense systems. The results demonstrated the efficacy of the culture medium extract under oxidative stress with 2 mM H₂O₂, yielding an average of 91.250 ± 18.626 CFU of viable cells, compared to 28.167 ± 9.412 CFU in the positive control under oxidative stress. Without the oxidizing agent, the negative control showed 112.167 ± 12.469 CFU of viable cells. Although the extracts did not show direct antimicrobial activity, the biomass extract could promote intracellular biosynthesis of AgNPs—an unprecedented finding for this species. Nanoparticle formation was confirmed by UV-Vis spectrophotometry, with a characteristic absorption band between 400 and 450 nm. Their characterization was performed using dynamic light scattering, polydispersity index, zeta potential via electrophoretic light scattering, and spectrophotometric analysis. The synthesized AgNPs exhibited significant antimicrobial activity against *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, with an inhibition zone of 31 ± 1.0 mm, close to the positive control (ampicillin, 34.67 ± 0.58 mm). The findings highlight the biotechnological potential of *P. pedernalense* F4B1 in producing compounds with antioxidant and antimicrobial properties, opening new perspectives for applications in the health and cosmetics sectors.

Keywords: Filamentous fungi; Antibacterial; Antioxidant; Nanoparticles.

1. INTRODUÇÃO

Os fungos filamentosos são microrganismos caracterizados por uma morfologia complexa e altamente diversificada, o que justifica suas amplas aplicações biotecnológicas em diversas áreas, como a farmacêutica, a indústria têxtil e a biorremediação (BÖL *et al.*, 2021). Sua complexidade estrutural está diretamente relacionada à capacidade de produzir uma grande variedade de compostos bioativos com diferentes propriedades e aplicações (OGAWA; MORENO-GARCÍA; BARZEE, 2024).

Dentre as várias espécies fúngicas, o gênero *Penicillium* se destaca especialmente no campo saúde (HOUBRAKEN *et al.*, 2020). Esse gênero possui grande relevância histórica, uma vez que a descoberta do primeiro antimicrobiano descrito na literatura, a penicilina, foi proveniente de uma espécie desse grupo. Desde então, *Penicillium* sp. tem sido amplamente estudado e explorado para a obtenção de novos metabólitos secundários com potencial terapêutico, consolidando sua importância na biotecnologia e na descoberta de novos agentes bioativos (CORBU *et al.*, 2023).

As moléculas bioativas (metabólitos primários e secundários), produzidos ou excretados pelo gênero *Penicillium* têm a cada dia despertado o interesse científico. A riqueza de espécies desse gênero multiplica as possibilidades, uma vez que cada uma tem a sua particularidade em gerar metabolitos específicos (ROSHKA *et al.*, 2025). Esse é um dos principais fatores que despertam o interesse da comunidade científica na prospecção de novos microrganismos com potencial biotecnológico (BISHNOI *et al.*, 2024).

Nesse contexto, destaca-se a espécie *Penicillium pedernalense*. Essa espécie foi identificada primeiramente por Laich e Andrade (2016) a partir de uma amostra coletada em área de compostagem na região de Pedernales, Equador. Até o presente momento, são escassos os estudos que investigam aplicações biotecnológicas dessa espécie específica.

Recentemente, uma linhagem de *P. pedernalense* foi isolada pelo grupo do Laboratório de Tecnologia Microbiana (LTM) da Universidade Federal Fluminense (UFF) a partir de um solo contaminado com petróleo bruto. Observou-se, nesse isolamento, a capacidade do microrganismo em crescer

utilizando o diesel como fonte de carbono. Isso indica, um potencial para aplicação em processos de biorremediação (BLANC; DUARTE; FIAUX, 2024).

Considerando que o gênero *Penicillium* é amplamente conhecido por sua capacidade de produzir compostos bioativos com interesse farmacêutico, e levando-se em conta o ineditismo dos estudos com *P. pedernalense*, bem como o isolamento de uma linhagem em território nacional, o presente estudo propõe-se a contribuir com a caracterização biotecnológica desta espécie.

As etapas da pesquisa contemplam a produção do extrato fúngico, a biossíntese de nanopartículas de prata a partir desse extrato, além da avaliação de sua atividade antimicrobiana e antioxidante, para uma possível aplicação nas áreas industriais farmacêuticas e cosméticas. O uso de linhagens microbianas isoladas em território brasileiro reforça a importância da valorização da biodiversidade nacional e o fortalecimento da soberania científica sobre os produtos desenvolvidos a partir de recursos genéticos.

1.1 FUNGOS FILAMENTOSOS

Os fungos filamentosos são um grupo diverso de microrganismos eucariontes que possuem uma morfologia complexa e diversificada. (MUSTAFA; ANWER; ZRARY, 2023).

As células fúngicas, em geral, são constituídas por uma membrana plasmática e por organelas que se encontram dispersas no citoplasma. Além disso, é revestida por uma camada protetora externa, a parede celular, composta principalmente por quitina e β -glicana que além de proteção, é responsável pelo formato e comunicação intercelular. (GOW; LENARDON, 2023). As células dos fungos filamentosos possuem um formato alongado, com diâmetro que pode variar de 2–5 micrômetros (μm) de espessura (LINDSAY; KINGHORN; RAKOTONDRAIBE, 2023). Essas células alongadas são chamadas de hifas, em estruturas de rede intrincadas (micélio), que são observáveis a olho nu (NOSALJ *et al.*, 2021).

Sua reprodução pode ser sexuada ou assexuada (WILSON *et al.*, 2021). Na reprodução sexuada podem ser verificadas três etapas principais: plasmogamia, na qual ocorre a fusão do citoplasma dos micélios; cariogamia, na qual os núcleos haploides se fundem, formando células diplóides; e, por fim,

a meiose, que gera células com maior diversidade genética (FRANCO-CANO *et al.*, 2021).

A reprodução assexuada nos fungos pode ocorrer por meio de diferentes estruturas especializadas, destacando-se, entre elas, os esporangiósporos e os conídios (SENANAYAKE *et al.*, 2022). Os esporangiósporos são esporos produzidos no interior de uma estrutura em forma de saco denominada esporângio. Após o amadurecimento, esses esporos são liberados no ambiente e, ao encontrarem condições favoráveis, germinam, dando origem a um novo micélio. Observados comumente em fungos do filo *Zygomycota* (HERMOSILLA *et al.*, 2023).

Os conídios são formados externamente em estruturas especializadas denominadas conidióforos, comumente observadas em fungos dos filos *Basidiomycota* e *Ascomycota*, como o utilizado no presente estudo (IVERSON; EHRENFELD, 2023). Esses conidióforos podem surgir de forma isolada ou organizados em corpos de frutificação definidos, variando de acordo com a espécie fúngica. Os conídios são formados por mitose e, embora não envolvam recombinação genética, desempenham um papel crucial na rápida disseminação do fungo e na colonização de novos ambientes, mesmo em condições adversas (BISEN, 2020).

Os fungos filamentosos se desenvolvem de forma diferente, dependendo do tipo de meio de cultivo. Considerando os cultivos industriais ou tecnológicos, o meio de cultivo pode se apresentar em estado sólido ou líquido. No caso do estado líquido, o fungo pode crescer de duas formas, dependendo se há agitação ou não. No processo em superfície, no qual não há agitação, o micélio cresce de forma dispersa na superfície do meio líquido. No processo em submerso, o fungo cresce na forma de pellets, pequenos aglomerados esféricos de micélio (GRECO-DUARTE *et al.*, 2023).

O cultivo em estado sólido é amplamente utilizado em escala laboratorial e industrial, sobretudo por se assemelhar às condições naturais de crescimento desses microrganismos e por sua viabilidade econômica (CHILAKAMARRY *et al.*, 2022). Essa técnica consiste na utilização de substratos sólidos com baixa umidade, frequentemente resíduos agroindustriais, que funcionam simultaneamente como fonte de nutrientes e suporte físico para o desenvolvimento do fungo (MOLELEKOA *et al.*, 2021).

Apesar de suas vantagens iniciais, o cultivo em estado sólido apresenta limitações consideráveis quando se objetiva a produção em escala industrial (TROIANO *et al.* 2020). Dentre os principais desafios técnicos estão o controle não uniforme de parâmetros críticos como temperatura, umidade, pH e oxigênio, o que pode comprometer o rendimento e a reprodutibilidade dos processos (WANG *et al.*, 2023). Além disso, a limitação da difusão de nutrientes torna esse cultivo menos adequado para aqueles de alta performance e processos que exigem monitoramento constante (SCHRAMM *et al.*, 2022).

Em contrapartida, o cultivo submerso tem sido majoritariamente usado para a produção de metabólitos secundários e compostos de valor agregado em larga escala como enzimas, antibióticos e vitaminas (BISHNOI *et al.*, 2024). Essa técnica envolve o cultivo dos microrganismos em meio líquido, em sistemas com agitação e aeração controladas, permitindo uma melhor homogeneização do cultivo e maior controle dos parâmetros físico-químicos ao longo do processo (ROUSTA *et al.*, 2021). O cultivo submerso também facilita a automação, a recuperação do produto e o desenvolvimento de processos industriais reprodutíveis e padronizados, tornando-se uma alternativa estratégica em bioprocessos industriais (CAO *et al.*, 2024).

O presente trabalho utilizou o sistema submerso para o cultivo de *Penicillium pedernalense* F4B1, com o objetivo de produzir extratos brutos com potencial bioativo.

1.1.1 FORMAÇÃO DOS PELLETS FÚNGICOS

No sistema de cultivo submerso, os fungos filamentosos podem assumir diversas estruturas morfológicas, porém as mais comuns incluem micélios aglomerados em formato esféricos compactos chamados de pellets, que é a alternativa mais rentável para o processo de cultivo desses microrganismos (CERRONE E O'CONNOR, 2025).

Os pellets fúngicos são estruturas esféricas formadas por micélios densamente entrelaçados, o que simplifica a separação da biomassa do meio de cultivo (TEIXEIRA *et al.*, 2023a). A estrutura filamentosa fúngica formada pelos pellets, fornece vantagens na simplificação do processo de coleta da biomassa, como por exemplo filtração (AKANIRO *et al.*, 2023).

A formação de pellets pode ser classificada em dois processos de aglomeração: coagulativo e não coagulativo (ZHANG *et al.*, 2023). Nos pellets coagulativos, como ocorre em *Aspergillus niger* e *Penicillium oxalicum*, os esporos se aglomeram logo após a inoculação, devido a interações eletrostáticas e salinas entre os polissacarídeos da superfície da parede celular, além da hidrofobicidade das proteínas presentes na superfície dos esporos (MÜLLER *et al.*, 2022).

Nos processos de formação de pellets classificados como não coagulativos, observa-se que a germinação das hifas ocorre anteriormente à agregação micelial, o que implica que, teoricamente, um único esporo pode dar origem a um pellet isolado (DINIUS *et al.*, 2024). Um exemplo representativo deste padrão morfológico é observado em *Trichoderma reesei*, conforme descrito por Fitz *et al.*, 2019.

O formato esférico dos pellets está diretamente associado ao tipo de aglomeração fúngica, porém também sofre influência significativa da intensidade da agitação (rotação) e da taxa de aeração aplicadas durante o cultivo submerso (MIYAZAWA *et al.*, 2022). A agitação no cultivo submerso desempenha um papel essencial na formação e no tamanho dos pellets fúngicos; quando a agitação não é constante, os pellets não se tornam compactos, o que pode influenciar diretamente o crescimento e a produtividade dos microrganismos (FA'IS; CHINDYASTUTI; ILMU, 2024).

A velocidade da agitação é um fator determinante, pois uma agitação vigorosa pode gerar pellets de menor diâmetro e mais numerosos, aumentando a área de contato com o meio. No entanto, essa alta taxa de agitação pode elevar a probabilidade de cisalhamento, resultando na fragmentação ou ruptura total dos pellets (LIU *et al.*, 2021).

Um exemplo clássico dessa relação entre agitação e formação de pellets é *Aspergillus niger*, amplamente utilizado na produção de ácido cítrico (BUFFO *et al.*, 2020). Para alcançar um alto rendimento, é necessário que os pellets tenham um diâmetro de 0,2–0,8 mm, densos e altamente ramificados, garantindo uma maior eficiência no processo. O cultivo em escala industrial deste composto gera cerca de 80.000 toneladas anuais de pellets como subproduto, abrindo possibilidades para aplicações alternativas (CABRERA-BARJAS *et al.*, 2020).

Outra espécie fúngica cujo diâmetro dos pellets favorece seu rendimento é o *Penicillium chrysogenum*, um dos principais produtores de penicilina. Embora possua outras aplicações biotecnológicas, a produção de penicilina continua sendo sua maior aplicabilidade, seus pellets variam de 0,1 a 1 mm (SAWANT; NAVALE; VAMKUDOTH, 2023).

Abdel Kareem *et al.* (2024) realizaram um estudo sobre a biotransformação da progesterona no composto anticâncer testololactona por *Penicillium chrysogenum*, utilizando um cultivo submerso com formação de pellets para promover a biotransformação. Kazemian *et al.* (2023) conduziram um experimento para avaliar o potencial de micolixiviação desse fungo.

O pH do meio de cultivo é outro fator que têm um impacto significativo na morfologia dos esporos (MUSTAFA; ANWER; ZRARY, 2023). O crescimento das hifas ocorre de forma polarizada, sendo que os esporos fúngicos geralmente apresentam cargas negativas em sua superfície, as quais são influenciadas pelo pH do meio e pela força iônica (CAO *et al.*, 2024).

Hermández-Cruz *et al.* (2024) realizaram um experimento exploratório com *Rhizopus stolonifer* com o objetivo de investigar a influência do pH na formação de pellets. Os resultados demonstraram que os cultivos mantidos entre os valores de pH 5,0 e 7,0 apresentaram os maiores diâmetros de pellets, indicando que essa faixa favorece o crescimento micelial organizado em estruturas compactas.

Complementarmente, Buffo *et al.*, (2020) estudaram a relação entre a velocidade de agitação e a cinética de fragmentação de pellets em cultivos submersos de *Aspergillus niger*. Os autores observaram que o aumento da velocidade de rotação resultou em uma redução no diâmetro dos pellets, além de promover maior cisalhamento das hifas. Esses dados sugerem que a agitação intensa, embora favoreça a homogeneização do meio, pode comprometer a integridade estrutural dos pellets, levando à formação de unidades menores e menos coesas.

Tais achados reforçam a importância do controle das condições de cultivo para a padronização morfológica dos fungos filamentosos, especialmente em processos industriais que visam a produção de metabólitos secundários e biomassa fúngica com características específicas.

1.2 GÊNERO *PENICILLIUM*

Em 1809, Johann Link foi o primeiro a introduzir a denominação *Penicillium*, que vem do Latim penicillus, “pincel”, traduzido de forma literal “pequena cauda”. O nome foi dado em referência à estrutura do conidióforo, que lembra um pincel. A Figura 1 ilustra a arquitetura morfológica do *Penicillium pedernalense* F4B1. (AKANIRO *et al.*, 2023; PANGGING; NGUYEN; LEE, 2021).



Figura 1 - Hifas de *Penicillium pedernalense* F4B1, coradas com azul de metileno. Aumento de 400x. A seta mostra a estrutura do conidióforo com os esporos (conídios). Imagem autoral.

O gênero *Penicillium* e subgêneros da família *Aspergillaceae*, são reconhecidos por sua versatilidade microbiana, englobando espécies capazes de sintetizar uma ampla diversidade de metabólitos secundários bioativos. (ALI SHAH *et al.*, 2022; ARAUJO SILVA FILHO 2023). Esse gênero apresenta diversas aplicações, especialmente em contextos biotecnológicos (Tabela 1).

Tabela 1- Aplicações do gênero *Penicillium*.

Espécie	Atividade biológica dos Metabólitos	Referência
<i>Penicillium chrysogenum</i>	Anti-inflamatória; antibiótica	(BARREIRO, ALBILLOS; GARCÍA-ESTRADA, 2024; ZHU <i>et al.</i> , 2024)
<i>Penicillium rubens</i>	Antibiótica	(SAWANT, NAAVALE; VAMKUDOTH, 2023)
<i>Penicillium thomii</i>	Anticâncer	(AFIYATULLOV <i>et al.</i> , 2017)
<i>Penicillium expansum</i>	Anticâncer	(YUNianto <i>et al.</i> , 2014)
<i>Penicillium citrinum</i>	Micotoxina	(JHA; RABHA, 2017)
<i>Penicillium waksmanii</i>	Antitumoral e Neurotrópica	(KOZLOVSKY; ZHELIFONOVA; ANTIPOVA, 2013)

Na lista de espécies aceitas, mais de 350 espécies identificadas taxonomicamente foram incluídas no gênero *Penicillium*, tendo a listagem atual 483 espécies aceitas (HOUBRAKEN *et al.*, 2020). Esse gênero tem se distribuído em diversas partes do mundo, entre elas Ásia, Europa e África, além dos lugares mais frios do Planeta Terra. (ROSHKA *et al.*, 2025)

Segundo o site the global biodiversity information facility (GBIF), rede internacional de infraestrutura de dados financiada por diversos governos do mundo que rastreia todas as publicações e banco de dados dos organismos vivos, existem aproximadamente 247.744 ocorrências de registros das espécies do gênero *Penicillium* no mundo (Figura 2). O Brasil é o país com mais

ocorrência de registro (35.755), seguido da Austrália (28.776) e Reino Unido com 18.931. Por continente, a Europa lidera com 73.365 registros e em segundo a América do Sul com 52.343 (<https://www.gbif.org/> acessado 25/02/2025).

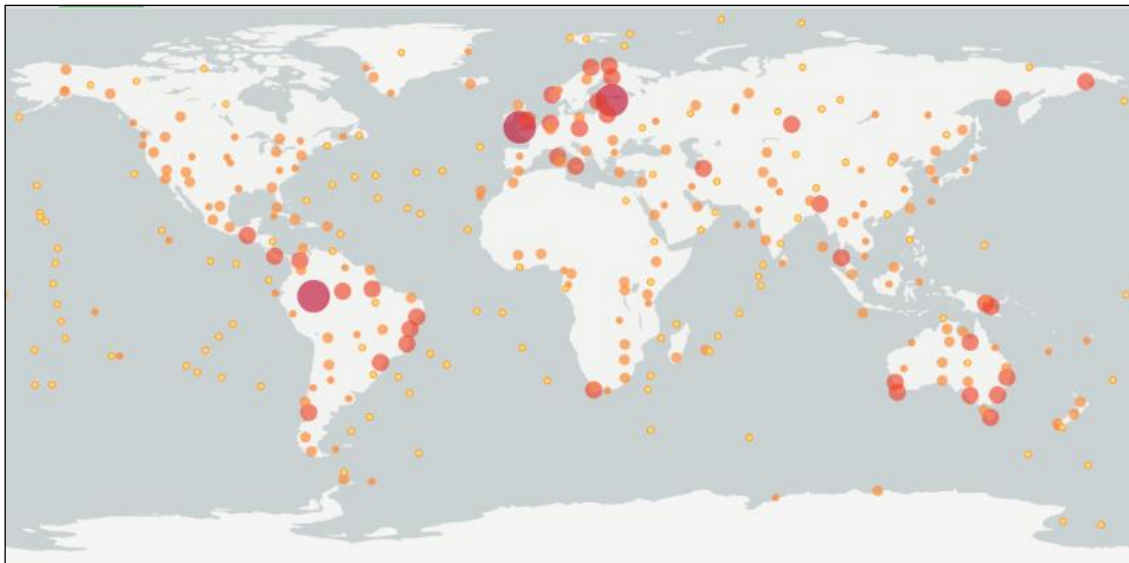


Figura 2 – Mapa do GBIF contendo ocorrências sinalizadas de registros das espécies do gênero *Penicillium* (<https://www.gbif.org/> acessado 25/02/2025).

Esse gênero compreende diversas espécies amplamente distribuídas globalmente, ocorrendo em distintos ambientes, incluindo solo, ar, ambientes internos, ecossistemas marinhos e produtos alimentícios. As análises dessas espécies têm resultado na identificação de compostos de diversas classes estruturais, muitos dos quais apresentam bioatividades distintas e potencial biotecnológico (NÓBREGA *et al.*, 2024).

Dentre os fungos filamentosos, o *Penicillium* ganhou relevância medicinal há mais de nove décadas, quando, em 1928, Alexander Fleming observou que uma cepa fúngica, posteriormente identificada como *Penicillium notatum* Westling, havia contaminado uma colônia da bactéria *Staphylococcus* e demonstrava a capacidade de inibir seu crescimento (CHHABRA; TAKSANDE; MUNJEWAR, 2024). Essa descoberta marcou o início das investigações sobre os compostos antimicrobianos produzidos por esse gênero fúngico (ALMALLAH *et al.*, 2021).

O avanço médico associado à descoberta da penicilina impulsionou intensos esforços de pesquisa voltados para o gênero *Penicillium*, com o objetivo de otimizar suas vias biossintéticas e aumentar a produção desse

antibiótico (ALSEHLI *et al.*, 2025). Atualmente, sua aplicação industrial transcende o uso farmacêutico, abrangendo também a formulação de pesticidas, agentes biorremediadores e outras finalidades. Além disso, novas espécies estão sendo continuamente identificadas, demonstrando um amplo potencial para diversas aplicações biotecnológicas (CARVALHO, *et al.*, 2021).

1.2.1 *PENICILLIUM PEDERNALENSE* F4B1

Penicillium pedernalense, é um *ascomyceto* do gênero de *Penicillium* do subgênero *Aspergilloides* seção *Lanata-Divaricata*. Foi identificado em 2016 a partir de isolados obtidos de composteiras contendo uma mistura de lascas de madeira, esterco bovino e cabeças de camarão-branco, na região de Pedernales, Equador. Por se tratar de uma espécie recentemente descrita, seu potencial biotecnológico ainda é pouco explorado (LAICH; ANDRADE, 2016).

Os estudos encontrados na literatura que mencionam *P. pedernalense* concentram-se majoritariamente em aspectos relacionados à biodiversidade, evidenciando sua ampla distribuição ecológica. Essa espécie já foi isolada de solos ácidos na China; em manguezais na Índia; de solos na Indonésia; de turfeiras na Malásia; de cascas de *Passiflora cincinnata*; e de anuros coletados em Pernambuco, Brasil (ALI *et al.*, 2021; PRAMISANDI *et al.*, 2021).

A espécie *Penicillium pedernalense* ainda é pouco explorada na literatura científica no que diz respeito às suas aplicações biotecnológicas. Até o presente momento, apenas quatro estudos foram identificados com foco nesse tipo de abordagem. Pramisandi *et al.*, (2021) demonstraram o potencial antimalárico do álcool gentisílico, um metabólito isolado dessa espécie fúngica.

Noman *et al.*, (2022) utilizaram os metabólitos secundários presentes no sobrenadante do cultivo de *P. pedernalense* na biossíntese de nanopartículas de prata, as quais apresentaram atividade significativa na inativação de esporos de *Aspergillus aculeatus*. Lin *et al.*, (2024) relataram a capacidade dessa espécie na produção de glicina-prolina cíclica, um composto de interesse farmacológico. Blanc *et al.*, (2024) avaliaram a eficiência de *P. pedernalense* em processos de biorremediação, especificamente em solos contaminados com diesel. Esses estudos evidenciam o potencial biotecnológico da espécie,

embora ainda sejam necessárias investigações mais aprofundadas para ampliar o conhecimento sobre seus metabólitos e aplicações.

O presente estudo teve como ponto de partida as investigações realizadas por Blanc *et al.*, (2022), que isolaram a linhagem fúngica *Penicillium pedernalense* F4B1 a partir de uma amostra de solo com 47% de umidade, coletada em uma área impactada por derramamento de petróleo bruto no município de Silva Jardim, estado do Rio de Janeiro. O isolamento foi realizado pelo grupo de pesquisa do Laboratório de Tecnologia Microbiana (LTM), vinculado à Universidade Federal Fluminense (UFF).

No referido estudo, os autores demonstraram o potencial dessa linhagem para a degradação de componentes presentes no óleo diesel, evidenciando sua relevância em processos de biorremediação ambiental. Importante destacar que, até o momento, não há registros na literatura científica de qualquer associação de patogenicidade com essa espécie fúngica, conforme também relatado por Pramisandi *et al.* (2021).

O gênero *Penicillium* é amplamente reconhecido pela capacidade de produzir substâncias bioativas, incluindo compostos antimicrobianos, antioxidantes e inseticidas (ZAKARIYA; MAJEED; JUSOF, 2022). A biossíntese desses metabólitos é altamente específica para cada espécie, característica que, historicamente, foi utilizada como critério para identificação de microrganismos antes do advento das técnicas de biologia molecular. A capacidade de produção de compostos bioativos varia entre as espécies, tornando essencial a investigação de novas linhagens quanto ao seu potencial biotecnológico (BÖL *et al.*, 2021).

A linhagem *P. pedernalense* F4B1 utilizada neste estudo foi isolada durante pesquisas conduzidas no LTM/UFF, o que reforça o interesse em sua investigação. A variabilidade do metabolismo secundário entre linhagens isoladas de diferentes regiões geográficas pode resultar na descoberta de novos compostos bioativos com aplicações industriais e farmacêuticas. Ademais, o uso de linhagens nacionais contribui para a valorização da biodiversidade brasileira e assegura a soberania sobre os produtos desenvolvidos, em conformidade com a Convenção sobre Diversidade Biológica (Ministério do Meio Ambiente Disponível: <https://www.gov.br/mma/pt-br/assuntos/biodiversidade/convencao-sobre-diversidade-biologica>. Acessado em 23/01/2025).

Diante da recente descrição dessa espécie, do seu potencial para a produção de metabólitos bioativos e da escassez de estudos que explorem suas aplicações biotecnológicas, pesquisas adicionais são necessárias. Esses estudos podem trazer contribuição não apenas para o avanço do conhecimento científico, mas também para o desenvolvimento de produtos de interesse estratégico para o Brasil.

1.3 COMPOSTOS BIOATIVOS PRODUZIDOS PELO GÊNERO *PENICILLIUM*

1.3.1 Metabólitos Primários e Secundários

Metabólitos são os bioprodutos formados pelo metabolismo celular. Possuem funções diversificadas como conversão de energia e atividade de cofator (POBIEGA *et al.*, 2024). Metabólitos primários são um tipo de metabólito que está diretamente envolvido nos processos fundamentais de crescimento, desenvolvimento e reprodução dos organismos. Esses metabólitos, frequentemente denominados metabólitos centrais, apresentam sua síntese e função restritas, predominantemente, a células ou organismos em fase de crescimento ativo (CHROUMPI; MÄKELÄ; VRIES, 2020).

Metabólitos secundários são moléculas de estrutura mais complexa que os metabólitos primários, que não desempenham um papel essencial no crescimento dos organismos que os sintetizam. No entanto, estão frequentemente envolvidos em interações ecológicas específicas, sendo associado ao modo de vida especializado de diversos fungos (DROTT *et al.*, 2020).

Os metabólitos secundários fúngicos são categorizados em quatro principais famílias químicas: terpenóides, policetídeos, peptídeos não ribossômicos, e híbridos de peptídeos/policetídeos (NAWROT-CHORABIK; SUŁKOWSKA; GUMULAK, 2022). Os terpenóides incluem substâncias com propriedades antimicrobianas e antioxidantes; os policetídeos abrangem antibióticos e pigmentos bioativos; os peptídeos não ribossômicos incluem importantes fármacos como a ciclosporina e a penicilina; e os híbridos

combinam características de peptídeos e policetídeos, ampliando sua diversidade estrutural e funcional (CONRADO *et al.*, 2022).

A capacidade dos fungos filamentosos de produzir essa variedade de metabólitos secundários ressalta seu potencial biotecnológico, incentivando a busca por novas espécies e condições de cultivo que favoreçam a biossíntese de compostos com aplicações inovadoras. (GONG; ZHANG; LIU, 2023).

1.3.2 ANTIMICROBIANOS

A disseminação de microrganismos resistentes a múltiplos antibióticos representa um desafio significativo para a saúde pública global. Diante desse cenário e da crescente preocupação com os custos associados à assistência médica, a busca por novos agentes antimicrobianos eficazes, que minimizem a resistência microbiana e sejam economicamente viáveis, tem sido um foco central de diversas pesquisas científicas (HERMOSILLA *et al.*, 2023).

Antimicrobianos são substâncias empregadas para eliminar ou inibir o crescimento de bactérias. Os antibióticos, que podem ser moléculas orgânicas naturais ou sintéticas, têm eficácia contra esses microrganismos. Utilizados frequentemente como uma forma de tratamento no organismo humano, eles desempenham um papel crucial na proteção contra infecções bacterianas e fúngicas (MURRAY *et al.*, 2022).

Um aumento extensivo na resistência a antibióticos devido à persistência sustentada de bactérias resistentes está se tornando uma séria ameaça à saúde pública em todo o mundo (LAI *et al.*, 2023). Essa situação é agravada pela queda na produção de medicamentos desde o final da década de 1960 após o aparecimento de cepas resistentes à metilicina, além dos longos processos necessários para testar e aprovar novos tratamentos pelas autoridades regulatórias (ALSHEIKH *et al.*, 2020).

O declínio na introdução de novos antibióticos, combinado com o aumento global da resistência antimicrobiana (RAM), destaca a urgência de desenvolver planos de ação eficazes para o tratamento de infecções microbianas. Manter a eficácia dos antibióticos existentes e investir na descoberta de novos medicamentos pode contribuir de forma significativa para as iniciativas globais e programas que visam combater a RAM (ISKANDAR *et al.*, 2022).

Os desafios na descoberta de antibióticos vão além das limitações técnicas e econômicas. Diversas iniciativas públicas, privadas e público-privadas têm sido realizadas para incentivar a pesquisa e o desenvolvimento de novos antibióticos, mas é necessário que essas iniciativas sejam priorizadas de maneira eficiente (ZHU; HUANG; YANG, 2022). A resistência adquirida é uma preocupação crescente de saúde pública, resultante do uso excessivo de antibióticos pelo ser humano, o que leva à seleção de genes resistentes (WALUYO *et al.*, 2021)

A busca por novas substâncias, ou compostos com atividade antimicrobiana, é uma das principais estratégias na luta contra a RAM. Desde a década de 1980, os antibióticos lançados no mercado têm sido, em sua maioria, modificações ou melhorias de moléculas já existentes (ZHU; HUANG; YANG, 2022). A Organização Mundial da Saúde (OMS) descreve o cenário atual como preocupante, alertando para a escassez de novas alternativas (SERWECIŃSKA, 2020).

Uma análise quantitativa e qualitativa das estruturas pré-clínicas e clínicas, revela que poucos antibióticos têm potencial para serem lançados nos próximos anos, sendo que, em grande parte, esses não atendem aos critérios inovadores necessários para combater a disseminação da RAM (BOTTERY; PITCHFORD; FRIMAN, 2021). A diversidade e a inovação são fundamentais para enfrentar a rápida evolução da resistência antimicrobiana. A descoberta e o desenvolvimento de antibióticos devem abordar tanto a resistência aos medicamentos antigos quanto aos novos (CHRISTAKI; MARCOU; TOFARIDES, 2020).

A descoberta de antibióticos, como foi relatado, é extremamente necessária e essencial para enfrentar a crescente da RAM. Por exemplo, as bactérias *Staphylococcus aureus* (gram-positiva) e *Escherichia coli* (gram-negativa), embora façam parte da microbiota natural de humanos e animal de forma comensal, podem causar infecções graves dependendo de fatores como a imunidade do hospedeiro e a virulência da cepa (ALHUMAID *et al.*, 2021).

Staphylococcus aureus é amplamente conhecido por sua associação com infecções crônicas e recorrentes, incluindo feridas, infecções do trato nasal, infecções de tecidos moles e dermatite atópica. Destaca-se por sua notável

capacidade de desenvolver resistência a antibióticos, representando um desafio significativo para o tratamento clínico (KAKOULLIS *et al.*, 2021).

Essa bactéria pode apresentar resistência a diversas classes de antimicrobianos, sendo um dos principais desafios na prática clínica. Entre as principais classes de antibióticos aos quais *S. aureus* pode desenvolver resistência estão: beta-lactâmicos; glicopeptídeos; tetraciclina; sulfonamidas e fluoroquinolonas. A resistência de *Staphylococcus aureus* a múltiplas classes de antimicrobianos reforça a necessidade de uso criterioso de antibióticos para evitar a disseminação de cepas multirresistentes (TWOMEY *et al.*, 2024).

A bactéria *Escherichia coli* é uma das principais causadoras de infecções gastrointestinais. Em geral, apresentam alta resistência aos antibióticos beta-lactâmicos. Isso ocorre porque esses antibióticos têm uma estrutura semelhante à da transpeptidase, enzima responsável por conferir rigidez à parede celular bacteriana (FISHER; MOBASHERY, 2021). No entanto, a composição da parede e da membrana celular dessas bactérias dificulta a passagem dos antibióticos através das porinas (aberturas específicas nas membranas) e sua ligação às proteínas receptoras bacterianas, conhecidas como proteínas ligadoras de penicilina (PBPs) ou transpeptidases, impedindo sua inativação (JUBEH; BREIJYEH; KARAMAN, 2020).

O gênero *Penicillium*, composto por diversas espécies fúngicas, representa uma fonte promissora de compostos químicos bioativos com potencial aplicação farmacológica (MUHAMMAD *et al.*, 2024). Dentre as espécies pertencentes a esse gênero, *Penicillium chrysogenum* destaca-se por seu papel histórico e científico como um dos principais produtores naturais de penicilina, antibiótico amplamente utilizado no combate a infecções bacterianas (SHAABAN *et al.*, 2023). Além da penicilina, diversos outros metabólitos secundários têm sido isolados de *P. chrysogenum*, os quais apresentam propriedades que podem contribuir para a potencialização da ação antibacteriana, configurando-se como alternativas estratégicas no enfrentamento à crescente resistência bacteriana (TOGHUEO; BOYOM, 2020).

A resistência antimicrobiana agrava essas infecções, tornando essas bactérias as principais responsáveis pelas mortes associadas à resistência no mundo. As indústrias farmacêuticas têm buscado alternativas para potencializar

a ação de compostos bioativos antimicrobianos, no combate da RAM, e uma dessas alternativas é a utilização dos nanomateriais (BUDEA *et al.*, 2023).

1.3.3 ANTIOXIDANTES

Os antioxidantes são substâncias que ajudam a proteger as células do organismo contra os danos causados pelos radicais livres, moléculas instáveis produzidas naturalmente pelo metabolismo ou por fatores externos, como poluição, radiação e alimentação inadequada. Esses radicais livres podem levar ao estresse oxidativo, um processo que está associado ao envelhecimento precoce e ao desenvolvimento de diversas doenças, como câncer, doenças cardiovasculares e neurodegenerativas (PRUDÊNCIO DE SOUZA *et al.*, 2023).

Os radicais livres são espécies químicas caracterizadas pela presença de pelo menos um elétron desemparelhado em seus orbitais externos, conferindo-lhes alta reatividade e a capacidade de transferir elétrons para moléculas adjacentes (VATNER *et al.*, 2020).

O oxigênio, é uma molécula altamente reativa, pode sofrer reduções parciais, dando origem as espécies reativas de oxigênio (EROs). Entre os principais radicais livres de interesse biológico, destacam-se o radical superóxido (O_2^-), o radical hidroperoxila (HO_2) e o radical hidroxila (OH). Este último é considerado um dos mais reativos dentro do grupo das EROs (LOPEZ-MORENO *et al.*, 2023; RAJOKA *et al.*, 2021).

Embora as EROs desempenhem papéis fundamentais em processos fisiológicos, como apoptose, imunidade e sinalização celular, o excesso dessas espécies reativas, frequentemente causado por fatores ambientais como radiação UV, poluentes e tabagismo, pode desencadear estresse oxidativo, que é o desequilíbrio entre a produção de radicais em um organismo, e sua capacidade reduzida de desintoxicação (ASSALVE *et al.*, 2024).

O excesso de Espécies Reativas de Oxigênio (EROs) pode ser prontamente neutralizado por mecanismos de defesa antioxidante, garantindo a manutenção do equilíbrio redox, um estado fundamental para a homeostase dos organismos vivos. No entanto, quando ocorre um desequilíbrio, resultante da insuficiente neutralização das EROs por processos endógenos e exógenos, leva à indução do estresse oxidativo (GARCIA *et al.*, 2023)

O desequilíbrio entre a produção de EROs e as defesas antioxidantes compromete componentes celulares, como proteínas, lipídios e DNA, e está associado a diversas doenças, incluindo distúrbios metabólicos, câncer, doenças neurológicas e cardiovasculares, infertilidade e envelhecimento. Por isso, a redução do estresse oxidativo é amplamente considerada benéfica para a saúde humana (HAYES; DINKOVA-KOSTOVA; TEW, 2020).

Os antioxidantes podem ser encontrados em diversos alimentos, principalmente em frutas, legumes, verduras e oleaginosas, e incluem vitaminas como a vitamina C e a vitamina E, além de compostos como flavonoides, carotenoides e polifenóis. O organismo também produz antioxidantes endógenos, como a glutatona e as enzimas superóxido dismutase e catalase (GONZALES; VILLENA; KITAZONO, 2021).

Os fungos filamentosos representam uma promissora fonte de exploração para a obtenção de metabólitos secundários com expressivas atividades antioxidantes (MEINI *et al.*, 2021). Apresentam vantagens biotecnológicas significativas para a produção de antioxidantes naturais, destacando-se pela rápida taxa de crescimento, viabilidade econômica, formação de pellets que facilitam o processamento (CHAKRABORTY; MAJUMDAR; BHOWAL, 2021).

1.4 NANOPARTÍCULAS DE PRATA

A indústria farmacêutica tem direcionado esforços significativos para o desenvolvimento de novos antibióticos com mecanismos de ação mais eficazes e específicos, visando inibir processos essenciais à sobrevivência bacteriana, como a replicação do DNA, a síntese proteica e a formação da parede celular (PRYSHCHEPA; POMASTOWSKI; BUSZEWSKI, 2020). Esses avanços buscam não apenas ampliar o espectro de ação das moléculas antimicrobianas, mas também superar os desafios impostos pela crescente resistência bacteriana aos antibióticos tradicionais (CRISAN *et al.*, 2021).

A nanotecnologia representa uma revolução no campo médico e científico, impulsionando avanços significativos em diversas áreas (SHINDE *et al.*, 2022). O desenvolvimento de nanomateriais tem otimizado tecnologias voltadas para imagens moleculares, terapia celular, engenharia de tecidos, biorremediação, tratamento de resíduos na água, administração direcionada de

fármacos, tratamento do câncer, cicatrização de feridas e transferência gênica (ABBASI *et al.*, 2023). Além disso, seu potencial antimicrobiano tem sido amplamente explorado, destacando-se como uma estratégia promissora para o controle de infecções bacterianas. A nanotecnologia tende a continuar a desempenhar um papel fundamental no desenvolvimento de novas abordagens terapêuticas e biomédicas (ALI *et al.*, 2025).

As propriedades físico-químicas das nanopartículas desempenham um papel crítico na citotoxicidade. Fatores como a composição, o tamanho, a área de superfície e a funcionalização da superfície (por meio de agentes de encapsulamento) influenciam significativamente sua toxicidade (YASSIN *et al.*, 2021). Em particular, nanopartículas de menor diâmetro tendem a apresentar maior toxicidade em comparação com as de maior tamanho, devido à sua maior relação superfície/volume e à consequente capacidade de interagir mais intensamente com estruturas biológicas (CHANDRAKALA; ARUNA; ANGAJALA, 2022).

As nanopartículas de prata (AgNPs), são compostas por um nanomaterial coloidal metálico, que está inserido em uma escala nanométrica que variam entre 1 e 100 nm (CHANDAK; NAGIME, 2025).

1.4.1 SÍNTESE DAS NANOPARTÍCULAS DE PRATA

Entender os fundamentos da síntese das nanopartículas de prata (Ag NPs) é essencial para ajustar os parâmetros de reação e obter controle preciso sobre sua morfologia. As nanopartículas podem ser sintetizadas a partir de diversos metais nobres, sendo as AgNPs particularmente destacadas devido às suas propriedades (XU *et al.*, 2020). Entre suas principais características, destacam-se a alta condutividade elétrica, óptica e térmica aprimoradas, o que as torna vantajosas para uma ampla gama de aplicações, incluindo catálise, embalagens de alimentos, tecnologias para purificação da água, imagens biomédicas, eletrônica e optoeletrônica (TORTELLA *et al.*, 2020).

As AgNPs são normalmente obtidas por dois tipos de processos: *Top-Down* (físico) e *Bottom-up* (químico; biológico) (XU *et al.*, 2020).

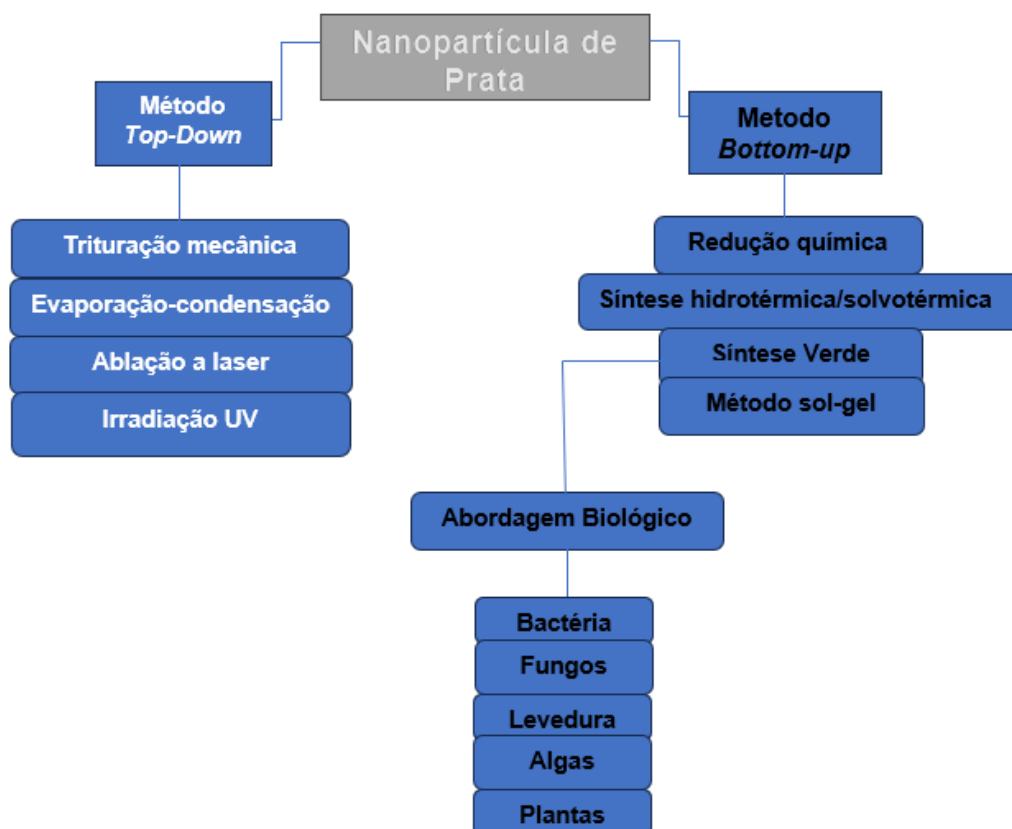


Figura 3 – Métodos sintéticos *Top-Down* e *Bottom-up*, com as suas respectivas abordagens para a produção das nanopartículas. Fonte: Autoral.

O método *top-down*, conhecido como método físico, consiste na redução do tamanho de estruturas macroscópicas até a escala nanométrica, mantendo as suas características originais sem alterações nos níveis atômico e subatômico (CHANDAK; NAGIME, 2025). Essa abordagem é conhecida como dispersão, pois envolve a quebra de grandes quantidades da massa de prata (Ag) para a obtenção de AgNPs (VINAYAGAM *et al.*, 2024).

Esse processo ocorre de forma termodinâmica e pode ser realizado por meio de técnicas como trituração mecânica, evaporação-condensação, ablação a laser, irradiação UV entre outros métodos físicos.

A principal vantagem dessa abordagem é a ausência de reações químicas complexas, permitindo um controle preciso da pureza e composição do material. No entanto, apresenta desafios como o alto consumo de energia e a dificuldade em obter uma distribuição uniforme do tamanho das nanopartículas (PRYSHCHEPA; POMASTOWSKI; BUSZEWSKI, 2020).

O método *Bottom-up*, depende amplamente de reações químicas ou biológicas para a formação das nanopartículas, permitindo um maior controle sobre suas propriedades estruturais e funcionais (JIANG *et al.*, 2022). Inclui diversas abordagens, como a redução química, a síntese hidrotérmica/solvotérmica, método sol-gel, síntese verde ou biológica entre outros. Essas técnicas permitem a formação controlada de nanopartículas, possibilitando a modulação de suas características físico-químicas para diferentes aplicações (REVERBERI *et al.*, 2022).

Na redução química é utilizado um solvente como agente redutor para obtenção de AgNPs. A morfologia das AgNPs geradas por esse método pode variar dependendo do agente redutor, temperatura da reação e a concentração dos reagentes (MEJÍA-MÉNDEZ; LÓPEZ-MENA; SÁNCHEZ-ARREOLA, 2023). Entretanto, é um método que envolve processos químicos complexos, e tem a necessidade de purificação para remover subprodutos (ABBAS; AMIN, 2022).

1.4.2 SÍNTESE VERDE

O método biológico, também chamada de síntese verde, foi proposto como uma alternativa ao método químico, visando superar suas limitações para a síntese de AgNPs. A síntese verde utiliza microrganismos vivos (microalgas, plantas, bactérias, fungos filamentosos e leveduras) ou seus metabólitos (extratos) para reduzir íons de prata (Ag^+), resultando na formação de nanopartículas (Figura 4) (LIAQAT *et al.*, 2022).

A biorredução de íons metálicos pode ser realizada tanto por organismos vivos quanto por seus extratos, obtidos a partir do meio de cultivo ou da biomassa (VANLALVENI *et al.*, 2024). Essa abordagem tem se mostrado eficaz na síntese verde de nanopartículas, uma vez que os metabólitos presentes nesses extratos desempenham papel fundamental na redução e estabilização das partículas formadas (SOLEIMANI *et al.*, 2022; SIVALINGAM *et al.*, 2023).

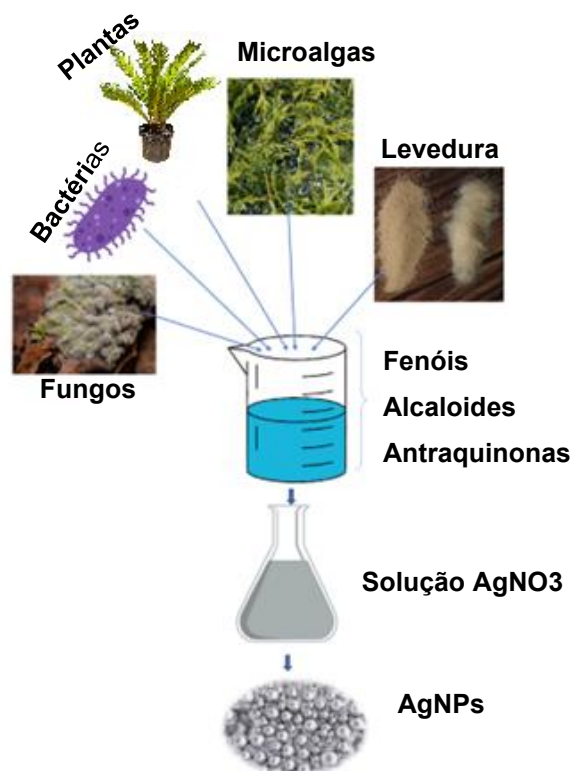


Figura 4 – Método Biológico para a produção das nanopartículas de prata – Fonte: Chandak et al., 2025

Essa abordagem apresenta diversas vantagens, incluindo a eliminação do uso de reagentes tóxicos, a maior eficiência na produção de nanopartículas por meio de biossíntese e a maior estabilidade das partículas formadas. Além disso, a síntese biológica é considerada uma alternativa ecologicamente sustentável, contribuindo para o desenvolvimento de nanomateriais com menor impacto ambiental (SHINDE *et al.*, 2022).

A biossíntese de AgNPs pode ocorrer por meio de dois mecanismos principais: biorredução e bioabsorção. No processo de biorredução, os íons de prata (Ag^+) são convertidos em formas biológicas mais estáveis, em um processo redox no qual o íon metálico é reduzido para gerar nanopartículas estáveis, que podem ser facilmente extraídas do meio biológico (BI; SRIVASTAVA, 2025). Esse mecanismo pode conferir vantagens adaptativas ao organismo, permitindo a neutralização de íons metálicos potencialmente tóxicos (INDIARTO *et al.*, 2022).

No processo de biossorção, os íons de prata aderem à superfície celular do organismo, geralmente interagindo com biomoléculas presentes na parede celular. Esse fenômeno facilita a formação de nanopartículas de prata, que se organizam em resposta às interações bioquímicas locais. Ambos os mecanismos apresentam potencial para a síntese sustentável de AgNPs, minimizando o uso de reagentes tóxicos e promovendo a obtenção de nanopartículas com propriedades controladas (MUSTAPHA *et al.*, 2022).

1.4.3 CARACTERIZAÇÃO DA NANOPARTÍCULA

A Tabela 2 apresenta alguns dos métodos para a caracterização das AgPNs, acompanhados das suas respectivas técnicas analíticas.

Tabela 2- Métodos de caracterização das AgPNs

Técnica	Princípio	Observações	Referências
Espectrofotometria UV-Vis	Absorção de luz em um comprimento de onda entre 400–450 nm permite a confirmação da síntese das nanopartículas por meio da ressonância plasmônica de superfície (RPS)	Método rápido, simples, econômica, sensível e seletiva para vários tipos de NPs	MAGDY <i>et al.</i> , 2024
Espalhamento Dinâmico de Luz (EDL)	Técnica curta, fácil e não destrutiva, utilizada para medir o tamanho de partículas nos regimes micro e nanométrico, baseada na análise do movimento Browniano por meio das variações na intensidade da luz dispersa.	Diâmetro médio, índice de polidispersão (IP), ideal para suspensões coloidais, limitado em sistemas com aglomeração	DAWADI <i>et al.</i> , 2021

Potencial Zeta	Avalia a estabilidade coloidal de nanomateriais sintetizados; quanto maior seu valor (positivo ou negativo), maior a repulsão entre partículas e, conseqüentemente, maior a estabilidade. A medição baseia-se no movimento eletroforético das partículas em um campo elétrico.	Estabilidade coloidal (carga superficial das partículas). Valores $> \pm 30$ mV indicam boa estabilidade.	ZULFIQAR <i>et al.</i> , 2024
Microscopia Eletrônica de Transmissão (TEM)	Feixe de elétrons atravessa a amostra fina	Tamanho, forma, morfologia e dispersão das partículas. Alta resolução das imagens.	ALI; AHMED; AL-AHMED, 2023
Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)	Feixe de elétrons varre a superfície da amostra	Analisa a morfologia superficial, agregação e estrutura das nanopartículas. Complementar ao MET, o MEV é especialmente indicado para a caracterização morfológica de amostras espessas superiores a 100 nm.	XU <i>et al.</i> , 2023
Microscopia Eletrônica de Varredura por Emissão de Campo (FE-SEM)	Feixe de elétrons altamente focado gerado por emissão de campo para varrer a superfície da amostra. Uma técnica mais avançada da microscopia eletrônica.	Oferece alta resolução e grande profundidade de campo, permitindo a visualização detalhada da morfologia e topografia de estruturas em escala nanométrica.	KAUR; SINGH; KUMAR, 2024
Difração de Raios X (DRX)	Método analítico proeminente amplamente utilizado para a investigação da estrutura	Identifica presença de prata metálica (Ag ⁰), estima o tamanho médio dos cristais e avalia	THOMAS <i>et al.</i> , 2024

	molecular e tamanho cristalina de materiais.	possíveis impurezas ou fases residuais da síntese	
Espectroscopia no Infravermelho por Transformada de Fourier (FTIR)	Identificação de grupos funcionais com base na absorção seletiva da radiação infravermelha por ligações químicas presentes nas moléculas.	Útil para identificar compostos envolvidos na redução e estabilização das AgNPs	VINAYAGA M <i>et al.</i> , 2024

2. OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Explorar o potencial biotecnológico dos produtos metabolizados pela linhagem fúngica *Penicillium pedernalense* F4B1, a partir da biomassa e do meio fermentado.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Obter extratos da biomassa e do meio fermentado, a partir de um cultivo submerso dos isolados de *Penicillium pedernalense* F4B1.
- Avaliar a atividade antimicrobiana dos extratos da biomassa fúngica e do meio de cultivo frente as bactérias *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 e *Escherichia coli* ATCC 25922.
- Avaliar a atividade antioxidante dos extratos da biomassa fúngica e do meio de cultivo, a partir de testes *in vivo* utilizando a levedura *Saccharomyces cerevisiae* BY4741 como modelo biológico.
- Obter nanopartículas de prata utilizando os extratos obtidos.
- Avaliar a ação antibacteriana das nanopartículas de prata obtidas.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1 MICRORGANISMOS:

A linhagem fúngica utilizada para a produção dos metabólitos foi *Penicillium pedernalense* F4B1, isolada de solo contaminado com petróleo (BLANC; DUARTE FIAUX, 2024). O microrganismo foi conservado na forma de conídios congelados em glicerol (-14 °C) e em areia estéril.

As bactérias *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 e *Escherichia coli* ATCC 25922, conservadas em ágar BHI (infusão de cérebro de boi 200,0 mL; infusão de coração de boi 250,0 mL; peptona (digestão pancreática de caseína) 10,0 g; cloreto de sódio 5,0 g; dextrose (glicose) 2,0 g; fosfato dissódico 2,5 g; ágar 15,0 g) sob refrigeração, foram utilizadas para os testes de atividade antibacteriana.

Saccharomyces cerevisiae BY4741, adquirido da companhia Euroscarf (Alemanha), armazenado em ágar YPD 2% (2% m/v glicose, 1% m/v extrato de levedura, 2% m/v peptona e 1% m/v ágar/ágar) sob refrigeração, foi usado como modelo biológico nos testes de atividade antioxidante.

3.2 MEIOS DE CULTURA

3.2.1 MEIO PARA OBTENÇÃO DOS CONÍDIOS

O meio de cultivo solidificado, utilizado para a obtenção dos conídios de *Penicillium pedernalense* F4B1, foi o ágar Sabouraud dextrose, de composição em g/L: Peptona (10,0), dextrose (40,0), ágar (15,0) em água destilada, pH 5,5.

3.2.2 MEIO PARA OBTENÇÃO DOS COMPOSTOS BIOATIVOS EM CULTIVO SUBMERSO

O meio de cultivo líquido codificado como R, foi o mesmo para a pré-cultura e o cultivo principal. Composição em g/L: sacarose (20,0), peptona (5,0) e extrato de levedura (1,0), em água destilada, com pH ajustado para 5,5.

Foi utilizado ainda um meio de cultura codificado como meio P, para a verificação da influência da composição do meio no diâmetro do pellet.

Composição em g/L: sacarose (20,0); nitrato de sódio (5,0); fosfato diácido de potássio (1,0); sulfato de magnésio heptahidratado (0,2). pH 5,5.

3.2.3 MEIOS PARA ENSAIOS ANTIMICROBIANOS

O meio de cultivo utilizado para o crescimento das bactérias *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 e *Escherichia coli* ATCC 25922, foi o Plate Count Agar (PCA), composição em g/L: caseína triptona (5,0 g), extrato de levedura (2,5 g), glicose 1,0 g e ágar (15,0 g).

Os ensaios antimicrobianos foram realizados em meio ágar Mueller-Hinton, composição em g/L: extrato de carne: (2,0 g), amido: (1,5 g), extrato de levedura: (17,5 g), ágar: (17,0 g).

3.2.4 MEIOS PARA ENSAIOS ANTIOXIDANTES

Nos ensaios antioxidantes, com a levedura *Saccharomyces cerevisiae* BY4741, foram utilizadas diferentes formulações de meios de cultivo. Meio YPD líquido 2%: composto de 1% m/v de extrato de levedura, 2% m/v de peptona e 2% m/v de dextrose. Meio ágar YPD 2%: constituído pelos mesmos compostos do meio YPD 2% líquido, porém com a adição de 2% m/v de ágar.

3.3 PRÉ-CULTURA E CULTIVO PRINCIPAL PARA OBTENÇÃO DOS METABÓLITOS

A partir do estoque em areia, *Penicillium pedernalense* F4B1 foi cultivado em tubos inclinados contendo meio ágar Sabouraud dextrose por 7 dias a 25°C em incubadora estática sem incidência de luz para ativação do microrganismo. Deste cultivo foi preparada uma suspensão de conídeos em tween 80 0,01% (v/v) estéril com auxílio de alças estéreis e procedido à contagem em câmara de Neubauer. Para a pré-cultura, foi realizada a pipetagem do volume necessário para a concentração de 1×10^6 conídios/mL de meio em cada erlenmeyer de 125 ml (todos iguais com mesmo diâmetro e largura da boca) contendo 50 ml do meio. O volume foi calculado a partir do valor obtido na contagem na câmara de Neubauer. Os frascos foram incubados na câmara incubadora a 25°C com agitação de 150 rpm por 24 horas, sem incidência de luz. O cultivo principal foi

realizado em cinco erlenmeyers de 1L (todos iguais com mesmo diâmetro e largura da boca), contendo cada um 500 ml do meio. O meio de cultivo foi inoculado com 50 mL (10% do volume principal) da pré-cultura e incubado na câmara incubadora sem incidência de luz sob agitação de 150 rpm a 25°C por 10 dias.

3.4 PREPARO DAS AMOSTRAS PARA EXTRAÇÕES

A biomassa (pellets) de cada cultivo principal foi separada do sobrenadante por filtração à vácuo em papel de filtro quantitativo. O líquido foi guardado em frascos, congelado a -14 °C e liofilizado. Os pellets foram lavados com água destilada e congelados em frascos, a -14 °C e liofilizados.

3.5 EXTRAÇÃO DAS AMOSTRAS

Após a liofilização, os pellets e o meio líquido liofilizados foram pesados, diluídos de 1:20 com metanol e triturados separadamente, utilizando um ultraturrax em uma velocidade de 14.000 rpm, por um tempo estimado de 25 minutos. O material triturado foi mantido em recipiente lacrado por 7 dias em maceração, sendo agitado mecanicamente uma vez ao dia. Findados os 7 dias, as suspensões obtidas da biomassa e do meio líquido liofilizado, foram separadas por filtração em papel de filtro. Os filtrados contendo os extratos foram evaporados em um rotavapor até a secura para obtenção dos extratos secos.

O processo foi repetido com a parte sólida de cada extração, remanescente no papel de filtro, ou seja, cada fração sólida (proveniente da biomassa e do meio fermentado) foi ressuspensa com um novo volume de metanol e novamente mantida em um frasco lacrado pelo período de 7 dias com agitação diária. Esse processo foi repetido 3 vezes e os extratos obtidos de cada evaporação da biomassa e do meio líquido fermentado, foram armazenados em recipientes separados.

3.6 ANÁLISE DA CONCENTRAÇÃO CELULAR

O cultivo foi realizado de acordo com o item 3.5, em três erlenmeyers de 1L. Após o tempo de cultivo principal (10 dias), o volume total de cada erlenmeyer foi medido em proveta, seguindo-se a separação dos pellets por filtração em papel de filtro, previamente identificado, seco em estufa a 80°C por 24 horas e tarado. Após a filtração, o papel de filtro contendo o micélio foi colocado em estufa a 80°C por 24 horas e novamente pesado. A concentração celular foi calculada a partir do volume contido no frasco e a massa de células seca obtida na análise.

3.7 BIOSÍNTESE DAS NANOPARTÍCULAS DE PRATA (AGPNS)

As nanopartículas de prata (AgPNs) foram obtidas utilizando o micélio fúngico de *Penicillium pedernalense* e meio de cultura de cultivo como agente biorredutor. O extrato da biomassa fúngica (BF) e meio de cultura (MC) foram solubilizados, individualmente, com 1% de polissorbato 80 (tween 80, Sigma-Aldrich, MO, USA) e adicionado na concentração de 5% v/v em uma solução de AgNO₃ (1,0 mmol/L) sob constante agitação magnética (1000 RPM) em agitador magnético multiposições à temperatura ambiente (25 °C) e ao abrigo da luz por duas horas e trinta minutos. Após isso, a biossíntese da AgPNs com BF e MC foi confirmada em espectrofotômetro UV-Vis no modo varredura (185-500 nm). O branco foi consistido pelo extrato da BF e MC solubilizados separadamente, em 1% de polissorbato 80 com a adição de AgNO₃.

3.7.1 CARACTERIZAÇÃO DAS NANOPARTÍCULAS DE PRATA POR ESPALHAMENTO DINÂMICO DE LUZ (EDL)

Primeiramente as amostras foram filtradas em filtro de seringa de nylon (0,22 µm) e diluídas na proporção 1:10 em água deionizada. Após isso, as nanopartículas de prata foram caracterizadas quanto ao tamanho médio de partículas (nm), índice de polidispersão (IP) por espalhamento dinâmico de luz (EDL) e potencial zeta (mV) por espalhamento eletroforético de luz (EEL) em um equipamento *Zetasizer Advance PRO Blue*. A análise foi realizada na cubeta de

vidro com 173° de ângulo dispersão da luz e 90° de ângulo para medir o potencial zeta. Todas as análises foram realizadas em triplicata.

3.8 ENSAIOS ANTIBACTERIANOS

Os métodos empregados nos testes seguiram a metodologia de Bauer *et al.*, (1966), padrão para ensaios antimicrobianos em difusão em ágar. As cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 e *Escherichia coli* ATCC 25922 foram cultivadas por 24 h em ágar PCA. Em seguida, uma alçada foi utilizada para preparar uma suspensão de células na concentração de 2×10^6 UFC/mL, determinada por meio de curva padrão (curva de densidade óptica versus x Unidade Formadora de Colônia por mL (UFC/mL), a 600 nm, em um espectrofotômetro (UV/Vis).

Foram inoculados 100 µL da suspensão ajustada de maneira confluenta em três direções, em placas de ágar Mueller-Hinton, com o auxílio de alça de Drigalski.

As placas de ágar Mueller-Hinton (25 mL por placa) foram perfuradas em orifícios de 0,75 cm de diâmetro com o auxílio de furador estéril. Em cada poço, foram inoculados 50 µL do extrato bruto. Para controle foram utilizados discos do antibiótico ampicilina, para *Staphylococcus aureus*, e gentamicina para *Escherichia coli*.

As placas foram incubadas a 36°C por 24 horas. Após o período de incubação, os diâmetros das zonas claras ao redor dos poços, conhecidas como halos de inibição, foram medidos com o auxílio de uma régua.

3.9 DETERMINAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO MÍNIMA INIBITÓRIA PARA ANÁLISE CITOTÓXICA DO EXTRATO BRUTO

A determinação da concentração mínima inibitória (CMI) do extrato fúngico proveniente do meio de cultivo, foi realizada por meio do método de microdiluição em placas. Para o ensaio, utilizaram-se placas de 96 poços, de fundo chato e com tampa. Inicialmente, foram adicionados 100 µL do meio de cultivo YPD em cada cavidade. Em seguida, 100 µL da solução do extrato fúngico foram transferidos para os poços da primeira coluna, estabelecendo

uma concentração inicial de 800 mM. A partir dessa concentração, foram realizadas diluições seriadas em duplicata, transferindo-se 100 µL de um poço para o poço adjacente, até completar a série de diluições.

Posteriormente, adicionou-se 100 µL da suspensão celular da levedura *Saccharomyces cerevisiae* (linhagem BY4741) a cada poço, com a densidade óptica ajustada para 540 nm (DO_{540}), utilizando um espectrofotômetro.

Como controle negativo, utilizou-se a levedura cultivada em meio de cultura isenta de extrato fúngico. O controle positivo consistiu no meio de cultura sem a presença de inóculo, a fim de verificar a ausência de contaminações e crescimento espontâneo.

Após 24 horas de incubação, a viabilidade celular foi avaliada por meio do ensaio de atividade metabólica com resazurina, um indicador redox que permite inferir a presença de células metabolicamente ativas. Para isso, foram adicionados 10 µL de uma solução aquosa de resazurina a 0,01% (m/v) em cada poço. Após 30 minutos de incubação, as amostras foram inspecionadas visualmente. A presença de coloração rosa indicou viabilidade celular, enquanto a persistência da coloração violeta foi interpretada como ausência de metabolismo, sugerindo efeito inibitório do extrato (GULERIAA *et al.*, 2022).

3.10 ENSAIOS ANTIOXIDANTES

Um inóculo em meio YPD líquido foi preparado utilizando uma alçada de células da levedura *Saccharomyces cerevisiae* BY4741 de transferência recente. O inóculo foi incubado a 28 °C por 22 horas, a 120 rpm em incubadora tipo shaker. Após o crescimento celular, a concentração em $mg.mL^{-1}$ foi determinada de forma indireta pela absorção em espectrofotômetro a 540 nm.

Para avaliar a atividade antioxidante de diferentes concentrações dos extratos de *Penicillium pedernalense* F4B1, o inóculo foi dividido em quatro tratamentos, contendo 20 mg de células previamente lavadas cada, incubados por 1 hora nas seguintes condições:

1. Células tratadas com extrato de biomassa a 0,25%;
2. Células tratadas com extrato de biomassa a 0,50%;
3. Células tratadas com extrato do meio de cultivo a 0,25%;
4. Células tratadas com extrato do meio de cultivo a 0,50%

Após o período de incubação, as células foram expostas ao peróxido de hidrogênio (H₂O₂) 2 mM por 1 hora. Um controle negativo de estresse, com células mantidas em tampão fosfato pH 6, e um controle positivo de estresse, com células em tampão e submetidas ao estresse com H₂O₂ 2 mM, foram preparadas para fins de comparação.

Para avaliação da atividade, alíquotas das suspensões celulares correspondentes a 40 µg de células foram retiradas, diluídas sucessivamente (1000X) e plaqueadas em ágar YPD 2%. Inicialmente, para determinar a faixa de concentração com atividade antioxidante, foi utilizado o método qualitativo de plaqueamento *spot*, no qual as alíquotas de 3 µL de cada diluição (10⁻¹, 10⁻², 10⁻³, 10⁻⁴) foram plaqueadas. A densidade das colônias dos controles positivo e negativo foram comparadas visualmente com os tratamentos.

Uma vez determinadas as concentrações de extrato com atividade, a viabilidade celular foi determinada pelo plaqueamento por espalhamento, onde 100 µL da diluição 10⁻⁴ foi semeado, em duplicata em ágar YPD 2% e espalhado com alça *drigalski*. As placas foram incubadas por 72 horas a 28 °C. As colônias crescidas foram contadas e comparadas com os controles positivo e negativo.

3.11 ANÁLISE ESTATÍSTICA

A análise quantitativa dos dados foi realizada por meio da avaliação das médias acompanhadas do respectivo desvio padrão (Média ± DP). Para a comparação estatística entre os grupos, utilizou-se o teste de variância unidirecional (one-way ANOVA) por meio do software GraphPad Prism 10. O nível de significância adotado foi de $p < 0,05$, sendo considerado estatisticamente significativo. Todos os experimentos foram conduzidos com, no mínimo, três repetições biológicas independentes, garantindo a reprodutibilidade e a robustez dos resultados obtidos.

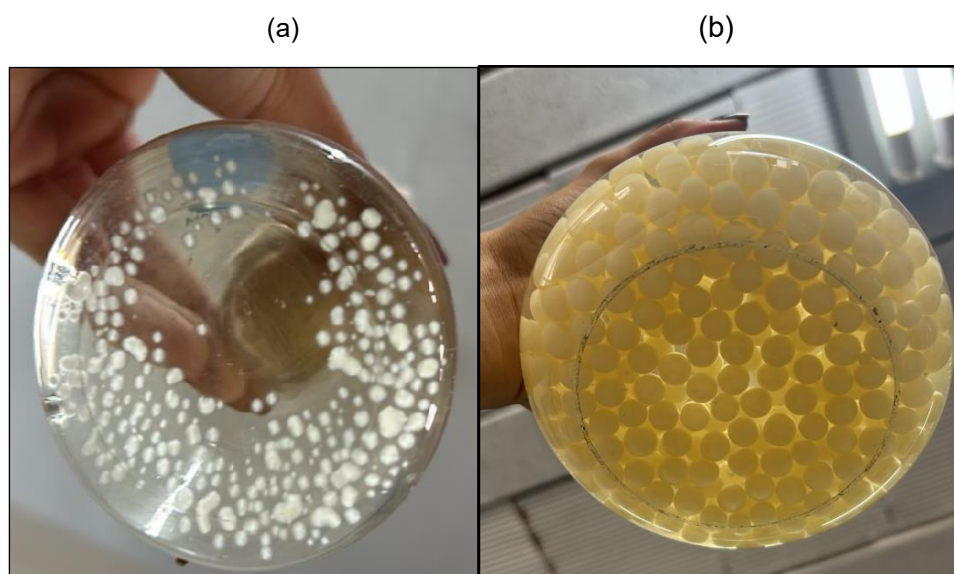
4. RESULTADOS

4.1 OBTENÇÃO DOS EXTRATOS BIOATIVOS

4.1.1 PRÉ-CULTURA E CULTIVO PRINCIPAL PARA OBTENÇÃO DOS METABÓLITOS

A pré-cultura em meio R, após 24 h, apresentou pellets com coloração branco marfim, de forma esférica (Figura 5a). O cultivo principal, após 10 dias apresentou pellets maiores, com diâmetro entre 5 e 10 mm, com a mesma coloração e forma da pré-cultura (Figura 5b). Após o crescimento, o meio de cultivo apresentou pH 4,0 e coloração amarelo-ouro. A concentração celular final foi de $4,63 \pm 0,365$ g/L.

Os pellets obtidos no meio P, composto por menos nutrientes, após 10 dias, apresentaram um diâmetro de 0,5 mm, coloração branco-marfim, formato esférico e textura *fluffy* (Figura 5d). O meio de cultivo manteve uma coloração esbranquiçada até o final do experimento. Entretanto, o pH do meio, e a concentração celular, não foram verificados. Os pellets obtidos no meio P não foram utilizados no restante do estudo, apenas os pellets formados no meio R.



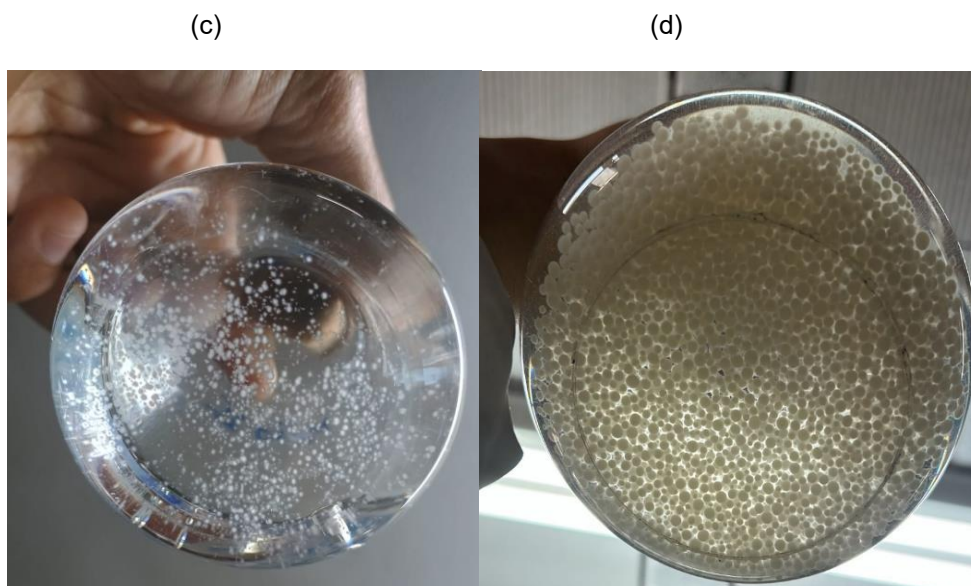


Figura 5: Pellets de *Penicillium pedernalense* F4B1. Meio de cultura R: **(a)** pré-cultura 24 h; **(b)** cultivo principal após 10 dias. Meio de cultura P: **(c)** pré-cultura de 24 h; **(d)** cultivo principal após 10 dias.

4.1.2 EXTRAÇÃO DOS COMPOSTOS

Após a liofilização, os pellets apresentaram uma textura rígida e formatos irregulares (Figura 6). Através da Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) do pellet liofilizado, foi possível visualizar a compactação das hifas e sua estrutura (Figura 7).



Figura 6: Pellet Liofilizado com formatos irregulares.

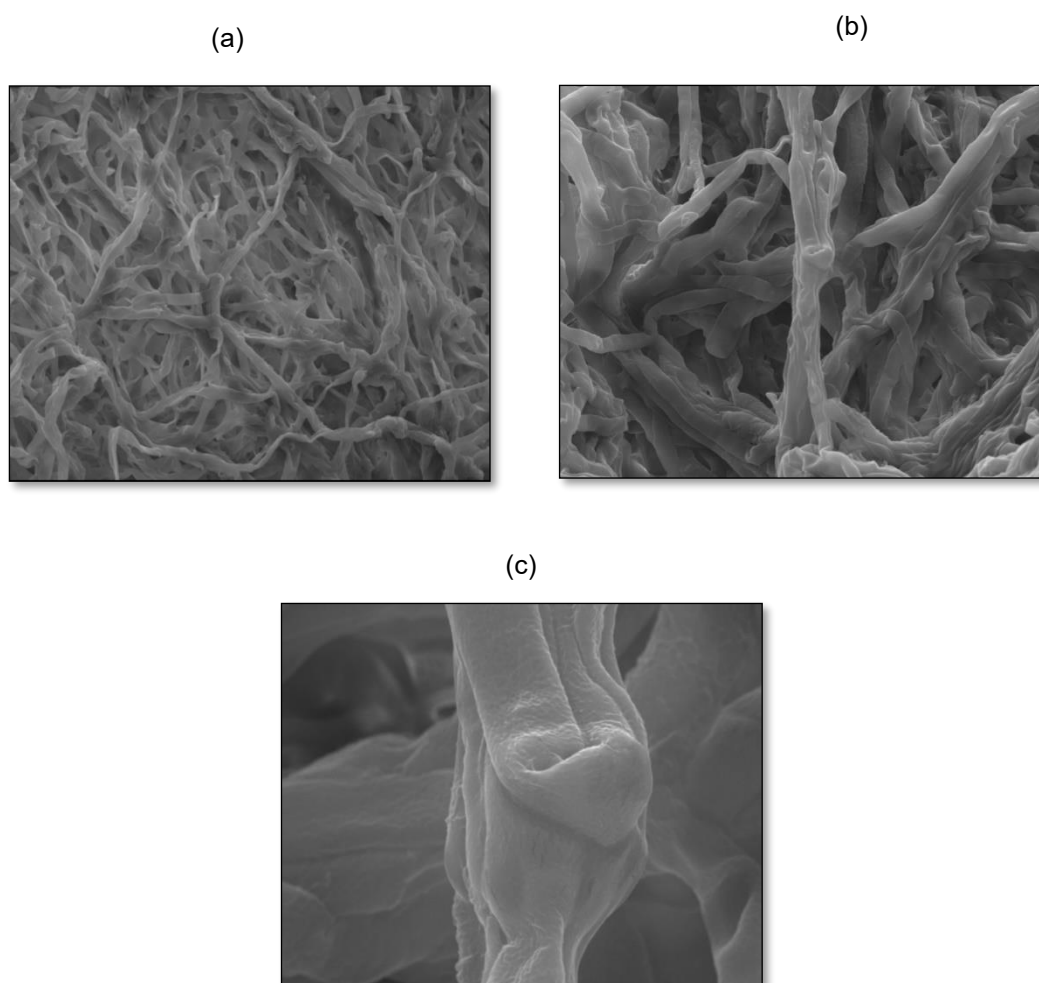


Figura 7: Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV), do pellet liofilizado **(a)** aumento de mil vezes; **(b)** aumento de duas mil vezes; **(c)** aumento de dez mil vezes.

Quando foram triturados e homogeneizados no ultra-turrax com adição de metanol, formaram uma suspensão densa, de cor branca e bastante concentrada. A massa de extrato obtida após a evaporação do solvente está apresentada na Tabela 3.

O meio líquido liofilizado apresentou aspecto esfarelado e, ao ser retirado do recipiente onde foi liofilizado, formou um pó amarelado. Quando mantidos fora da refrigeração por um período, o pó se liquefaz. Após trituração e homogeneização com metanol no ultra-turrax, formou-se uma suspensão líquida homogênea, que após evaporação do solvente em rotavapor, resultou em um extrato com características de uma pasta de consistência oleosa. A massa do

extrato seco obtido após a evaporação em rotavapor está apresentada Tabela 3.

Tabela 3: Massa dos liofilizados e dos extratos obtidos da biomassa e do meio de cultivo.

Massa obtida		
	Biomassa	Meio
Liofilizado	175 g	36 g
Extrato Mole	18 g	7,9 g

4.2 ENSAIOS ATIVIDADE ANTIOXIDADE E CITOTOXIDADE

Os resultados obtidos na determinação da concentração mínima inibitória (CMI) para avaliação da citotoxicidade do extrato fúngico, obtido a partir do meio de cultivo, não indicaram efeito inibitório significativo sobre a levedura *Saccharomyces cerevisiae*, linhagem selvagem BY4741. Observou-se crescimento celular compatível com o controle positivo, o qual não recebeu adição do extrato fúngico, sugerindo que, nas concentrações testadas, o extrato não apresentou toxicidade detectável frente ao modelo eucariótico utilizado.

A levedura *S. cerevisiae* BY4741 foi utilizada como modelo biológico para avaliar a capacidade dos extratos em combater o estresse oxidativo gerado pelo peróxido de hidrogénio (H_2O_2) (2mM), tanto por método qualitativo quanto quantitativo, comparando-se densidade de *spots* ou das unidades formadoras de colônias (UFCs), respectivamente, com controles positivo e negativo de estresse oxidativo (Figura 8).

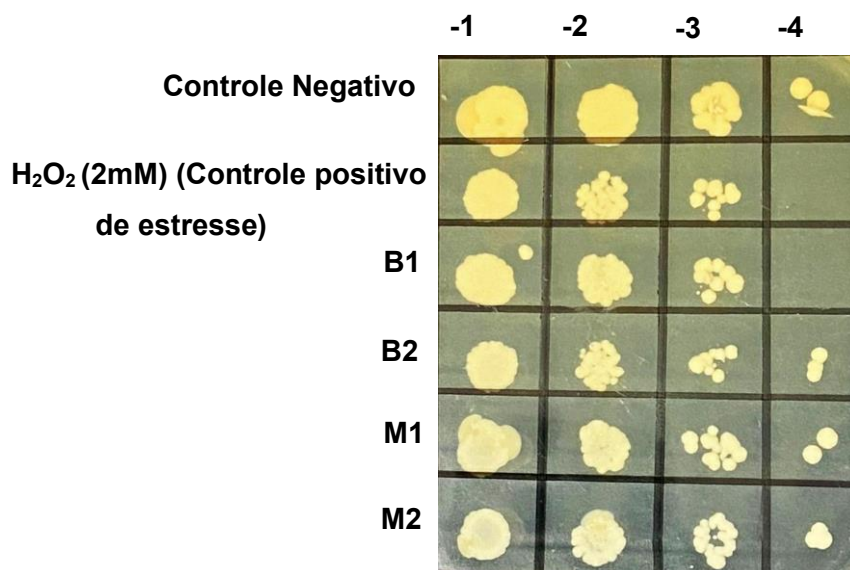


Figura 8: Spot com as células viáveis da levedura *Saccharomyces cerevisiae* BY4741, sob o efeito protetor dos extratos, juntamente com o agente oxidativo H₂O₂ (2mM). Tendo o controle negativo sem a presença de estresse oxidativo, e o H₂O₂ (2mM) como controle positivo de estresse oxidativo.

O teste quantitativo de atividade antioxidante, baseou-se na contagem de células viáveis após o plaqueamento, realizado após o tratamento com o agente oxidante H₂O₂ 2 mM em conjunto com os extratos, visando avaliar a ação protetora contra o estresse oxidativo. Para possibilitar a contagem das células viáveis, a única diluição inoculada nas placas foi a 1×10^{-4} para melhor visualização e contagem das células (Figura 9; Figura 10).

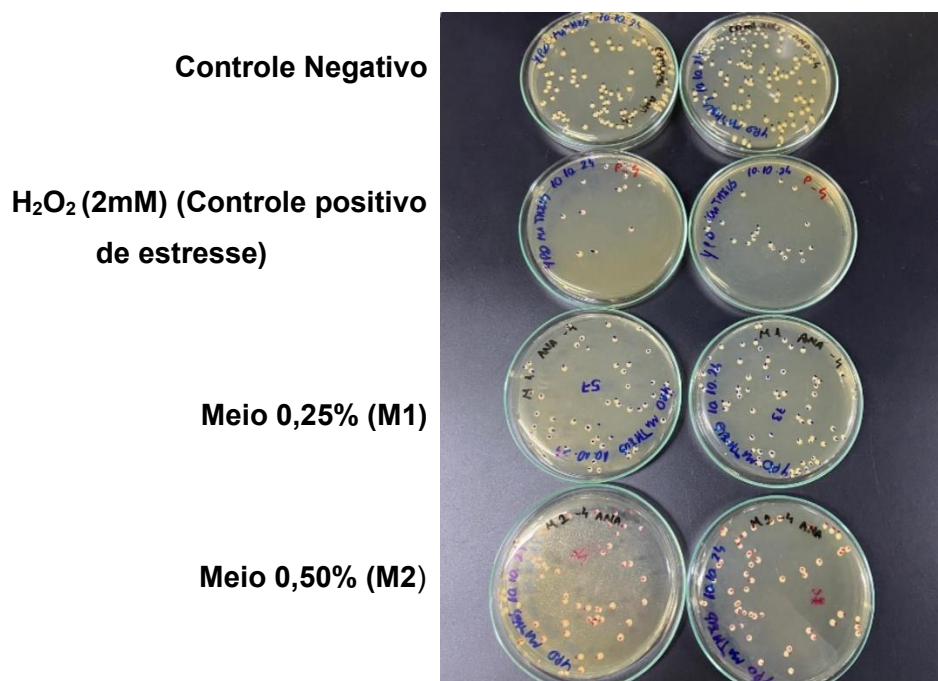


Figura 9: Placas do ensaio antioxidante para contagem da viabilidade celular, inoculada com a diluição 10^{-4} contendo o extrato do meio, na concentração 0,25% e 0,50%, e o H_2O_2 (2mM) como controle positivo de estresse oxidativo, e controle negativo sem a presença de estresse oxidativo.

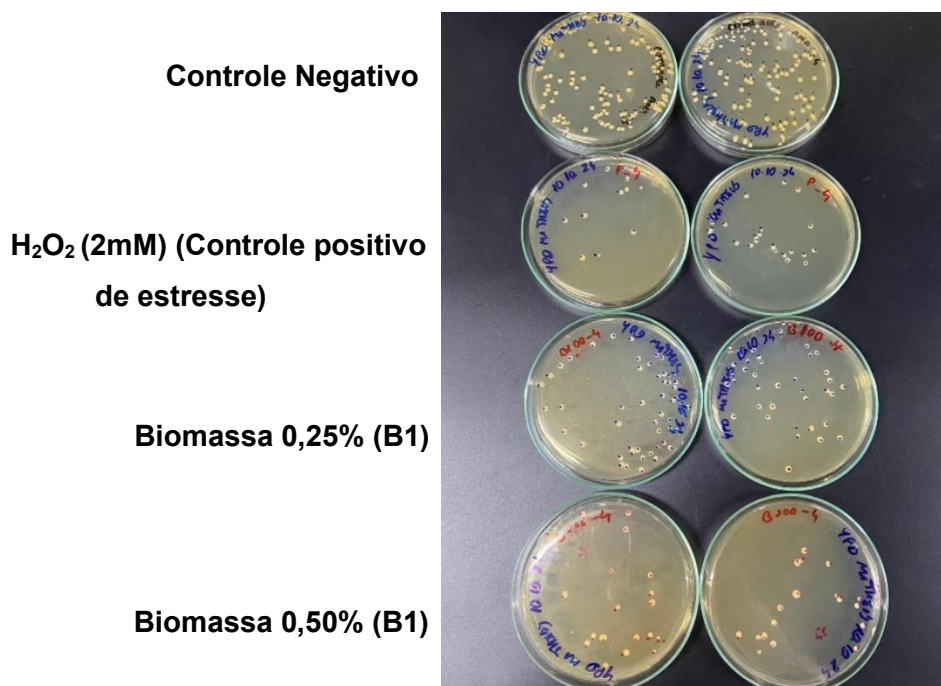


Figura 10: Placas do ensaio antioxidante para contagem da viabilidade celular, inoculada com a diluição 10^{-4} contendo o extrato da biomassa, na concentração 0,25% e 0,50%, e o H_2O_2 (2mM) como controle positivo de estresse oxidativo, e controle negativo sem a presença de estresse oxidativo.

Os resultados da contagem celular apresentados na Figura 9 indicaram que o extrato do meio de cultivo, nas concentrações de 0,25% e 0,50%, demonstraram uma ação antioxidante promissora na proteção celular frente ao estresse oxidativo induzido pelo H_2O_2 (2 mM). Por outro lado, os resultados da contagem celular mostrados na Figura 10, referentes ao extrato da biomassa nas concentrações de 0,25% e 0,50%, não evidenciaram atividade antioxidante. Essas concentrações foram analisadas no ensaio quantitativo. Após a realização da contagem, foram obtidos os resultados quantitativos referentes às médias e seus respectivos desvios padrão, conforme apresentados na Tabela 4.

Tabela 4: Resultados das contagens. B1: Extrato da biomassa 25%; B2: Extrato da biomassa 50%; M1: Extrato do meio de cultivo 25%; M2: Extrato do meio de cultivo 50%.

Controle Negativo	H ₂ O ₂ 2 mM (Controle positivo de estresse)	B1 0,25%	B2 0,50%	M1 0,25%	M2 0,50%
112,167 ± 12,469 UFC	28,167 ± 9,412 UFC	29,664 ± 13,771 UFC	28,688 ± 3,966 UFC	91,250 ± 18,626 UFC	70,591 ± 21,669 UFC

A Figura 11 apresenta a análise estatística realizada após a contagem das UFC na diluição de 1×10^{-4} , considerando seis ensaios antioxidantes independentes. Os resultados indicam que o controle positivo (H₂O₂) não apresentou diferença estatisticamente significativa em relação aos extratos obtidos a partir da biomassa ($p > 0,05$). Esse achado sugere que esses extratos não exerceram efeito antioxidante relevante sob as condições experimentais analisadas.

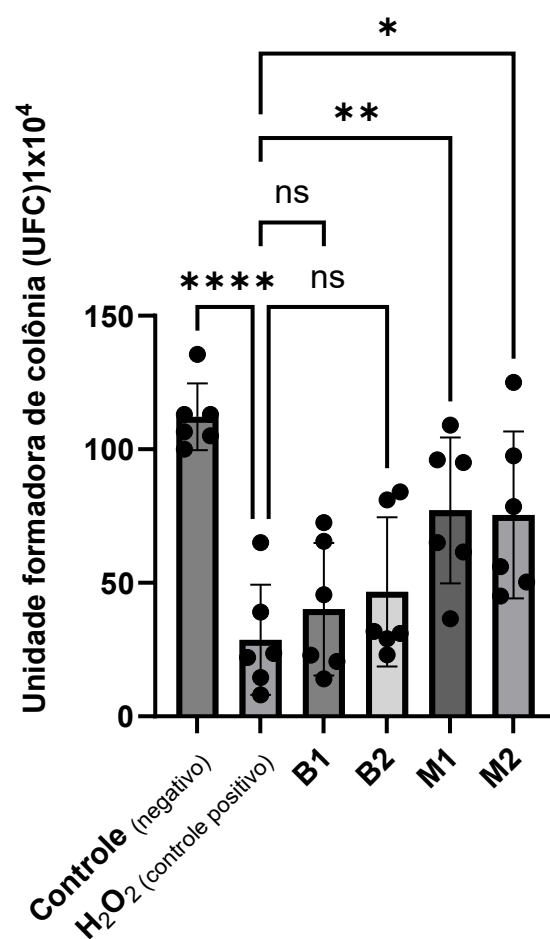


Figura 11: Contagem do número de células viáveis após o estresse com agente oxidante H_2O_2 (2mM). $p < 0,05$ (*), $p < 0,01$ (**), $p < 0,001$ (****) mostram a diferença estatística. Os pontos são o indicativo da quantidade de ensaios realizados. B1: Extrato da biomassa 25%; B2: Extrato da biomassa 50%; M1: Extrato do meio de cultivo 25%; M2: Extrato do meio de cultivo 50%.

4.3 FORMAÇÃO DA NANOPARTÍCULA DE PRATA (AGPNS)

Nanopartículas de prata (AgPNs) podem ser sintetizadas a partir de diversas formas, dentre elas, utilizando biossíntese a partir de matrizes biológicas como agente redutor. A redução de Ag^+ para Ag^0 leva à nucleação e eventual formação de AgPNs. A utilização dessa abordagem é ecologicamente favorável, uma vez que não utiliza reagentes químicos tóxicos. Nos últimos anos, diversos estudos têm utilizado derivados de fungo, como o micélio, para a síntese de nanopartículas de prata (NAVEEN *et al.*, 2021).

O estudo atual fez uso de micélio de *P. pedernalense* e do meio de cultura fermentado, como uma contribuição na procura de novos agentes biorredutores para formação de nanopartículas de prata. Usualmente, o acompanhamento reacional ocorre por via de metodologia espectrofotométrica UV-vis, apresentando banda de absorção característica de ressonância plasmônica de superficial (RPS) de nanopartículas de prata, geralmente, na região de comprimento de onda em torno de 420 nm. Este efeito RPS é associado à oscilação coletiva dos elétrons livres na superfície da prata quando estimulado por uma fonte luminosa.

Em relação ao presente estudo, foi possível observar que a solução de prata tratada com o extrato do micélio de *P. pedernalense* apresentou absorção na faixa de 420 nm, sugerindo a formação de nanopartículas de prata após 1h de reação, sem diferença aparente em relação ao tempo final estipulado (2h30). O branco, solução de extrato de micélio de *P. pedernalense* (5% v/v) com 1% de polisorbato 80, não apresentou absorção entre 375 e 450 nm (Figura 12A). O tratamento da solução de prata com o extrato do meio de cultura (Figura 12B) não apresentou absorção relevante na faixa observada.

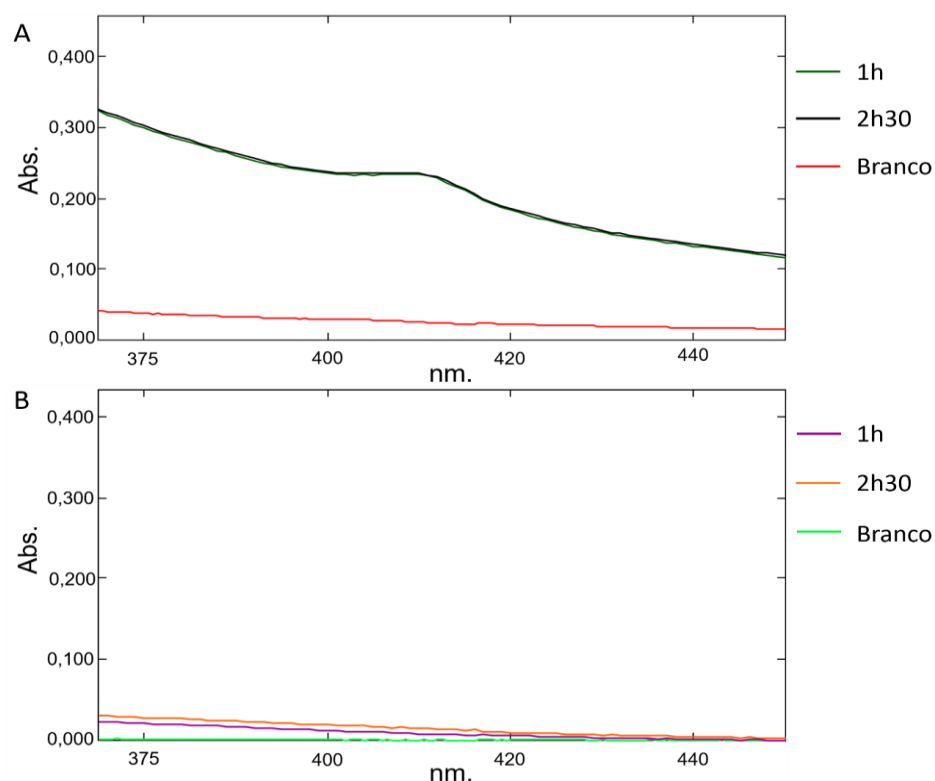


Figura 12: Espectro de absorção UV-Vis da solução de prata tratada com extrato do micélio fúngico de *Penicillium pedernalense* mostrando síntese da nanopartícula de prata pela absorção em torno de 420 nm (A); Espectro de absorção UV-Vis da solução de prata tratada com o extrato do meio após cultivo, sem absorção em torno de 420 nm (B). Tempo total de reação para ambas: 2h30.

A caracterização por espalhamento dinâmico da luz (EDL) das nanopartículas de prata reduzidas pelo micélio de *P. pedernalense* F4B1 permitiu observar um comportamento coloidal bimodal (Figura 13A), com duas populações de partículas com valor médio de $26,37 \pm 0,668$ nm e índice de polidispersão de $0,46 \pm 0,017$. Entretanto, a primeira população de partículas apresenta $12,8 \pm 0,180$ nm de tamanho médio, sendo característico de solução micelares. Desta forma, um branco (5% extrato e 1% polisorbato 80) sem as nanopartículas de prata foi analisado, permitindo observar comportamento similar (Figura 13B) e corroborando com a hipótese supracitada. Portanto, pode-se sugerir que as nanopartículas de pratas geradas no sistema coloidal observado possuem tamanho médio de $74,09 \pm 1,61$ nm (Tabela 5).

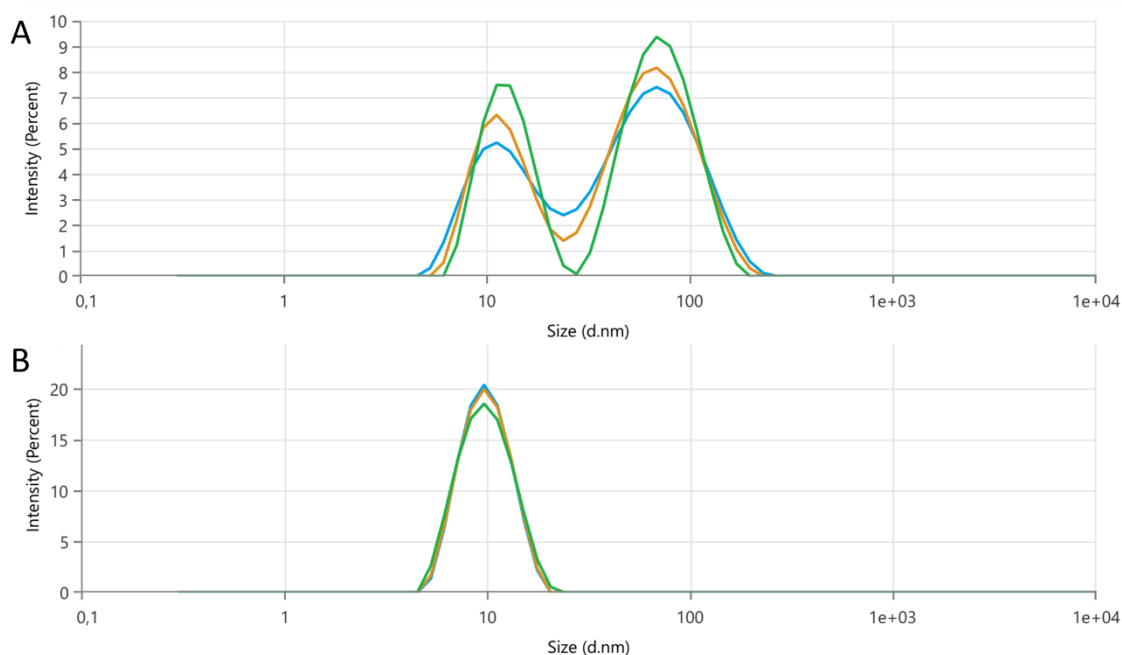


Figura 13: Gráfico de dispersão de tamanho por intensidade das nanopartículas de prata reduzidas com micélio fúngico de *Penicillium pedernalense* F4B1(A) e respectivo branco (B), analisados por espalhamento dinâmico da luz (EDL).

O potencial zeta (mV) encontrado ($-20,71 \pm 0,732$) sugere que as nanopartículas de prata estão carregadas negativamente, e desta forma, susceptíveis a fenômenos de estabilização por mecanismos eletrorepulsivos (e.g. repulsão coulombiana).

Tabela 5: Valores médios de tamanho de partícula (nm), índice de polidispersão, potencial zeta (mV) e condutividade da nanopartícula de prata.

Nanopartícula de prata	
Diâmetro médio (nm)	$26,37 \pm 0,668$
Índice de polidispersão	$0,46 \pm 0,017$
Potencial zeta (mV)	$-20,71 \pm 0,732$
Condutividade	0,715
Pico 1(nm)	$12,8 \pm 0,180$
Pico 2 (nm)	$74,09 \pm 1,61$

4.4 ENSAIO ANTIMICROBIANO

Os extratos brutos e as AgPNs, foram avaliados quanto à atividade antimicrobiana por meio de ensaios com diferentes bactérias (*Staphylococcus aureus* ATCC 25923 e *Escherichia coli* ATCC 25922). A determinação da eficácia antimicrobiana baseou-se no tamanho do halo de inibição para a classificação de sensibilidade dos microrganismos ao extrato e as AgPNs, em comparação com o antimicrobiano utilizado como controle.

Os ensaios foram conduzidos de acordo com a Metodologia dos testes de sensibilidade a agentes antimicrobianos por diluição para bactéria de crescimento aeróbico: Norma aprovada - Sexta Edição (Segundo o CLSI 2012). A Tabela 6, apresenta os critérios de sensibilidade e resistência para cada bactéria testada, considerando a resposta ao antimicrobiano controle, os extratos e as AgPNs.

Tabela 6: Diâmetro do halo de inibição formado nos testes antimicrobianos.

Diâmetro do halo de inibição (mm)					
	Ampicilina (Controle)	Gentamicina (Controle)	AgPNs	Extrato do Meio	Extrato da Biomassa
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	34,67 ± 0,58	-	31 ± 1,0	0	0
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	-	20,67±1,15	0	0	0

Sensível: ≥ 29 mm; Resistente: ≤ 28 mm; *Escherichia coli* ATCC 25922

Sensível: ≥ 15 mm; Resistente: ≤ 10 mm; *Escherichia coli* ATCC 25922. Parâmetros estabelecidos pela Metodologia dos Testes de Sensibilidade a Agentes Antimicrobianos por Diluição para Bactéria de Crescimento Aeróbico: Norma Aprovada - Sexta Edição.

Os extratos brutos do meio de cultivo e da biomassa não apresentaram formação de halo de inibição frente as bactérias testadas (Figura 14b e Figura 15b), o que indica a ausência de atividade antimicrobiana.

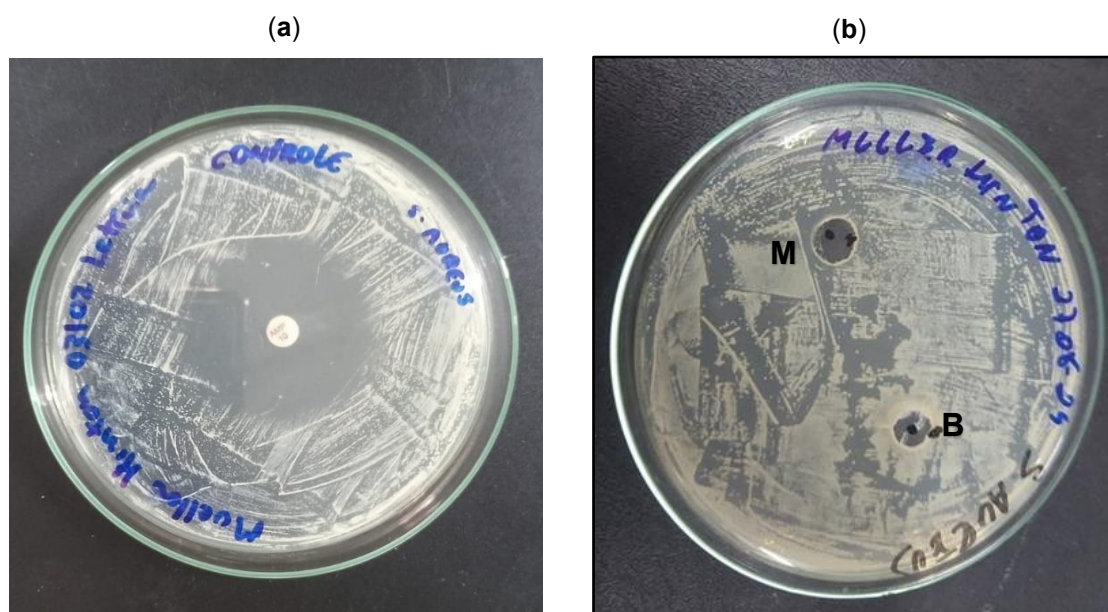


Figura 14: Ensaio antimicrobiano com a bactéria *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. **(a)** Halo de inibição formado com antimicrobiano Ampicilina (Controle) mostrando sensibilidade ao mesmo. **(b)** Placa do ensaio antimicrobiano com a bactéria *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. Poços com extratos do meio (M) e da biomassa (B), sem formação de halo de inibição, caracterizando ausência de atividade contra a bactéria.

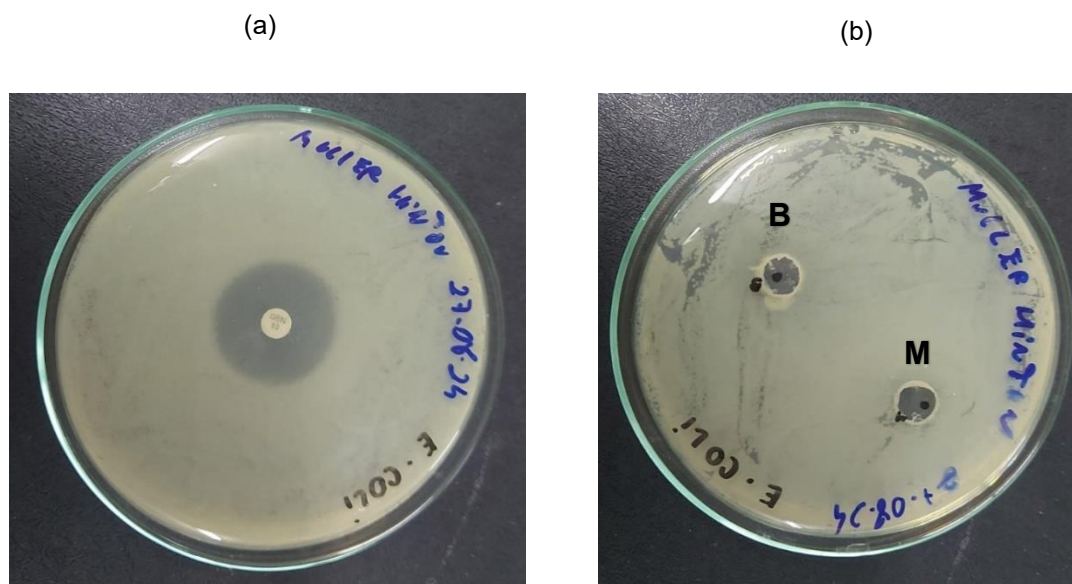


Figura 15: Ensaio antimicrobiano com a bactéria *Escherichia coli* ATCC 25922. **(a)** Halo de inibição formado, demonstrando sensibilidade da bactéria ao antimicrobiano Gentamicina (Controle). **(b)** Poços com extratos do meio (M) e da biomassa (B), sem formação de halo de inibição, caracterizando ausência de atividade contra a bactéria.

(a)

(b)

Já na Figura 17a, observa-se uma formação sutil de halo de inibição associada à ação das AgNPs frente à bactéria *Escherichia coli* ATCC 25922. Embora o halo de inibição não tenha apresentado um diâmetro expressivo, sua presença indica uma possível atividade bacteriostática das AgNPs sobre esta cepa Gram-negativa. Esse achado levanta a hipótese de que, as nanopartículas

possam interferir na multiplicação celular da bactéria, sem necessariamente causar sua lise imediata.

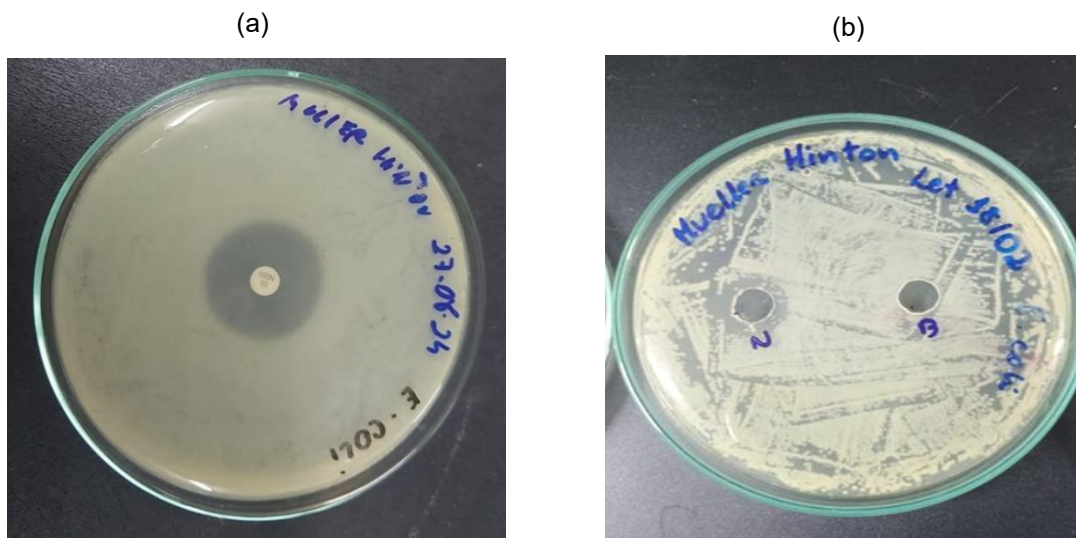


Figura 17: Ensaio antimicrobiano com a bactéria *Escherichia coli* ATCC 25922. **(a)** Halo de inibição formado pela sensibilidade da bactéria *Escherichia coli* ATCC 25922 ao antimicrobiano Gentamicina (Controle). **(b)** Placa do ensaio antimicrobiano com a bactéria *Escherichia coli* ATCC 25922, contendo o poço com a nanopartícula da biomassa (N), e o branco (B) que é uma mistura do sal de prata com o meio de cultivo estéril. A formação sutil do halo de inibição promovido pela nanopartícula, levanta a hipótese de uma possível atividade bacteriostática sobre a bactéria *Escherichia coli* ATCC 25922.

Na Figura 18, observa-se análise estatística da atividade antimicrobiana das AgNPs frente a bactéria *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. A igualdade estatística significativa entre o controle e as amostras testadas foi determinada por one-way ANOVA, e o nível de significância estatística é representado por asteriscos: $p > 0,05$ (*), $p > 0,01$ (**), $p > 0,001$ (****). Podemos concluir que a atividade antimicrobiana das AgNPs, com $p > 0,001$ de confiança, é significativamente igual à atividade do controle positivo (ampicilina, 10 μg).m

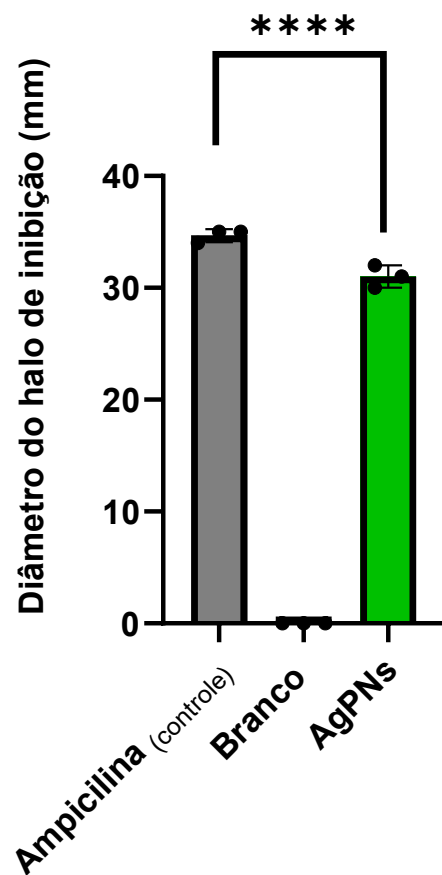


Figura 18 : Análise estatística dos ensaios antimicrobianos com as AgPNs frente a bactéria *S. aureus* ATCC 25923. Os asteriscos são representados por: $p > 0,05$ (*), $p > 0,01$ (**), $p > 0,001$ (****) indicando a igualdade significativa entre o controle Ampicilina e as AgPNs testadas. Os pontos são o indicativo da quantidade de ensaios realizados. O branco é a mistura do polissorbato 80 com a solução de nitrato de prata.

5. DISCUSSÃO

O gênero *Penicillium* é um dos grupos fúngicos de maior prevalência no reino Fungi, englobando uma diversidade de organismos com significativo impacto na vida humana. Algumas espécies deste gênero são notáveis pela produção da penicilina, um antibiótico que revolucionou a medicina e desempenhou um papel crucial na redução da mortalidade por infecções bacterianas (JAHAN *et al.*, 2024).

A biodiversidade das espécies pertencentes ao gênero *Penicillium* desempenha um papel fundamental na ampliação de suas aplicações biotecnológicas em diversas áreas. Cada espécie apresenta características metabólicas únicas que podem ser exploradas para diferentes finalidades industriais, farmacêuticas e ambientais (ALHOMAIDI, 2025). Pode ser dito que a nova espécie do gênero *Penicillium pedernalense* identificada por Laich *et al.* (2016) tem potencial para formar novas substâncias bioativas.

Laich *et al.* (2016) caracterizaram morfológicamente a espécie utilizando diferentes meios de cultivos, e a morfologia descrita condiz com a observada no presente trabalho. Observaram que o microrganismo não cresce em temperaturas abaixo de 4 °C. No presente trabalho foi realizado um cultivo em meio solidificado na referida temperatura, foi observado que houve um crescimento inicial, mas não ocorreu esporulação.

Macroscopicamente, em meio solidificado ágar sabouraud, *Penicillium pedernalense* F4B1 apresentou um micélio denso, com textura aveludada e coloração verde opaca, características semelhantes às descritas por Laich *et al.* (2016). No cultivo em meio líquido agitado, observou-se a formação de pellets, estruturas esféricas compactas resultantes da agregação das hifas (BERNAL *et al.*, 2020).

O diâmetro dos pellets de *Penicillium pedernalense* F4B1 cultivados no meio R, que continha sacarose, peptona e extrato de levedura, variou entre 5 e 10 mm. Em contraste, no meio P, que não continha peptona nem extrato de levedura, os pellets apresentaram um diâmetro significativamente menor, variando entre 0,5 e 1 mm.

Um estudo realizado por Zhang *et al.* (2023) demonstrou que tanto a peptona quanto o extrato de levedura influenciam diretamente o diâmetro dos pellets fúngicos, sendo que o extrato de levedura exerce um impacto ainda mais significativo. No entanto, quando utilizado como única fonte de nitrogênio, o extrato de levedura resultou em um micélio com distribuição de densidade desigual. Além disso, sua ausência no meio de cultivo levou à formação de pellets de menor diâmetro.

Borges Teixeira *et al.*, 2023, também investigaram o efeito da composição do meio de cultivo na formação de pellets fúngicos em cultivo submerso. Os autores utilizaram dois meios distintos, sendo que o meio mais rico em nutrientes, contendo extrato de levedura, peptona e sacarose, resultou em pellets com maior diâmetro. No segundo meio, sem a adição de extrato de levedura e peptona, os pellets formados apresentaram diâmetro reduzido. Esses resultados corroboram os achados de Zhang *et al.* (2023), que demonstraram a influência significativa desses componentes na morfologia dos pellets fúngicos.

Os dados obtidos no presente estudo estão alinhados com essas observações, uma vez que a ausência do extrato de levedura e peptona no meio de cultivo resultou na formação de pellets de *P. pedernalense* F4B1 com diâmetros menores. No entanto, até o momento, não há registros na literatura de estudos específicos que avaliem a formação de pellets dessa espécie em meio com a mesma composição utilizada neste trabalho, o que destaca a relevância desta pesquisa para a compreensão da morfologia e crescimento desse fungo em diferentes condições nutricionais.

Da mesma forma que o tamanho dos pellets pode mudar com a composição do meio, outros pontos no metabolismo do fungo podem ser alterados. É provável que metabólitos diferentes sejam formados em meios de composição distintas. A hipótese levantada, era que o meio mais rico (meio R) tem o maior potencial de formar compostos mais complexos. Assim, os extratos brutos obtidos de *Penicillium pedernalense* F4B1 provenientes do meio de cultivo e da biomassa cultivados em meio R, foram submetidos a ensaios biológicos de atividade antimicrobiana, formação de nanopartículas de prata e ensaios antioxidantes.

5.1 BIOSÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DAS AGNPS PRODUZIDAS DE *PENICILLIUM PEDERLANSENSE* F4B1

A utilização de fungos filamentosos na biossíntese de nanopartículas tem ganhado destaque devido à sua habilidade de secretar grandes quantidades de metabólitos ativos, que são essenciais tanto para a redução dos íons metálicos quanto para a estabilização das nanopartículas formadas (ALVES *et al.*, 2022). Neste estudo, extratos do fungo *Penicillium pedernalense* F4B1 foram utilizados como agentes biorredutores para a obtenção de nanopartículas de prata (AgNPs).

A literatura descreve que a biossíntese de AgNPs mediada por fungos pode ocorrer por vias intracelulares, no interior das células fúngicas (biomassa), ou por vias extracelulares, a partir de metabólitos liberados no sobrenadante (meio de cultivo) (GÜRSOY, 2020). A abordagem extracelular é amplamente adotada devido à facilidade de manipulação e recuperação das nanopartículas, sendo possível adicionar o nitrato de prata diretamente no meio de cultivo contendo o fungo em crescimento ou utilizar o sobrenadante obtido após o crescimento fúngico para conduzir o processo de síntese (SANTOS *et al.*, 2021).

Diversos estudos vêm demonstrando o potencial de fungos do gênero *Aspergillus* e *Penicillium* na biossíntese de nanopartículas de prata (AgNPs) por meio da utilização do sobrenadante fúngico. GURSOY, 2020 relatou a produção de AgNPs utilizando o sobrenadante de *Aspergillus niger*, enquanto Chumkiew *et al.*, 2020) empregaram o filtrado do cultivo de *Aspergillus spp.* e *Penicillium spp.* para o mesmo fim. Noman *et al.* (2022) destacaram o uso do sobrenadante de *Penicillium pedernalense* na síntese de nanopartículas, sendo, até o momento, o único estudo encontrado na literatura que emprega essa espécie específica.

No trabalho conduzido por Noman *et al.* (2022), a linhagem de *P. pedernalense* foi isolada a partir de solo turfoso da Malásia e cultivada em meio mineral básico esterilizado suplementado com 10 g de cascas de abóbora, sendo incubada a 28 °C por 10 dias. Diferentemente dessa abordagem, o presente estudo utilizou o extrato fúngico obtido a partir da biomassa (pellets) de *Penicillium pedernalense* F4B1, conforme descrito na metodologia (item 3.7), para promover a biossíntese de AgNPs. Extratos fúngicos oriundos da biomassa

são amplamente reconhecidos por sua riqueza em compostos bioativos e grupos funcionais como hidroxilas, ácidos carboxílicos e amidas que contribuem para a redução e estabilização de nanopartículas (KAUR; SINGH; KUMAR, 2024).

Os testes realizados com o meio de cultivo demonstraram ausência de atividade biorredutora, sugerindo que, nesta linhagem específica e nas condições empregadas, os compostos responsáveis pela redução dos íons prata estão mais concentrados na biomassa do que no meio extracelular.

A metodologia de Noman *et al.* (2022), por outro lado, levanta uma hipótese relevante: a presença de resíduos vegetais, como a casca de abóbora no meio de cultivo, poderia ter influenciado diretamente o processo de biossíntese, seja pela ação redutora de seus metabólitos, seja por um efeito sinérgico com os metabólitos fúngicos. A literatura aponta que os compostos bioativos presentes na casca da abóbora exibem diversas atividades biológicas, antioxidante, anti-inflamatória, antimicrobiana, entre outras que poderiam, em teoria, contribuir para a redução de íons metálicos (DONZELLA *et al.*, 2022; EZZAT; ADEL; ABDEL-SATTAR, 2022).

Contudo, esse fator não foi devidamente isolado no estudo, o que impossibilita a atribuição definitiva da ação biorredutora exclusivamente ao fungo. Dessa forma, futuros estudos que comparem diretamente a atividade biorredutora do sobrenadante, com e sem resíduos vegetais no meio de cultivo, seriam fundamentais para elucidar o real papel de cada componente no processo de biossíntese de nanopartículas.

No presente estudo, a ação biorredutora do extrato obtido da biomassa fúngica de *Penicillium pedernalense* F4B1 demonstrou-se efetiva, promovendo a formação de nanopartículas de prata estáveis. Um aspecto relevante a ser enfatizado é que nenhum agente estabilizador foi adicionado ao sistema reacional. Isso indica que os próprios metabólitos fúngicos presentes no extrato atuaram de forma dual: como agentes redutores dos íons de prata e também como estabilizantes das nanopartículas formadas. Tal característica reforça a potencialidade da biomassa fúngica como fonte rica em compostos bioativos com múltiplas funcionalidades no processo de biossíntese de nanopartículas metálicas.

No estudo de Noman *et al.* (2022), por sua vez, não foi relatada a utilização da biomassa fúngica, sendo a biossíntese conduzida exclusivamente com o sobrenadante do meio de cultivo contendo resíduos vegetais. Essa diferença metodológica ressalta a importância de avaliar o papel da biomassa como uma alternativa viável e eficaz para a obtenção de nanopartículas, especialmente quando se busca evitar o uso de estabilizantes externos e promover um processo verdadeiramente verde e sustentável.

A confirmação da biossíntese das AgNPs foi realizada por meio da espectrofotometria UV-Vis, uma técnica valiosa como análise inicial para detecção da formação dessas nanopartículas. Esse método permite a identificação da banda de absorção da ressonância plasmônica de superfície (RPS), que surge da oscilação coerente dos elétrons livres na superfície das nanopartículas metálicas quando estas são excitadas por luz (SONBOL; MOHAMMED; KORANY, 2022).

Ao serem iluminadas, os elétrons na superfície das AgNPs vibram coletivamente, gerando um pico de absorção característico em uma faixa específica do espectro eletromagnético (CHRISTIANAH; ADEBAYO-TAYO; OGUNRINADE, 2021). A presença de um pico de absorbância na faixa de comprimento de onda entre 400 e 450 nm é geralmente indicativa da formação de nanopartículas de prata. Por outro lado, o deslocamento do pico de RPS para comprimentos de onda superiores a 450 nm pode sugerir a formação de partículas maiores ou mesmo agregadas, indicando uma menor estabilidade coloidal do sistema (ANJUM; VYAS; SOFI, 2023).

No presente estudo, RPS foi registrada em 420 nm, indicando a formação efetiva de AgNPs. A síntese ocorreu em apenas 1 hora de reação, o que representa um resultado expressivo, considerando que, conforme relatado na literatura, a faixa de absorbância entre 400 e 450 nm está associada à formação de AgNPs, com tempos de reação variando entre 30 minutos e 72 horas (RĂUT *et al.*, 2024).

Um estudo realizado por (AGUIAR *et al.*, 2024) com *Penicillium citrinum*, observou-se um pico de absorbância em 427 nm após 72 horas de incubação. De forma semelhante, Noman *et al.* (2022) relataram a formação de AgNPs a partir do meio de cultivo de *P. pedernalense*, com pico de absorbância registrado em 418 nm após 24 horas de reação. Já (GUPTA *et al.*, 2022), utilizando

Penicillium oxalicum, obtiveram RPS em 420 nm após 24 horas de incubação. Os valores de absorbância observados nesses estudos são semelhantes ou até idênticos aos obtidos no presente trabalho, que registrou um pico de 420 nm, reforçando a eficiência da biossíntese empregando o extrato da biomassa de *Penicillium pedernalense* F4B1.

O espalhamento dinâmico de luz (EDL) foi a técnica analítica utilizada para a caracterização das AgNPs. Trata-se de um método não destrutivo amplamente empregado para determinar o tamanho das partículas e suas distribuições de tamanho em soluções aquosas ou fisiológicas (PATIL *et al.*, 2021). O princípio fundamental do EDL está na interação da luz com as partículas, levando em consideração o movimento Browniano, que é o movimento aleatório das partículas devido às colisões com as moléculas do solvente (LIAQAT *et al.*, 2022). A técnica é eficaz para medir distribuições estreitas de tamanho de partículas, variando de 2 a 500 nm (ZEHRRA *et al.*, 2025).

Para a caracterização das AgNPs, utilizou-se o equipamento Zetasizer Advance PRO Blue, que emprega o EDL para determinar o diâmetro médio das partículas (em nanômetros, nm), o índice de polidispersão (IP) e o potencial zeta (mV) por espalhamento eletroforético e luz (EEL). O diâmetro médio de partículas representa o tamanho médio das nanopartículas sintetizadas, sendo uma medida crucial para avaliar sua uniformidade e estabilidade (BARABADI *et al.*, 2023).

O índice de polidispersão (IP) é uma das principais informações fornecidas pelo espalhamento dinâmico de luz. Ele indica o grau de uniformidade no tamanho das nanopartículas em suspensão, sendo uma medida da heterogeneidade de uma amostra com base no tamanho das partículas. O IP reflete a distribuição da massa molecular em uma amostra (DAWADI *et al.*, 2021). Valores de IP inferiores a 0,1 indicam partículas monodispersas, ou seja, partículas com tamanhos praticamente iguais, homogêneas. Valores até 0,7 são típicos de uma distribuição polidispersa, com partículas moderadamente uniformes e boa estabilidade. Por outro lado, valores superiores a 0,7 indicam um sistema altamente polidisperso, caracterizado por partículas de tamanhos variados e com baixa estabilidade (AGUIAR *et al.*, 2024).

O diâmetro das partículas e o índice de polidispersão fornecem informações imprescindíveis sobre as nanopartículas, permitindo determinar se elas são grandes, pequenas, aglomeradas ou homogêneas. O potencial Zeta também é um parâmetro importante, pois está diretamente relacionado à estabilidade das nanopartículas. Ele mede o potencial eletrostático no plano de deslizamento das partículas em suspensão. Valores superiores a +30 mV e -30 mV de forma modular, indicam repulsão eletrostática suficiente para garantir a estabilidade do sistema, sendo definidos pela carga das superfícies das partículas em um sistema coloidal (ZEHRRA *et al.*, 2025).

Em geral, um valor mínimo de ± 30 mV de potencial Zeta é necessário para assegurar a estabilidade coloidal. Além disso, é amplamente reconhecido que uma suspensão com um valor de potencial Zeta próximo de zero não possui força suficiente para evitar a agregação das partículas (ISLAM; JACOB; ANTUNES, 2021). Por outro lado, suspensões com valores de potencial Zeta negativos ou positivos elevados têm maior tendência a repelir suas partículas, prevenindo o acúmulo de partículas (TAHER *et al.*, 2022).

Os dados obtidos por Espalhamento Dinâmico de Luz (EDL) no presente estudo revelaram que as nanopartículas sintetizadas apresentaram um diâmetro médio de $26,37 \pm 0,668$ nm, associado a um índice de polidispersão (PDI) de $0,46 \pm 0,017$. Esses valores indicam uma distribuição de tamanho relativamente homogênea, bem como a ausência de aglomerações significativas, sugerindo um processo de síntese eficiente e reprodutível. Em consonância com esses resultados, Rudrappa *et al.*, (2023) relataram a obtenção de nanopartículas de prata (AgPNs) a partir de *Penicillium brasilianum*, com um IP de 0,40, indicando também uma população de partículas polidispersas, comportamento semelhante ao observado na linhagem *P. pedernalense* F4B1 analisada neste trabalho.

No estudo conduzido por Noman *et al.* (2022), foram empregadas metodologias distintas daquelas utilizadas na presente investigação para a caracterização das AgPNs sintetizadas por *P. pedernalense*. Em vez do EDL, os autores recorreram à Microscopia Eletrônica de Varredura por Emissão de Campo (FE-SEM) para a análise morfológica e dimensional das nanopartículas. Os resultados obtidos revelaram que as AgPNs apresentavam formato predominantemente esférico, com distribuição de tamanho uniforme e ausência

de aglomerações visíveis, sendo o diâmetro médio das partículas estimado na faixa de 28 a 45 nm.

De maneira complementar, Dinesh *et al.*, (2022) investigaram a síntese de AgPNs utilizando o fungo *Penicillium cinnamopurpureum*, empregando, assim como no presente trabalho, a técnica de EDL para a caracterização. Nesse estudo, o diâmetro hidrodinâmico médio das nanopartículas foi de 42,9 nm, valor superior ao observado nas partículas obtidas neste trabalho, o que pode ser atribuído a diferenças nas espécies fúngicas utilizadas, nas condições de síntese ou nos métodos de purificação adotados.

O potencial zeta, determinado por espalhamento eletroforético da luz (EEL), foi de $-20,71 \pm 0,732$ mV, valor que indica uma estabilidade coloidal moderada devido à repulsão eletrostática entre as partículas. Embora valores superiores a ± 30 mV sejam considerados ideais para garantir maior estabilidade em dispersões aquosas, a literatura relata que -20 mV demonstra uma boa estabilidade. Como observado por Abd El Aty *et al.* (2020), que utilizaram *Penicillium chrysogenum* como agente biorredutor e encontraram um potencial zeta de -22,3 mV, próximo ao valor obtido neste estudo.

A análise conjunta desses parâmetros físicos tamanho médio, índice de polidispersão e potencial zeta permite inferir que o método de síntese empregado neste estudo é eficaz para a produção de nanopartículas de prata com propriedades físico-químicas adequadas, tornando-as potenciais candidatas para aplicações nas áreas biotecnológica e farmacêutica.

5.2 ATIVIDADE ANTIMICROBIANA

O tratamento de muitas doenças infecciosas representa um desafio significativo, devido ao aumento da resistência bacteriana. *Staphylococcus aureus*, destaca-se como um dos principais patógenos envolvidos em infecções tanto hospitalares quanto comunitárias. A bactéria *S. aureus* é amplamente reconhecida por sua elevada versatilidade e capacidade de desenvolver resistência a diversos agentes antimicrobianos (BAI *et al.*, 2024).

As espécies de *Staphylococcus spp*, demonstram níveis alarmantes de resistência a antimicrobianos amplamente utilizados como, penicilina G, penicilina V, ampicilina, amoxicilina e carbenicilina. Esse cenário evidencia a necessidade urgente de estratégias alternativas e mais eficazes, como o uso de

nanopartículas metálicas com ação potencializadora das propriedades antimicrobianas (YANG *et al.*, 2023).

A avaliação da atividade antimicrobiana nesse presente estudo, foi conduzida por meio do método de difusão em ágar, no qual a eficácia do extrato fúngico é determinada pelo diâmetro do halo de inibição formado em comparação com um controle antimicrobiano. Os ensaios realizados com os extratos brutos de *P. pedernalense* F4B1, não evidenciaram a formação de halos de inibição, levantando a hipótese de ausência de atividade antibacteriana detectável nos extratos brutos testados.

Porém, a nanopartícula formada pelo extrato da biomassa apresentou atividade antimicrobiana sobre a bactéria Gram-positiva *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. Esse resultado indica que a atividade dos metabólitos contidos no extrato foi potencializada com a redução da prata.

A avaliação da atividade antimicrobiana no presente trabalho foi conduzida por meio do método de difusão em ágar, no qual a eficácia do extrato é determinada pelo tamanho do halo de inibição formado em comparação com um controle antimicrobiano. Os ensaios realizados com os extratos brutos de *P. pedernalense* F4B1, não evidenciaram a formação de halos de inibição, levantando a indicação de ausência de atividade antibacteriana detectável nos extratos brutos testados (CRISAN *et al.*, 2021).

As propriedades físico-químicas únicas das nanopartículas, especialmente seu elevado índice de área superficial, contribuem para a sua potente ação antimicrobiana, sendo eficazes inclusive contra patógenos resistentes a medicamentos (TAHER *et al.*, 2022). Dentre as cepas avaliadas, observou-se que *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 (bactéria Gram-positiva) apresentou maior sensibilidade, com a formação de um halo de inibição de $31 \pm 1,0$ mm, indicando um efeito bactericida significativo das AgNPs produzidas. Essa atividade pode estar relacionada ao pequeno diâmetro das nanopartículas (<100 nm), que favorece maior penetração celular e indução de danos à parede celular bacteriana (NAVEEN *et al.*, 2021).

Em contrapartida, não houve formação de halo de inibição contra *Escherichia coli* ATCC 25922 (bactéria Gram-negativa), o que pode estar relacionado às diferenças estruturais entre suas paredes celulares. As bactérias Gram-negativas possuem uma membrana externa composta por

lipopolissacarídeos (LPS), que atua como uma barreira física e química, conferindo maior resistência à penetração e ação de agentes antimicrobianos, incluindo as nanopartículas de prata (KHAN *et al.*, 2024).

O estudo realizado por Răut *et al.* (2024), com nanopartículas de prata (AgNPs) biossintetizadas por *Penicillium chrysogenum* em ensaios antibacterianos, utilizando o método de difusão em ágar por poços, revelou um halo de inibição de $19,83 \pm 0,20$ mm frente à bactéria *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, utilizando a clindamicina (2 µg) como controle positivo. Segundo a Norma de Desempenho para Testes de Sensibilidade Antimicrobiana (Norma M100-S1), halos de inibição iguais ou superiores a 21 mm com clindamicina são considerados indicativos de sensibilidade bacteriana.

No presente estudo, foi utilizada a ampicilina (10 µg) como controle positivo, cujo critério de sensibilidade segundo a mesma norma exige halos ≥ 29 mm. Além disso, Barabadi *et al.*, (2025) avaliaram AgNPs biossintetizadas por *Penicillium rubens* contra *S. aureus* ATCC 25923, tendo a gentamicina (10 µg) como controle positivo, e não observaram formação de halo de inibição com as nanopartículas. De acordo com a Norma M100-S1, para que a gentamicina (10 µg) seja considerada eficaz, o halo de inibição deve ser igual ou superior a 15 mm.

Comparando com os estudos anteriores, observa-se que *P. pedernalense* F4B1 apresentou desempenho superior em relação a outras espécies do gênero *Penicillium*, com halos de inibição significativamente maiores frente à mesma cepa de *S. aureus*. Esses achados destacam a eficácia das AgNPs sintetizadas por *P. pedernalense* F4B1 mesmo contra microrganismos com barreiras estruturais robustas, como é o caso das bactérias Gram-positivas, ressaltando seu potencial como agente antimicrobiano alternativo.

No entanto, estudos adicionais são necessários para elucidar com maior precisão os mecanismos de ação envolvidos, e a caracterização das substâncias bioativas que foram potencializadas pelas AgPNs.

5.3 ATIVIDADE ANTIOXIDANTE

No ensaio antioxidante *in vivo*, foi utilizada a levedura *Saccharomyces cerevisiae* cepa BY4741. De forma geral, ensaios antioxidantes de extratos

fúngicos são realizados *in vitro* utilizando métodos químicos como DPPH e ABTS. Os extratos provenientes de *Penicillium pedernalense* F4B1, foram testados *in vivo* com este modelo biológico.

A levedura *Saccharomyces cerevisiae*, é um organismo eucariótico unicelular, apresenta notável similaridade com células de mamíferos, especialmente no que diz respeito à ortologia de proteínas humanas (CARVALHO MARTINS *et al.*, 2021). Essa característica confere a esse microrganismo um papel fundamental como modelo biológico em diversos estudos científicos. Entre as áreas de pesquisa em mutagênese, estão os mecanismos de reparo do DNA e as respostas celulares ao estresse oxidativo (GONZALES; VILLENA; KITAZONO, 2021).

Devido à sua organização genômica e à conservação de vias metabólicas essenciais, esse modelo experimental tem sido amplamente utilizado para a compreensão de processos celulares fundamentais, permitindo extrapolações relevantes para a biologia humana. Desta forma, ensaios de toxicidade e ensaios antioxidantes são bem aceitos utilizando este modelo biológico (ALUGOJU; TENCOMNAO, 2024)

Os fungos filamentosos produzem policetídeos, terpenoides e alcaloides, classes também encontradas em extratos vegetais, o que corrobora na utilização da *Saccharomyces cerevisiae* nos ensaios antioxidantes *in vivo* (NAGIME *et al.*, 2024). No entanto, embora haja similaridade na biossíntese e nas funções ecológicas dessas substâncias, diferenças significativas podem ser observadas em termos de diversidade estrutural, rotas metabólicas e papéis biológicos específicos (LOPEZ-MORENO *et al.*, 2023).

Os resultados obtidos a partir dos extratos do meio de cultivo demonstraram uma eficácia superior em comparação com aqueles obtidos a partir da biomassa. Conforme ilustrado na Figura 8, a análise do ensaio de spot, que é um ensaio qualitativo realizado até a diluição de 1×10^{-4} , revela que a proteção conferida às células de levedura foi mais efetiva no tratamento com o extrato do meio. No entanto, ainda não está claro se os efeitos protetores observados decorrem de mecanismos intracelulares, e extracelulares ou de uma combinação de ambos.

No primeiro cenário intracelular, a ação antioxidante do extrato pode estar relacionada à ação direta sobre o H_2O_2 no interior das células ou à indução de

uma resposta celular que favoreçam um crescimento mais eficiente. Em contrapartida, no segundo cenário, o efeito antioxidante do extrato pode ser resultante de uma reação direta com o H_2O_2 presente no meio extracelular, resultando na redução de sua concentração e impactando na redução da viabilidade da levedura. Independente do mecanismo, a redução do dano oxidativo é observada.

A Figura 11 apresenta a análise de significância estatística entre os extratos testados e o controle positivo H_2O_2 . Os dados obtidos a partir de seis ensaios antioxidantes independentes demonstraram que o extrato contém substâncias com propriedades antioxidantes. Observou-se que, na concentração de 0,25%, a ação protetora foi mais efetiva em comparação com a concentração de 0,50%. O extrato sozinho não apresentou citotoxicidade mesmo em concentrações superiores à utilizada no ensaio antioxidante relatado no item 4.1.

Esse resultado levanta a hipótese de que, em concentrações mais elevadas, pode ocorrer um efeito paradoxal, no qual o aumento da dose do extrato não necessariamente melhora sua eficácia antioxidante. Isso pode estar relacionado à presença de compostos que, em altas concentrações, desencadeiam efeitos pró-oxidantes ou influenciam negativamente a viabilidade celular. Portanto, novos estudos são necessários para compreender os mecanismos envolvidos e otimizar o uso dos extratos de *P. pedernalense* F4B1 em aplicações antioxidantes.

Até o momento, não foram encontrados artigos relatando o uso do modelo biológico *Saccharomyces cerevisiae*, em ensaios antioxidantes *in vivo* com extratos de fungos filamentosos. Apenas são encontrados ensaios *in vitro*, como DPPH, FRAP e ABTS. Os ensaios *in vitro* para avaliação da atividade antioxidante são, em sua maioria, baseados na interação entre compostos antioxidantes e radicais livres estáveis gerados a partir de uma mistura de reagentes químicos. A atividade antioxidante de um extrato ou substância é determinada por sua capacidade de neutralizar esses radicais, impedindo danos oxidativos (RUMPF; BURGER; SCHULZE, 2023).

Os reagentes mais comumente utilizados para os testes antioxidantes são: 2,2-difenil-1-picril-hidrazila (DPPH), que se baseia na redução do radical DPPH, que muda de cor (de roxo para amarelo) quando recebe um elétron ou

um átomo de hidrogênio de um antioxidante, permitindo a quantificação da atividade antioxidante. O ácido 2,2'-azino-bis (3-etilbenzotiazolina-6-sulfônico), que mede a capacidade do antioxidante em reduzir o radical ABTS⁺. E o potencial antioxidante redutor de íons férricos (FRAP), que avalia a capacidade do antioxidante em reduzir Fe³⁺ a Fe²⁺, refletindo seu potencial redutor e, conseqüentemente, sua ação antioxidante (LACHGUER *et al.*, 2023; SILVA TIRONI *et al.*, 2024).

Um ensaio antioxidante *in vitro* conduzido por Sikander *et al.*, (2020) avaliou a ação antioxidante dos compostos bioativos produzidos por *Penicillium chrysogenum*. Os resultados obtidos no teste de DPPH demonstraram uma atividade antioxidante de 63,86 ± 0,82%, um valor considerado positivo, uma vez que resultados superiores ao IC₅₀ já indicam uma significativa capacidade antioxidante.

Da mesma forma, Kaurt *et al.*, (2020) investigaram a atividade antioxidante de *Penicillium oxalicum* e observaram uma alta capacidade de eliminação do radical DPPH, com um IC₅₀ de 127 ± 56 µg/mL. No ensaio ABTS, a fração ativa apresentou um aumento na atividade antioxidante de forma dose dependente, com um IC₅₀ de 43 ± 69 µg/mL. No ensaio FRAP, a elevação na absorbância da reação indicou um aumento na transformação de íons férricos (Fe³⁺) em íons ferrosos (Fe²⁺), confirmando a capacidade redutora da fração ativa testada.

Veličković *et al.*, (2020) analisaram a atividade antioxidante do extrato vegetal de *Prunus spinosa* L. por meio de ensaios *in vitro*, utilizando os métodos DPPH, ABTS e FRAP. Os resultados obtidos foram 257,84 ± 6,57 µg/mL para DPPH, 184,43 ± 3,88 µg/mL para ABTS e 0,10 ± 0,01 µg/mL para FRAP, indicando uma moderada capacidade antioxidante da espécie estudada.

Em outro estudo, Lachguer *et al.*, (2023) investigaram a ação antioxidante das frações do extrato vegetal de *Crocus sativus* L., sendo que a fração do éter dietílico apresentou o maior potencial antioxidante, com valores de DPPH de 309,44 ± 33,30 µg/mL e FRAP de 19,82 ± 3,75 µg/mL. Neste estudo, o ensaio ABTS não foi realizado. No entanto, ao comparar os resultados de DPPH com os obtidos por Veličković *et al.* (2020), observa-se uma similaridade entre os valores reportados.

Ao confrontar os estudos que avaliaram extratos vegetais (Veličković *et al.*, 2020; Lachguer *et al.*, 2023) com aqueles que analisaram extratos fúngicos (*Penicillium chrysogenum* e *Penicillium oxalicum*) realizados por Sikandar *et al.*, (2020) e Kaur *et al.* (2019), observa-se que os extratos fúngicos apresentaram melhor atividade antioxidante. Esse resultado sugere que metabólitos secundários produzidos por fungos podem possuir potencial antioxidante em comparação com compostos extraídos de fontes vegetais, reforçando a importância da exploração biotecnológica de microrganismos na busca por novos antioxidantes naturais.

Neste presente trabalho, não foi possível a realização dos testes *in vitro* para avaliação da atividade antioxidante. No entanto, essa limitação abre uma perspectiva importante, permitindo a comparação entre diferentes espécies do gênero *Penicillium*. Ensaio *in vitro* utilizando metodologias estabelecidas, como DPPH, ABTS e FRAP, poderiam fornecer informações adicionais sobre o potencial antioxidante dos extratos testados, possibilitando uma análise a mais sobre a eficácia desses compostos em relação a outras espécies fúngicas e vegetais.

Mediante os dados observados acima, é possível estabelecer uma comparação entre a atividade antioxidante do extrato fúngico obtido no presente estudo e a de extratos provenientes de organismos de outros reinos, desde que tenham sido avaliados sob condições experimentais semelhantes. Ou seja, ao empregar o mesmo modelo *in vivo* e metodologia equivalente, torna-se viável comparar a eficácia do extrato fúngico com outros compostos já estudados, permitindo uma avaliação de seu potencial antioxidante. Essa abordagem comparativa pode fornecer informações relevantes sobre a viabilidade do extrato como uma alternativa promissora em aplicações biotecnológicas e terapêuticas.

A avaliação da atividade antioxidante de compostos bioativos tem sido amplamente explorada em diferentes modelos experimentais, especialmente em organismos unicelulares como *Saccharomyces cerevisiae*. Oliveira *et al.* (2020) investigaram o potencial antioxidante do extrato do fruto de *Schinus terebinthifolius* Raddi (pimenta-brasileira ou aroeira), utilizando a cepa selvagem BY4741 de *S. cerevisiae*. O ensaio *in vivo* foi conduzido com a indução do estresse oxidativo por peróxido de hidrogênio (H₂O₂) na concentração de 1 mM,

durante um período de 1 hora. Os autores verificaram que a exposição ao H_2O_2 reduziu a sobrevivência celular para 29,44%. No entanto, o tratamento com o extrato vegetal na concentração de 10 $\mu\text{g/mL}$ aumentou a taxa de sobrevivência para 51,75%, enquanto a concentração de 100 $\mu\text{g/mL}$ resultou em uma taxa de 48,59%, indicando uma leve redução na proteção celular em concentrações mais elevadas.

No presente estudo, a abordagem experimental seguiu metodologia semelhante, porém com a utilização de um extrato fúngico e uma concentração diferente do agente oxidante. O peróxido de hidrogênio foi aplicado na concentração de 2 mM, resultando em uma redução na sobrevivência celular para 22%. O tratamento com o extrato fúngico na concentração de 0,25% elevou a taxa de sobrevivência para 65%, enquanto na concentração de 0,50%, a taxa foi de 56%. Esses resultados sugerem que o extrato fúngico apresenta um efeito protetor contra o estresse oxidativo induzido por H_2O_2 assim como extratos vegetais.

Ao comparar os dois experimentos, observa-se que o aumento da concentração do extrato, tanto fúngico quanto vegetal, resulta em uma queda na taxa de sobrevivência celular, enquanto concentrações mais baixas parecem conferir maior proteção contra o estresse oxidativo. A hipótese é a de que esse fenômeno pode estar relacionado à presença de compostos bioativos que, em altas concentrações, podem gerar efeitos adversos ou inibir mecanismos celulares de resposta ao estresse. Além disso, nenhum dos extratos apresentou citotoxicidade na ausência de H_2O_2 , o que descarta essa possibilidade como fator influente na redução da sobrevivência celular em concentrações mais elevadas.

Outro aspecto relevante a ser considerado é a diferença na concentração do peróxido de hidrogênio utilizada nos dois estudos. Enquanto Oliveira *et al.* (2020) empregaram H_2O_2 a 1 mM, no presente estudo foi utilizada uma concentração de 2 mM. Esta diferença sugere a necessidade de avaliar o percentual de sobrevivência sob uma condição de estresse mais branda (1mM), a fim de determinar se essa adaptação poderia conferir uma proteção ainda mais pronunciada para o extrato fúngico.

Carvalho Martins *et al.*, (2021), avaliaram a atividade antioxidante de extratos vegetais obtidos de *Eugenia copacabanensis* e *Myrciaria tenella*, plantas nativas da restinga da Mata Atlântica. Para a realização dos ensaios, os

pesquisadores testaram duas concentrações distintas (0,14 mg/mL e 4,00 mg/mL) e utilizaram diferentes solventes para a extração dos compostos bioativos, especificamente acetato de etila e butanol.

Os resultados indicaram que ambos os extratos vegetais apresentaram atividade antioxidante e conferiram proteção às células de *Saccharomyces cerevisiae* BY4741 expostas ao agente oxidativo peróxido de hidrogênio (H_2O_2) na concentração de 2 mM. No entanto, os efeitos observados variaram de acordo com a espécie vegetal e o solvente utilizado. No caso do extrato de *Myrciaria tenella*, tanto na fração de acetato de etila quanto na fração butanólica, o aumento da concentração do extrato resultou em uma maior viabilidade celular. Esse comportamento difere dos resultados obtidos no estudo de Oliveira *et al.*, (2020) e no presente trabalho, onde concentrações mais elevadas do extrato reduziram a viabilidade celular.

Por outro lado, o extrato de *Eugenia copacabanensis* apresentou um comportamento semelhante aos estudos anteriores. Na fração extraída com acetato de etila, observou-se uma redução na viabilidade celular com o aumento da concentração do extrato. Entretanto, na fração butanólica, ocorreu um aumento significativo da viabilidade celular conforme a concentração do extrato era elevada.

De modo geral, todas as frações analisadas por Martins *et al.* (2021) demonstraram atividade antioxidante, apesar das variações na viabilidade celular. Mesmo assim se observa uma perda na viabilidade celular com concentrações mais elevadas, por isso é essencial considerar a composição química específica de cada extrato e suas interações com os sistemas biológicos analisados.

6. CONSIDERAÇÕES FINAIS

O presente estudo evidenciou o potencial biotecnológico promissor do fungo *Penicillium pedernalense* F4B1, por meio da avaliação de suas capacidades antimicrobianas, antioxidantes e de biossíntese das AgNPs. Os resultados obtidos foram expressivos e indicam a relevância da aplicação dessa espécie em contextos clínico-científicos e industriais.

O objetivo principal da pesquisa foi plenamente alcançado, uma vez que o isolado *P. pedernalense* F4B1 demonstrou a capacidade de produzir metabólitos secundários intracelulares com atividade redutora suficiente para converter íons de prata em nanopartículas, atingindo escala nanométrica. Este achado é inédito, visto que, até o momento, os relatos disponíveis na literatura restringiam-se à síntese extracelular de AgNPs. A descoberta da via intracelular abre novos caminhos para investigações mais aprofundadas, tanto sobre os mecanismos envolvidos na biogênese quanto sobre a caracterização dos metabólitos responsáveis por essa atividade.

As AgNPs biossintetizadas demonstraram relevante ação antimicrobiana, especialmente frente à cepa *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. Tais propriedades destacam o potencial dessas nanopartículas para aplicações futuras em diferentes áreas, incluindo a indústria farmacêutica e biomédica, onde agentes com propriedades multifuncionais são altamente valorizados.

Adicionalmente, destaca-se a expressiva atividade antioxidante apresentada pelo extrato bruto obtido do meio de cultivo, mesmo na ausência da formação de AgNPs. Tal resultado evidencia um outro potencial biotecnológico do *P. pedernalense* F4B1, indicando sua aplicabilidade em áreas distintas, como a indústria cosmética, onde compostos com propriedades antioxidantes são amplamente valorizados por seus efeitos protetores e regenerativos sobre a pele. Essa descoberta amplia o escopo de aplicação da espécie e reforça a importância de estudos voltados à caracterização detalhada de seus metabólitos bioativos.

Como perspectiva, sugere-se a ampliação dos estudos microbiológicos, testando as AgNPs sintetizadas frente a outras cepas bacterianas, incluindo linhagens multirresistentes e de maior virulência, com o intuito de compreender de forma mais precisa o seu espectro de ação e o mecanismo envolvido na

inibição microbiana. Do mesmo modo, recomenda-se a identificação e categorização dos metabólitos intracelulares envolvidos na síntese das nanopartículas, o que poderá contribuir significativamente para o entendimento dos processos metabólicos do fungo e para o desenvolvimento de novos bioprodutos.

Dessa forma, este trabalho contribuiu para o mapeamento inicial do potencial da linhagem de *P. pedernalense* F4B1. Indicando que os estudos envolvendo essa espécie estão apenas começando, e que seu aproveitamento pleno depende de futuras investigações multidisciplinares.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

7.1 OBRAS CITADAS

ABBAS, A.; AMIN, H. M. A. Silver nanoparticles modified electrodes for electroanalysis: An updated review and a perspective. *Microchemical Journal* Elsevier Inc.,v. 175, n. 107166, 1 abr. 2022.

ABBASI, R.; SHINEH, G.; MOBARAKI, M.; DOUGHTY, S.; TAYEBI, L. Structural parameters of nanoparticles affecting their toxicity for biomedical applications: a review. *Journal of Nanoparticle Research Springer Science and Business Media B.V.*,v. 25, n. 43, 1 mar. 2023.

ABDEL-KAREEM, M. M.; ZOHRI, A. N. A.; RASMEY, A. H. M.; HAWARY, H. Enhancing the biotransformation of progesterone to the anticancer compound testololactone by *Penicillium chrysogenum* Ras3009: kinetic modelling and efficiency maximization. *BMC biotechnology*, v. 24, n. 1, p. 73, 1 dez. 2024.

AFIYATULLOV, S. S. *et al.* Article zosteropenillines: Polyketides from the marine-derived fungus *penicillium thomii*. *Marine Drugs*, v. 15, n. 2, 17 fev. 2017.

AGUIAR, A. P.; OTTONI, C. A.; AQUAROLI, C. DE L. R.; MENDES, E. C. V.; ARAÚJO, A. L. DE S.; SIMÕES, M. F.; BARBIERI, E. Mycogenic silver nanoparticles from *Penicillium citrinum* IB-CLP11 - their antimicrobial activity and potential toxicity effects on freshwater organisms. *Environmental Science: Nano*, v. 11, n. 5, p. 2229–2238, 27 mar. 2024.

AKANIRO, I. R.; CHIBUIKE, I. V.; ONWUJEKWE, E. C.; GBADAMOSI, F. A.; ENYI, D. O.; ONWE, O. N. *Penicillium* species as chassis for biomanufacturing and environmental sustainability in the modern era: Progress, challenges, and future perspective. *Fungal Biology Reviews* Elsevier Ltd , v. 46, n. 17494613, 1 dez. 2023.

ALHOMAIDI, E. A sustainable exploitation of high-protein feather waste for production of cold-adapted keratinase by *Penicillium lanosocoeruleum* KSA-55. *Electronic Journal of Biotechnology*, v. 74, p. 1–10, 1 mar. 2025.

ALHUMAID, S. *et al.* Antimicrobial susceptibility of gram-positive and gram-negative bacteria: a 5-year retrospective analysis at a multi-hospital healthcare system in Saudi Arabia. *Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials*, v. 20, n. 1, 1 dez. 2021.

Ali E. *Peatland fungi identification, application in dye decolourization and bacterial inactivation in graywater*. Tese (Doutorando em Filosofia em Ciências) Faculty of Applied Sciences and Technology Universiti Tun Hussein Onn Malaysia. 2021. 59 p.

ALI, I. A. M.; AHMED, A. BEN; AL-AHMED, H. I. Green synthesis and characterization of silver nanoparticles for reducing the damage to sperm parameters in diabetic compared to metformin. *Scientific Reports*, v. 13, n. 1, 1 dez. 2023.

ALI, S.; BAHADUR, A.; HASSAN, A.; AHMAD, S.; SHAH, W.; IQBAL, S. Optimized silver nanostructures for enhanced antibacterial potential: Recent trends and challenges in the development of metallo-antimicrobials. *Chemical Engineering Journal Elsevier B.V*, v. 507, n. 160470, 1 mar. 2025.

ALI SHAH, Z.; KHAN, K.; IQBAL, Z.; MASOOD, T.; HEMEG, H. A.; RAUF, A. Metabolic and pharmacological profiling of *Penicillium claviforme* by a combination of experimental and bioinformatic approaches. *Annals of Medicine*, v. 54, n. 1, p. 2102–2114, 2022.

ALMALLAH, Z.; EL-LABABIDI, R.; SHAMOUT, F.; DOYLE, D. J. Artificial intelligence: the new alexander fleming. *Healthcare Informatics Research*, v. 27, n. 2, p. 168–171, 2021.

ALSEHLI, B. R.; AL-HAKKANI, M. F.; ALLUHAYB, A. H.; M. SALEH, S.; ABDELRAHEM, M. M. M.; HASSANE, A. M. A.; HASSAN, M. H. A. Sustainable Myco-Synthesis of antimony oxide nanoparticles using endophytic *Penicillium chrysogenum* Extract: Characterization, antimicrobial Potency, and cytotoxicity assays. *Inorganic Chemistry Communications*, v. 173, 1 mar. 2025.

ALSHEIKH, H. M. AL; SULTAN, I.; KUMAR, V.; RATHER, I. A.; AL-SHEIKH, H.; JAN, A. T.; HAQ, Q. M. R. Plant-based phytochemicals as possible alternative to antibiotics in combating bacterial drug resistance. *Antibiotics* MDPI AG, v. 9, n. 480, 1 ago. 2020.

ALUGOJU, P.; TENCOMNAO, T. Effect of levan polysaccharide on chronological aging in the yeast *Saccharomyces cerevisiae*. *International Journal of Biological Macromolecules*, v. 266, 1 maio 2024.

ALVES, M. F.; PASCHOAL, A. C. C.; KLIMECK, T. D. F.; KULIGOVSKI, C.; MARCON, B. H.; AGUIAR, A. M. DE; MURRAY, P. G. Biological Synthesis of Low Cytotoxicity Silver Nanoparticles (AgNPs) by the Fungus *Chaetomium thermophilum*— Sustainable Nanotechnology. *Journal of Fungi*, v. 8, n. 6, 1 jun. 2022.

ANJUM, S.; VYAS, A.; SOFI, T. Fungi-mediated synthesis of nanoparticles: characterization process and agricultural applications. *Journal of the Science of Food and Agriculture John Wiley and Sons Ltd*, v. 103, n. 10, p. 4727–4741, 15 ago. 2023.

Araujo Silva. *Investigação química e biológica de Penicillium endofíticos produtores de alcalóides e de moléculas com potencial biotecnológico*. Universidade Federal do Amazonas. Tese (Doutorando em biodiversidade e biotecnologia, área de concentração biotecnologia). 2021. 170 p.

ASSALVE, G.; LUNETTI, P.; ZARA, V.; FERRAMOSCA, A. In Vivo Antioxidant Activity of Common Dietary Flavonoids: Insights from the Yeast Model *Saccharomyces cerevisiae*. *Antioxidants*, v. 13, n. 9, 1 set. 2024.

BAI, H. J.; GENG, Q. F.; JIN, F.; YANG, Y. L. Epidemiologic analysis of antimicrobial resistance in hospital departments in China from 2022 to 2023. *Journal of Health, Population and Nutrition*, v. 43, n. 1, 1 dez. 2024.

BARABADI, H.; ASHOURI, F.; JOUNAKI, K.; JAHANI, R.; AMIDI, S.; HOSSEINI, O.; KAMALI, M. Mycofabrication of selenium and tellurium nanoparticles by using *Penicillium rubens*: In-vitro physicochemical, antimicrobial, antioxidant, urease inhibitory, thrombolytic and anticoagulant performance. *Nanomedicine Journal*, v. 12, n. 1, p. 70–84, 1 jan. 2025.

BARABADI, H.; MOBARAKI, K.; JOUNAKI, K.; SADEGHIAN-ABADI, S.; VAHIDI, H.; JAHANI, R.; NOQANI, H.; HOSSEINI, O.; ASHOURI, F.; AMIDI, S. Exploring the biological application of *Penicillium fimorum*-derived silver nanoparticles: In vitro physicochemical, antifungal, biofilm inhibitory, antioxidant, anticoagulant, and thrombolytic performance. *Heliyon*, v. 9, n. 6, 1 jun. 2023.

BARREIRO, C.; ALBILLOS, S. M.; GARCÍA-ESTRADA, C. Chapter Three - *Penicillium chrysogenum*: Beyond the *penicillin*. Em: GADD, G. M.; SARIASLANI, S. (Eds.). *Advances in Applied Microbiology*. [s.l.] Academic Press, 2024. v. 127p. 143–221.

BI, S.; SRIVASTAVA, R. Bottom-up synthesis of palladium nanoparticles: Kinetics effect and catalytic activity. *Polyhedron*, v. 269, 1 mar. 2025.

BISEN, K. Reproductive Approaches in Phytopathogenic Fungi. *IJARAAS*, v. 2, n. 1, p. 1–6, 2020.

BISHNOI, K.; RANI, P.; KARWAL, M.; BISHNOI, N. R. PAHs Biodegradation by Locally Isolated *Phanerochaete chrysosporium* and *Penicillium citrinum* from Liquid and Spiked Soil. *Nature Environment and Pollution Technology*, v. 23, n. 2, p. 785–795, 1 jun. 2024.

BLANC, D. C.; DUARTE, J. A.; FIAUX, S. B. Indigenous fungi with the ability to biodegrade hydrocarbons in diesel-contaminated soil are isolated and selected using a simple methodology. *Environmental Pollution*, v. 357, 15 set. 2024.

BÖL, M.; SCHRINNER, K.; TESCHE, S.; KRULL, R. Challenges of influencing cellular morphology by morphology engineering techniques and mechanical induced stress on filamentous pellet systems - A critical review. *Engineering in Life Sciences Wiley-VCH Verlag*, 1 mar. 2021.

BORGES TEIXEIRA, F.; VIEIRA GONÇALVES, E.; MELO CARNEIRO, F.; XAVIER SANTOS, S.; SALOMÃO CARAMORI, S. Efeitos das condições de cultivo para obtenção de pellets fúngicos. *Revista AgroTecnologia*, p. 27–33, 2023.

BOTTERY, M. J.; PITCHFORD, J. W.; FRIMAN, V. P. Ecology and evolution of antimicrobial resistance in bacterial communities. *ISME Journal Springer Nature*, v. 15, n. 4, p. 939–948, 1 abr. 2021.

BUDEA, C. M. *et al.* The Assessment of Antimicrobial Resistance in Gram-Negative and Gram-Positive Infective Endocarditis: A Multicentric Retrospective Analysis. *Medicina (Lithuania)*, v. 59, n. 3, 1 mar. 2023.

BUFFO, M. M.; ESPERANÇA, M. N.; FARINAS, C. S.; BADINO, A. C. Relation between pellet fragmentation kinetics and cellulolytic enzymes production by *Aspergillus niger* in conventional bioreactor with different impellers. *Enzyme and Microbial Technology*, v. 139, 1 set. 2020.

CABRERA-BARJAS, G.; GALLARDO, F.; NESIC, A.; TABOADA, E.; MARICAN, A.; MIRABAL-GALLARDO, Y.; AVILA-SALAS, F.; DELGADO, N.; ARMAS-RICARD, M. DE; VALDES, O. Utilization of industrial by-product fungal biomass from *Aspergillus niger* and *Fusarium culmorum* to obtain biosorbents for removal of pesticide and metal ions from aqueous solutions. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, v. 8, n. 5, 1 out. 2020.

CAO, L.; BARZEE, T. J.; MASHAD, H. M. EL; PAN, Z.; ZHANG, R. Potential of utilizing almond hull extract for filamentous fungi production by submerged cultivation. *Food Bioengineering*, v. 3, n. 1, p. 3–13, 1 mar. 2024.

CARVALHO, A. C. DE; OGAWA, C. Y.; CAMILLIS RODRIGUES, L. DE; MEDEIROS, L. S. DE; VEIGA, T. A. M. *Penicillium* genus as a source for anti-leukemia compounds: an overview from 1984 to 2020. *Leukemia and Lymphoma* Taylor and Francis Ltd., v. 62, n. 9, p. 2079–2093, 26 feb. 2021.

CARVALHO MARTINS, V. DE; FRANÇA, L. P.; SILVA FERREIRA, Y. DA; PIRES, D. C.; SOUZA CARDOSO, B. DE; PESSANHA DE ARAÚJO SANTIAGO, M. C.; PACHECO, S.; COSTA SOUZA, M. DA; RIGER, C. J.; OLIVEIRA GODOY, R. L. DE; GERALDO DE CARVALHO, M. Determination of the Phytochemical Composition and Antioxidant Potential of *Eugenia copacabanensis* and *Myrciaria tenella* Leaves (Myrtaceae) Using a *Saccharomyces cerevisiae* Model. *Chemistry and Biodiversity*, v. 18, n. 6, 1 jun. 2021.

CERRONE, F.; O'CONNOR, K. E. Cultivation of filamentous fungi in airlift bioreactors: advantages and disadvantages. *Applied microbiology and biotechnology*, v. 109, n. 1, p. 41, 1 dez. 2025.

CHAKRABORTY, A.; MAJUMDAR, S.; BHOWAL, J. Phytochemical screening and antioxidant and antimicrobial activities of crude extracts of different filamentous fungi. *Archives of Microbiology*, v. 203, n. 10, p. 6091–6108, 1 dez. 2021.

CHANDAK, V. S.; NAGIME, P. V. Synthesis, characterization and applications of silver nanoparticles (Ag-NPs) in the field of electronics and optoelectronics device - A review. *Hybrid Advances*, v. 8, p. 100389, mar. 2025.

CHANDRAKALA, V.; ARUNA, V.; ANGAJALA, G. Review on metal nanoparticles as nanocarriers: current challenges and perspectives in drug

delivery systems. *Emergent Materials Institute for Ionics*, v. 5, n. 6, p. 1593-1615, 1 dez. 2022.

CHHABRA, S.; TAKSANDE, A. B.; MUNJEWAR, P. The Penicillin Pioneer: Alexander Fleming's Journey to a Medical Breakthrough. *Cureus*, 23 jul. 2024.

CHILAKAMARRY, C. R.; MIMI SAKINAH, A. M.; ZULARISAM, A. W.; SIROHI, R.; KHILJI, I. A.; AHMAD, N.; PANDEY, A. Advances in solid-state fermentation for bioconversion of agricultural wastes to value-added products: Opportunities and challenges. *Bioresource Technology Elsevier Ltd*, v. 343, n. 126065, 1 jan. 2022.

CHRISTAKI, E.; MARCOU, M.; TOFARIDES, A. Antimicrobial Resistance in Bacteria: Mechanisms, Evolution, and Persistence. *Journal of Molecular Evolution Springer*, v. 88, n. 1, p. 26-40, 1 jan. 2020.

CHRISTIANAH ADEBAYO-TAYO, B.; OGUNRINADE, J. O. Mycosynthesis and Characterization of Gold and Silver Nanoparticles Using Biomolecules of *Pleurotus ostreatus* as Antibacterial Agent against Some Selected Pathogens. *ACTA Microbiologia Bulgarica*. v 37, 1 fev. 2021.

CHROUMPI, T.; MÄKELÄ, M. R.; VRIES, R. P. DE. Engineering of primary carbon metabolism in filamentous fungi. *Biotechnology Advances Elsevier Inc*. v.43, n. 107551, 1 nov. 2020.

CHUMKIEW, SIRILAK; MUSIKA, JIDAPA; NA POMBEJRA, SARISA; NANTAPONG, NAWARAT; RANGDIST, S.; PAKDEESIRIWONG, N.; CHUMKIEW, S; MUSIKA, J; NA POMBEJRA, S; NANTAPONG, N; JAMKLANG, M. Green Synthesis and Characterization of Silver Nanoparticles from Filamentous Fungi Isolated from The Environment and Their Anti-microbial Activity Against Healthcare-Associated Bacterial Pathogens. *SUT International Virtual Conference on Science and Technology Nakhon-Ratchasima, Thailand*, 28th August 2020.

CONRADO, R.; GOMES, T. C.; ROQUE, G. S. C.; SOUZA, A. O. DE. Overview of Bioactive Fungal Secondary Metabolites: Cytotoxic and Antimicrobial Compounds. *Antibiotics* MDPI, v. 11, n. 1604, 1 nov. 2022.

CORBU, V. M.; GHEORGHE-BARBU, I.; DUMBRAVĂ, A. ȘTEFANIA; VRÂNCIANU, C. O.; ȘESAN, T. E. Current Insights in Fungal Importance - A Comprehensive Review. *Microorganisms* MDPI, v. 11, v. 1384, 1 jun. 2023.

CRISAN, C. M.; MOCAN, T.; MANOLEA, M.; LASCA, L. I.; TĂBĂRAN, F. A.; MOCAN, L. Review on silver nanoparticles as a novel class of antibacterial solutions. *Applied Sciences (Switzerland)* MDPI AG, v. 11, n. 1120, p. 1-18, 1 fev. 2021.

DAWADI, S.; KATUWAL, S.; GUPTA, A.; LAMICHHANE, U.; THAPA, R.; JAISI, S.; LAMICHHANE, G.; BHATTARAI, D. P.; PARAJULI, N. Current Research on Silver Nanoparticles: Synthesis, Characterization, and Applications. *Journal of Nanomaterials*, v. 2021, p. 23, 9 jan, 2021.

DINESH, B.; MONISHA, N.; SHALINI, H. R.; PRATHAP, G. K.; POYYA, J.; SHANTARAM, M.; HAMPAPURA, J. S.; KARIGAR, C. S.; JOSHI, C. G. Antibacterial activity of silver nanoparticles synthesized using endophytic fungus - *Penicillium cinnamopurpureum*. *Spectroscopy Letters*, v. 55, n. 1, p. 20–34, 2022.

DINIUS, A.; KOZANECKA, Z. J.; HOFFMANN, K. P.; KRULL, R. Intensification of bioprocesses with filamentous microorganisms. *Physical Sciences Reviews*, v. 9, n. 2, p. 777–823, 1 fev. 2024.

DONZELLA, S.; SERRA, I.; FUMAGALLI, A.; PELLEGRINO, L.; MOSCONI, G.; SCALZO, R. LO; COMPAGNO, C. Recycling industrial food wastes for lipid production by oleaginous yeasts *Rhodospiridiobolus azoricus* and *Cutaneotrichosporon oleaginosum*. *Biotechnology for Biofuels and Bioproducts*, v. 15, n. 1, 1 dez. 2022.

DROTT, M. T.; BASTOS, R. W.; ROKAS, A.; RIES, L. N. A.; GABALDÓN, T.; GOLDMAN, G. H.; KELLER, N. P.; GRECO, C. Diversity of Secondary Metabolism in *Aspergillus nidulans* Clinical Isolates. *mSphere*, v. 5, n. 2, 29 abr. 2020.

EZZAT, S. M.; ADEL, R.; ABDEL-SATTAR, E. Pumpkin Bio-Wastes as Source of Functional Ingredients. *Em: RAMADAN, M. F.; FARAG, M. A. (Eds.). Mediterranean Fruits Bio-wastes: Chemistry, Functionality and Technological Applications*. Cham: Springer International Publishing, 2022. p. 667–696.

FA'IS, J. AL; CHINDYASTUTI, A.; ILMI, M. Inducing Fungal Pelletization Using Affordable Microparticle. *BIO Web of Conferences. Anais...EDP Sciences*, v. 94 n. 07001, 25 mar. 2024.

FISHER, J. F.; MOBASHERY, S. β -Lactams against the Fortress of the Gram-Positive *Staphylococcus aureus* Bacterium. *Chemical Reviews*. American Chemical Society, v. 121, n. 6, p. 3412 – 3463, 24 mar. 2021.

FITZ, E.; GAMAUF, C.; SEIBOTH, B.; WANKA, F. Deletion of the small GTPase *rac1* in *Trichoderma reesei* provokes hyperbranching and impacts growth and cellulase production. *Fungal Biology and Biotechnology*, v. 6, n. 1, 18 out. 2019.

FRANCO-CANO, A.; MARCOS, A. T.; STRAUSS, J.; CÁNOVAS, D. Evidence for an arginine-dependent route for the synthesis of NO in the model filamentous fungus *Aspergillus nidulans*. *Environmental Microbiology*, v. 23, n. 11, p. 6924–6939, 1 nov. 2021.

GONG, Z.; ZHANG, S.; LIU, J. Recent Advances in Chitin Biosynthesis Associated with the Morphology and Secondary Metabolite Synthesis of Filamentous Fungi in Submerged Fermentation. *Journal of Fungi* MDPI, v. 9, n. 205, p. 17, 1 fev. 2023.

GONZALES, M.; VILLENA, G. K.; KITAZONO, A. A. Evaluation of the antioxidant activities of aqueous extracts from seven wild plants from the Andes using an in vivo yeast assay. *Results in Chemistry*, v. 3, n. 100098, p. 7, 1 jan. 2021.

GOW, N. A. R.; LENARDON, M. D. Architecture of the dynamic fungal cell wall. *Nature Reviews Microbiology*. *Nature Research*, 1 abr. 2023.

GRECO-DUARTE, J.; ALMEIDA, F. P. DE; GODOY, M. G. DE; LINS, U.; FREIRE, D. M. G.; GUTARRA, M. L. E. Simultaneous lipase production and immobilization: morphology and physiology study of *Penicillium simplicissimum* in submerged and solid-state fermentation with polypropylene as an inert support. *Enzyme and Microbial Technology*, v. 164, 1 mar. 2023.

GUPTA, P.; RAI, N.; VERMA, A.; SAIKIA, D.; SINGH, S. P.; KUMAR, R.; SINGH, S. K.; KUMAR, D.; GAUTAM, V. Green-Based Approach to Synthesize Silver Nanoparticles Using the Fungal Endophyte *Penicillium oxalicum* and Their Antimicrobial, Antioxidant, and in Vitro Anticancer Potential. *ACS Omega*, v. 7, n. 50, p. 46653–46673, 20 dez. 2022.

GÜRSOY, N. Fungus-mediated synthesis of silver nanoparticles (agnp) and inhibitory effect on *aspergillus* spp. in combination with antifungal agent. *Cumhuriyet Science Journal*, v. 41, n. 1, p. 311–318, 22 mar. 2020.

HAYES, J. D.; DINKOVA-KOSTOVA, A. T.; TEW, K. D. Oxidative Stress in Cancer. *Cancer Cell Press*, 10 ago. 2020.

HERMOSILLA, E.; DÍAZ, M.; VERA, J.; CONTRERAS, M. J.; LEAL, K.; SALAZAR, R.; BARRIENTOS, L.; TORTELLA, G.; RUBILAR, O. Synthesis of Antimicrobial Chitosan-Silver Nanoparticles Mediated by Reusable Chitosan Fungal Beads. *International Journal of Molecular Sciences*, v. 24, n. 3, 1 fev. 2023.

HERNÁNDEZ-CRUZ, T. M.; LEGORRETA-CASTAÑEDA, A. J.; GARCÍA-GUTIÉRREZ, K.; CARBALLO-SÁNCHEZ, M. P.; GUERRA-SÁNCHEZ, G.;

OLICÓN-HERNÁNDEZ, D. R. Fungal pellets of *Pleurotus ostreatus* and *Rhizopus stolonifer* for biotechnological applications: Characterization and production optimization using Taguchi methodology. *Current Research in Biotechnology*, v. 7, 1 jan. 2024.

HOUBRAKEN, J.; KOCSUBÉ, S.; VISAGIE, C. M.; YILMAZ, N.; WANG, X. C.; MEIJER, M.; KRAAK, B.; HUBKA, V.; BENSCH, K.; SAMSON, R. A.; FRISVAD, J. C. Classification of *Aspergillus*, *Penicillium*, *Talaromyces* and related genera (Eurotiales): An overview of families, genera, subgenera, sections, series and species. *Studies in Mycology*, v. 95, p. 5–169, 1 mar. 2020.

INDIARTO, R.; INDRIANA, L. P. A.; ANDOYO, R.; SUBROTO, E.; NURHADI, B. Bottom–up nanoparticle synthesis: a review of techniques, polyphenol-based core materials, and their Properties. *European Food Research and Technology* Springer Science and Business Media Deutschland GmbH, v. 248, n. 1, 1 jan. 2022.

ISKANDAR, K.; MURUGAIYAN, J.; HALAT, D. H.; HAGE, S. EL; CHIBABHAI, V.; ADUKKADUKKAM, S.; ROQUES, C.; MOLINIER, L.; SALAMEH, P.; DONGEN, M. VAN. Antibiotic Discovery and Resistance: The Chase and the Race. *Antibiotics* MDPI, v. 11, v. 2, 1 fev. 2022.

ISLAM, M. A.; JACOB, M. V.; ANTUNES, E. A critical review on silver nanoparticles: From synthesis and applications to its mitigation through low-cost adsorption by biochar *Journal of Environmental Management*. *Academic Press*, v. 11, n. 2, 1 mar. 2021.

Milne Open Textbooks. *Processes Writing Across Academic Careers* Christopher Iverson. Christopher Iverson. State University of New York at Geneseo, 2023, 224 p.

JAHAN, I.; WANG, Y.; LI, P.; HUSSAIN, S.; SONG, J.; YAN, J. Comprehensive Analysis of *Penicillium Sclerotiorum*: Biology, Secondary Metabolites, and

Bioactive Compound Potential - A Review. *Journal of Agricultural and Food Chemistry American Chemical Society*, v. 72, n. 17, 1 maio 2024.

JHA, D.; RABHA, J. Metabolic Diversity of *Penicillium*. Em: New and Future Developments in Microbial Biotechnology and Bioengineering. 2 out, 2017.

JIANG, Z.; LI, L.; HUANG, H.; HE, W.; MING, W. Progress in Laser Ablation and Biological Synthesis Processes: “Top-Down” and “Bottom-Up” Approaches for the Green Synthesis of Au/Ag Nanoparticles. *International Journal of Molecular Sciences* MDPI, v. 23, n. 14658, 1 dez. 2022.

JUBEH, B.; BREIJYEH, Z.; KARAMAN, R. Resistance of gram-positive bacteria to current antibacterial agents and overcoming approaches. *Molecules* MDPI AG, v. 23, n. 12, 1 jun. 2020.

KAKOULLIS, L.; PAPACHRISTODOULOU, E.; CHRA, P.; PANOS, G. Mechanisms of antibiotic resistance in important gram-positive and gram-negative pathogens and novel antibiotic solutions. *Antibiotics* MDPI, 2021.

KAUR, M.; SINGH, K.; KUMAR, V. Green Synthesis of Silver Nanoparticles Using *Penicillium camemberti* and its Biological Applications. *BioNanoScience*, 1 dez. 2024.

KAUR, R.; KAUR, J.; KAUR, M.; KALOTRA, V.; CHADHA, P.; KAUR, A.; KAUR, A. An endophytic *Penicillium oxalicum* isolated from Citrus limon possesses antioxidant and genoprotective potential. *Journal of Applied Microbiology*, v. 128, n. 5, p. 1400–1413, 1 maio 2020.

KAZEMIAN, Z.; LARYPOOR, M.; MARANDI, R. Evaluation of myco-leaching potential of valuable metals from spent lithium battery by *Penicillium chrysogenum* and *Aspergillus niger*. *International Journal of Environmental Analytical Chemistry*, v. 103, n. 3, p. 514–527, 2023.

KHAN, F. M.; RASHEED, F.; YANG, Y.; LIU, B.; ZHANG, R. Endolysins: a new antimicrobial agent against antimicrobial resistance. Strategies and opportunities in overcoming the challenges of endolysins against Gram-negative bacteria. *Frontiers in Pharmacology* Frontiers Media SA, v. 11, n. 6, p. 11-30, 1 dec. 2024.

KOZLOVSKY, A. G.; ZHELIFONOVA, V. P.; ANTIPOVA, T. Biologically active metabolites of *Penicillium* fungi. *Signpost Open Access J. Org. Biomol. Cfcem*, v. 1, p. 11–21, 1 jan. 2013.

LACHGUER, K.; MERZOUGUI, S. EL; BOUDADI, I.; LAKTIB, A.; EL CAID, M. BEN; RAMDAN, B.; BOUBAKER, H.; SERGHINI, M. A. Major Phytochemical Compounds, In Vitro Antioxidant, Antibacterial, and Antifungal Activities of Six Aqueous and Organic Extracts of *Crocus sativus* L. Flower Waste. *Waste and Biomass Valorization*, v. 14, n. 5, p. 1571–1587, 1 maio 2023.

LAI, C.; TIAN, D.; ZHENG, M.; LI, B.; JIA, J.; WEI, J.; WU, B.; BI, H.; TANG, J. Novel citrinin derivatives from fungus *Penicillium* sp. TW131-64 and their antimicrobial activities. *Applied Microbiology and Biotechnology*, v. 107, n. 21, p. 6607–6619, 1 nov. 2023.

LAICH, F.; ANDRADE, J. *Penicillium pedernalense* sp. nov., isolated from whiteleg shrimp heads waste compost. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, v. 66, n. 11, p. 4382–4388, 1 nov. 2016.

LIAQAT, N.; JAHAN, N.; KHALIL-UR-RAHMAN; ANWAR, T.; QURESHI, H. Green synthesized silver nanoparticles: Optimization, characterization, antimicrobial activity, and cytotoxicity study by hemolysis assay. *Frontiers in Chemistry*, v. 10, 29 ago. 2022.

LIN, J.; QIN, F.; LIN, Z.; LIN, W.; YOU, M.; XU, L.; HU, L.; CHEN, Y. H. Quantitative Monitoring of Cyclic Glycine - Proline in Marine Mangrove-Derived Fungal Metabolites. *Journal of Fungi*, v. 10, n. 11, 1 nov. 2024.

LINDSAY, C. A.; KINGHORN, A. D.; RAKOTONDRAIBE, H. L. Bioactive and unusual steroids from *Penicillium* fungi. *Phytochemistry*, v. 209, 1 maio 2023.

LIU, X.; LI, R.; CHEN, R.; CHEN, Y.; ZENG, A.; DENG, Y.; MA, J.; CHEN, M. Formation of filamentous fungal pellets in aerobic granular sludge via reducing temperature and dissolved oxygen: Characteristics of filamentous fungi and denitrification performance. *Bioresource Technology*, v. 332, n. January, p. 125056, 2021.

LOPEZ-MORENO, M.; SABATER-MUÑOZ, B.; IGLESIAS-LÓPEZ, M. T.; MIGUEL-CASTRO, M.; GARCÉS-RIMÓN, M. Red Quinoa hydrolysates with antioxidant bioactive properties on oxidative stress-induced *Saccharomyces cerevisiae*. *LWT*, v. 184, 15 jul. 2023.

MAGDY, G.; ABOELKASSIM, E.; ABD ELHALEEM, S. M.; BELAL, F. A comprehensive review on silver nanoparticles: Synthesis approaches, characterization techniques, and recent pharmaceutical, environmental, and antimicrobial applications. *Microchemical Journal* Elsevier Inc., v. 196, n. 109615 1 jan. 2024.

MEINI, M. R.; CABEZUDO, I.; GALETTO, C. S.; ROMANINI, D. Production of grape pomace extracts with enhanced antioxidant and prebiotic activities through solid-state fermentation by *Aspergillus niger* and *Aspergillus oryzae*. *Food Bioscience*, v. 42, 1 ago. 2021.

MEJÍA-MÉNDEZ, J. L.; LÓPEZ-MENA, E. R.; SÁNCHEZ-ARREOLA, E. Activities against Lung Cancer of Biosynthesized Silver Nanoparticles: A Review. *Biomedicines* MDPI, v. 11, n. 2, 1 fev. 2023.

MIYAZAWA, K.; UMEYAMA, T.; HOSHINO, Y.; ABE, K.; MIYAZAKI, Y. Quantitative Monitoring of Mycelial Growth of *Aspergillus fumigatus* in Liquid Culture by Optical Density. *Microbiology Spectrum*, v. 10, n. 1, 2022.

MOLELEKOA, T. B. J.; REGNIER, T.; SILVA, L. S. DA; AUGUSTYN, W. Production of pigments by filamentous fungi cultured on agro-industrial by-products using submerged and solid-state fermentation methods. *Fermentation*, v. 7, n. 4, 1 dez. 2021.

MUHAMMAD, M.; AHMAD, J.; BASIT, A.; MOHAMED, H. I.; KHAN, A.; KAMEL, E. A. R. Chapter 18 - Antimicrobial activity of *Penicillium* species metabolites. *Em*: ABD-ELSALAM, K. A.; MOHAMED, H. I. (Eds.). *Fungal Secondary Metabolites*. [s.l.] Elsevier, 2024. p. 369–383.

MÜLLER, H.; BARTHEL, L.; SCHMIDEDER, S.; SCHÜTZE, T.; MEYER, V.; BRIESEN, H. From spores to fungal pellets: A new high-throughput image analysis highlights the structural development of *Aspergillus niger*. *Biotechnology and Bioengineering*, v. 119, n. 8, p. 2182–2195, 1 ago. 2022.

MURRAY, C. J. *et al.* Global burden of bacterial antimicrobial resistance in 2019: a systematic analysis. *The Lancet*, v. 399, n. 10325, p. 629–655, 12 fev. 2022.

MUSTAFA, H. K.; ANWER, S. S.; ZRARY, T. J. Influence of pH, agitation speed, and temperature on growth of fungi isolated from Koya, Iraq. *Kuwait Journal of Science*, v. 50, n. 4, p. 657–664, 1 out. 2023.

MUSTAPHA, T.; MISNI, N.; ITHNIN, N. R.; DASKUM, A. M.; UNYAH, N. Z. A Review on Plants and Microorganisms Mediated Synthesis of Silver Nanoparticles, Role of Plants Metabolites and Applications. *International Journal of Environmental Research and Public Health* MDPI, v. 19, n. 2, 1 jan. 2022.

NAGIME, P. V.; SYUKRI, D. M.; SJAHRANI, T.; HERMAWAN, D.; SHAIKH, N. M.; SHAFI, S.; CHIDRAWAR, V. R.; SINGH, S.; KAUSAR, N.; ELAMIN, A. Phyto-mediated biosynthesis of silver nanoparticles using *Aloe barbadensis* Miller leaves gel with improved antibacterial, anti-fungal, antioxidant, anti-inflammatory, anti-diabetic, and anti-cancer activities. *Nano-Structures and Nano-Objects*, v. 40, 1 dez. 2024.

NAVEEN, K. V.; SATHIYASEELAN, A.; MARIADOSS, A. V. A.; XIAOWEN, H.; SARAVANAKUMAR, K.; WANG, M. H. Fabrication of mycogenic silver nanoparticles using endophytic fungal extract and their characterization, antibacterial and cytotoxic activities. *Inorganic Chemistry Communications*, v. 128, 1 jun. 2021.

NAWROT-CHORABIK, K.; SUŁKOWSKA, M.; GUMULAK, N. Secondary Metabolites Produced by Trees and Fungi: Achievements So Far and Challenges Remaining. *Forests* MDPI, v. 13, n. 8, 1 ago. 2022.

NÓBREGA, J. P.; NASCIMENTO BARBOSA, R. DO; LIMA, J. M. DA S.; MEDEIROS BENTO, D. DE; SOUZA-MOTTA, C. M. DE; MELO, R. F. R. Six new *Penicillium* species in the section *Lanata-Divaricata* from a cave in Amazon rainforest, Brazil. *Mycological Progress*, v. 23, n. 1, 1 dez. 2024.

NOMAN, E.; AL-GHEETHI, A.; SAPHIRA RADIN MOHAMED, R. M.; TALIP, B.; OTHMAN, N.; HOSSAIN, S.; VO, D. V. N.; ALDUAIS, N. Inactivation of fungal spores from clinical environment by silver bio-nanoparticles; optimization, artificial neural network model and mechanism. *Environmental Research*, v. 204, 1 mar. 2022.

NOSALJ, S.; JESENÁK, K.; ŠIMONOVÍČOVÁ, A.; HUDEC, P. Impact of inorganic powder additives on the size and morphology of pellets of the microscopic filamentous fungus *aspergillus niger*. *Nova Biotechnologica et Chimica*, v. 20, n. 1, 23 jun. 2021.

OGAWA, M.; MORENO-GARCÍA, J.; BARZEE, T. J. Filamentous fungal pellets as versatile platforms for cell immobilization: developments to date and future perspectives. *Microbial Cell Factories*, v. 23, n. 1, 1 dez. 2024.

PANGGING, M.; NGUYEN, T. T. T.; LEE, H. B. Seven New Records of *Penicillium* Species Belonging to Section *Lanata-Divaricata* in Korea. *Mycobiology*, v. 49, n. 4, p. 363–375, 2021.

POBIEGA, K. *et al.* Fungal Proteins: Sources, Production and Purification Methods, Industrial Applications, and Future Perspectives. *Applied Sciences*, v. 14, n. 14, p. 6259, 18 jul. 2024.

PRAMISANDI, A. *et al.* Gentisyl alcohol and homogentisic acid: Plasmodium falciparum dihydroorotate dehydrogenase inhibitors isolated from fungi. *Journal of General and Applied Microbiology*, v. 67, n. 3, p. 114–117, 2021.

PRUDÊNCIO DE SOUZA, E. R.; CONCEIÇÃO BRAZ, M. V. DA; NORA CASTRO, R.; DIAS PEREIRA, M.; JORGE RIGER, C. Influence of microbial fermentation on the antioxidant activity of phenolic substances in *Saccharomyces cerevisiae*. *Journal of Applied Microbiology*, v. 134, n. 8, 1 ago. 2023.

PRYSHCHEPA, O.; POMASTOWSKI, P.; BUSZEWSKI, B. Silver nanoparticles: Synthesis, investigation techniques, and Properties. *Advances in Colloid and Interface Science Elsevier B.V.* v. 284, n. 102246, 1 out. 2020.

RAJOKA, M. S. R.; THIRUMDAS, R.; MEHWISH, H. M.; UMAIR, M.; KHURSHID, M.; HAYAT, H. F.; PHIMOLSIRIPOL, Y.; PALLARÉS, N.; MARTÍ-QUIJAL, F. J.; BARBA, F. J. Role of food antioxidants in modulating gut microbial communities: Novel understandings in intestinal oxidative stress damage and their impact on host health. *Antioxidants MDPI*, v. 10, n. 1563, 1 out. 2021.

RĂUT, I.; CONSTANTIN, M.; ȘUICĂ-BUNGHEZ, R.; FIRINCĂ, C.; ALEXANDRESCU, E.; GÎFU, I. C.; DONI, M.; ZAMFIR, L. G.; GURBAN, A. M.; JECU, L. Extracellular Biosynthesis, Characterization and Antimicrobial Activity of Silver Nanoparticles Synthesized by Filamentous Fungi. *Journal of Fungi*, v. 10, n. 11, 1 nov. 2024.

REVERBERI, A. PIETRO; VOCCIANTE, M.; SALERNO, M.; SODA, O.; FABIANO, B. A sustainable, top-down mechanosynthesis of carbohydrate-functionalized silver nanoparticles. *Reaction Chemistry and Engineering*, v. 7, n. 4, p. 888–897, 4 jan. 2022.

ROSHKA, Y. A.; MARKELOVA, N. N.; MASHKOVA, S. D.; MALYSHEVA, K. V.; GEORGIEVA, M. L.; LEVSHIN, I. B.; POLSHAKOV, V. I.; ARUTYUNIAN, A. M.; VASILCHENKO, A. S.; SADYKOVA, V. S. Antimicrobial Potential of Secalonic Acids from Arctic-Derived *Penicillium chrysogenum* INA 01369. *Antibiotics*, v. 14, n. 1, 1 jan. 2025.

ROUSTA, N.; HELLWIG, C.; WAINAINA, S.; LUKITAWESA, L.; AGNIHOTRI, S.; ROUSTA, K.; TAHERZADEH, M. J. Filamentous fungus *aspergillus oryzae* for food: From submerged cultivation to fungal burgers and their sensory evaluation—a pilot study. *Foods*, v. 10, n. 11, 1 nov. 2021.

RUDRAPPA, M.; KUMAR, R. S.; NAGARAJA, S. K.; HIREMATH, H.; GUNAGAMBHIRE, P. V.; ALMANSOUR, A. I.; PERUMAL, K.; NAYAKA, S. Myco-Nanofabrication of Silver Nanoparticles by *Penicillium brasilianum* NP5 and Their Antimicrobial, Photoprotective and Anticancer Effect on MDA-MB-231 Breast Cancer Cell Line. *Antibiotics*, v. 12, n. 3, 1 mar. 2023.

RUMPF, J.; BURGER, R.; SCHULZE, M. Statistical evaluation of DPPH, ABTS, FRAP, and Folin-Ciocalteu assays to assess the antioxidant capacity of lignins. *International Journal of Biological Macromolecules*, v. 233, 1 abr. 2023.

SANTOS, T. S.; SILVA, T. M.; CARDOSO, J. C.; ALBUQUERQUE-JÚNIOR, R. L. C. DE; ZIELINSKA, A.; SOUTO, E. B.; SEVERINO, P.; MENDONÇA, M. DA C. Biosynthesis of silver nanoparticles mediated by entomopathogenic fungi: Antimicrobial resistance, nanopesticides, and toxicity. *Antibiotics MDPI*, v. 10, n. 852, 1 jul. 2021.

SAWANT, A. M.; NVALE, V. D.; VAMKUDOTH, K. R. Isolation and Molecular Characterization of Indigenous *Penicillium chrysogenum*/rubens Strain Portfolio for Penicillin V Production. *Microorganisms*, v. 11, n. 5, 1 maio 2023.

SCHRAMM, M.; FRIEDRICH, S.; SCHMIDTKE, K. U.; KIEBIST, J.; PANZER, P.; KELLNER, H.; ULLRICH, R.; HOFRICHTER, M.; SCHEIBNER, K. Cell-Free

Protein Synthesis with Fungal *Lysates* for the Rapid Production of Unspecific Peroxygenases. *Antioxidants*, v. 11, n. 2, 1 fev. 2022.

SENANAYAKE, I. C. Predicting global numbers of teleomorphic ascomycetes. *Fungal Diversity* Springer Science and Business Media B.V.,v.114, p. 237–278 1 maio 2022.

SERWECIŃSKA, L. Antimicrobials and antibiotic-resistant bacteria: A risk to the environment and to public health. *Water (Switzerland)*, v. 12, n. 12, 1 dez. 2020. SHAABAN, R.; ELNAGGAR, M. S.; KHALIL, N.; SINGAB, A. N. B. A comprehensive review on the medicinally valuable endosymbiotic fungi *Penicillium chrysogenum*. *Archives of Microbiology*, v. 205, n. 6, 1 jun. 2023.

SHINDE, U. A.; WARRIER, D. U.; BHAGWAT, P. M.; VASANI, H. S.; DESAI, H. R.; SINGH, K. H. 19 - Silver nanoparticles in brain tumor targeting. *Em: KUMAR, L.; PATHAK, Y. Y. (Eds.). Nanocarriers for Drug-Targeting Brain Tumors*. Elsevier, 2022. p. 527–562.

SIKANDAR, A.; ZHANG, M.; WANG, Y.; ZHU, X.; LIU, X.; FAN, H.; XUAN, Y.; CHEN, L.; DUAN, Y. Mycochemical Screening and Analysis, Antioxidant Activity, and Biochemical Composition of Fermentation Strain Snef1216 (*Penicillium chrysogenum*). *Journal of Analytical Methods in Chemistry*, v. 2020, 2020.

SILVA TIRONI, L.; BARBOSA MOREIRA, D. M.; DIAS BRUZADELLI, R. F.; GILBERTO FERREIRA, A.; SCHRIPSEMA, J.; HORTOLAN LUIZ, J. H. Antioxidant Potential and Chemical Evaluation of Extracts from Endophytic Fungus *Lasiodiplodia* sp. *Chemistry and Biodiversity*, 1 jan. 2024.

SIVALINGAM, A. M.; PANDIAN, A.; RENGARAJAN, S.; RAMASUBBU, R.; PARASURAMAN, G.; SUGUMAR, V.; DUTTA, R.; DEVARAJ, N. Extraction, biosynthesis, and characterization of silver nanoparticles for its enhanced applications of antibacterial activity using the *Silybum marianum* Linn. plant. *Biomass Conversion and Biorefinery*, v. 14, p. 30227–30238, 1 dez. 2023.

SOLEIMANI, P.; MEHRVAR, A.; MICHAUD, J. P.; VAEZ, N. Optimization of silver nanoparticle biosynthesis by entomopathogenic fungi and assays of their antimicrobial and antifungal properties. *Journal of Invertebrate Pathology*, v. 190, 1 maio 2022.

SONBOL, H.; MOHAMMED, A. E.; KORANY, S. M. Soil Fungi as Biomediator in Silver Nanoparticles Formation and Antimicrobial Efficacy. *International Journal of Nanomedicine*, v. 17, p. 2843–2863, 2022.

TAHER, M. A.; KHOJAH, E.; DARWISH, M. S.; ELSHERBINY, E. A.; ELAWADY, A. A.; DAWOOD, D. H. Biosynthesis of Silver Nanoparticles by *Polysaccharide* of *Leucaena leucocephala* Seeds and Their Anticancer, Antifungal Properties and as Preservative of Composite Milk Sample. *Journal of Nanomaterials*, v. 2022, 2022.

THOMAS, S.; GONSALVES, R. A.; JOSE, J.; ZYLOUD, S. H.; PRASAD, A. R.; GARVASIS, J. Plant-based synthesis, characterization approaches, applications and toxicity of silver nanoparticles: A comprehensive review. *Journal of Biotechnology Elsevier B.V.*, v. 304, p. 135-149, 10 nov. 2024.

TOGHUEO, R. M. K.; BOYOM, F. F. Endophytic *Penicillium* species and their agricultural, biotechnological, and pharmaceutical applications. *3 Biotech Springer*, v.10, p.107 1 mar. 2020.

TORTELLA, G. R.; RUBILAR, O.; DURÁN, N.; DIEZ, M. C.; MARTÍNEZ, M.; PARADA, J.; SEABRA, A. B. Silver nanoparticles: Toxicity in model organisms as an overview of its hazard for human health and the environment. *Journal of Hazardous Materials Elsevier B.V.*, v. 390, p. 0304-3894, 15 maio 2020.

TWOMEY, E.; O'CONNOR, P. M.; COFFEY, A.; KISTE, M.; GUINANE, C. M.; HILL, C.; FIELD, D.; BEGLEY, M. Inhibition of Clinical MRSA Isolates by Coagulase Negative *Staphylococci* of Human Origin. *Antibiotics*, v. 13, n. 4, 1 abr. 2024.

VANLALVENI, C.; RALTE, V.; ZOHMINGLIANA, H.; DAS, S.; ANAL, J. M. H.; LALLIANRAWNA, S.; ROKHUM, S. L. A review of microbes mediated biosynthesis of silver nanoparticles and their enhanced antimicrobial activities. *Heliyon* Elsevier Ltd, v. 10, n. e32333, 15 jun. 2024.

VATNER, S. F.; ZHANG, J.; OYDANICH, M.; BERKMAN, T.; NAFTALOVICH, R.; VATNER, D. E. Healthful aging mediated by inhibition of oxidative stress. *Ageing Research Reviews*. Elsevier Ireland Ltd, v. 64, p. 1568-1637, 1 dez. 2020.

VELIČKOVIĆ, I.; ŽIŽAK, Ž.; RAJČEVIĆ, N.; IVANOV, M.; SOKOVIĆ, M.; MARIN, P.; GRUJIĆ, S. Examination of the polyphenol content and bioactivities of *Prunus spinosa* L. fruit extracts. *Archives of Biological Sciences*, v. 72, n. 1, p. 105–115, 2020.

VINAYAGAM, R.; NAGENDRAN, V.; GOVEAS, L. C.; NARASIMHAN, M. K.; VARADAVENKATESAN, T.; CHANDRASEKAR, N.; SELVARAJ, R. Structural characterization of *marine macroalgae* derived silver nanoparticles and their colorimetric sensing of hydrogen peroxide. *Materials Chemistry and Physics*, v. 313, 1 fev. 2024.

WALUYO, D. *et al.* Exploring natural microbial resources for the discovery of anti-malarial compounds. *Parasitology International*, v. 85, 1 dez. 2021.

WANG, J.; HUANG, Z.; JIANG, Q.; ROUBÍK, H.; XU, Q.; GHARSALLAOUI, A.; CAI, M.; YANG, K.; SUN, P. Fungal solid-state fermentation of crops and their by-products to obtain protein resources: The next frontier of food industry. *Trends in Food Science and Technology* Elsevier Ltd, v. 138, p. 628–644, 1 ago. 2023.

WILSON, A. M.; GABRIEL, R.; SINGER, S. W.; SCHUERG, T.; WILKEN, P. M.; NEST, M. A. VAN DER; WINGFIELD, M. J.; WINGFIELD, B. D. Doing it alone: Unisexual reproduction in filamentous ascomycete fungi. *Fungal Biology Reviews* Elsevier Ltd, v. 35, p. 1749-4613, 1 mar. 2021.

XU, J. *et al.* Biosynthesis, characterization, and investigation of antimicrobial and cytotoxic activities of silver nanoparticles using *Solanum tuberosum* peel aqueous extract. *Heliyon*, v. 9, n. 8, 1 ago. 2023.

XU, L.; WANG, Y. Y.; HUANG, J.; CHEN, C. Y.; WANG, Z. X.; XIE, H. Silver nanoparticles: Synthesis, medical applications and biosafety. *Theranostics* Ivyspring International Publisher, v. 10, n. 20, p. 8996-9031, 2020.

YANG, H.; ZHAO, D.; WANG, S.; YANG, L.; HUANG, J.; ZHANG, Z.; LI, S. A study on the antibacterial activity and antimicrobial resistance of pyridinium cationic pillararene against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*. *International Microbiology*, v. 26, n. 1, p. 59–68, 1 jan. 2023.

YASSIN, M. A.; ELGORBAN, A. M.; EL-SAMAWATY, A. E. R. M. A.; ALMUNQEDHI, B. M. A. Biosynthesis of silver nanoparticles using *Penicillium verrucosum* and analysis of their antifungal activity. *Saudi Journal of Biological Sciences*, v. 28, n. 4, p. 2123–2127, 1 abr. 2021.

YUNianto, P.; RUSMAN, Y.; SAEPUdIN, E.; SUWARSO, W.; SUMARyONO, W. Alkaloid (*Meleagrine* and *Chrysogine*) from Endophytic Fungi (*Penicillium* sp.) of *Annona squamosa* L. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, v. 17, p. 667–674, 1 maio 2014.

ZAKARIYA, N. A.; MAJEED, S.; JUSOF, W. H. W. Investigation of antioxidant and antibacterial activity of iron oxide nanoparticles (IONPS) synthesized from the aqueous extract of *Penicillium* spp. *Sensors International*, v. 3, 1 jan. 2022.

ZEHRA, S. H.; RAMZAN, K.; VISKElIS, J.; VISKElIS, P.; BALCIUNAITIENE, A. Advancements in Green Synthesis of Silver-Based Nanoparticles: Antimicrobial and Antifungal Properties in Various Films. *Nanomaterials* Multidisciplinary Digital Publishing Institute (MDPI), v. 15, n. 252, 1 fev. 2025.

ZHANG, C.; LAIPAN, M.; ZHANG, L.; YU, S.; LI, Y.; GUO, J. Capturing effects of filamentous fungi *Aspergillus flavus* ZJ-1 on microalgae *Chlorella vulgaris* WZ-

1 and the application of their co-integrated fungi-algae pellets for Cu(II) adsorption. *Journal of Hazardous Materials*, v. 442, 15 jan. 2023.

ZHANG, X.; LIU, H.; ZHANG, M.; CHEN, W.; WANG, C. Enhancing *Monascus* Pellet Formation for Improved Secondary Metabolite Production. *Journal of Fungi*, v. 9, n. 11, 2023.

ZHU, C. Y.; LUO, Q.; ZHANG, Z. W.; LI, Y. P.; HAN, D.; YAN, Y. M. Discovery of metabolite from the insect-derived endophytic *Penicillium chrysogenum* and their COX-2 inhibitory activity. *Fitoterapia*, v. 179, 1 dez. 2024.

ZHU, Y.; HUANG, W. E.; YANG, Q. Clinical Perspective of Antimicrobial Resistance in Bacteria. *Infection and Drug Resistance* Dove Medical Press Ltd, v.15, p. 735–746, 2022.

ZULFIQAR, Z.; KHAN, R. R. M.; SUMMER, M.; SAEED, Z.; PERVAIZ, M.; RASHEED, S.; SHEHZAD, B.; KABIR, F.; ISHAQ, S. Plant-mediated green synthesis of silver nanoparticles: Synthesis, characterization, biological applications, and toxicological considerations: A review. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology* Elsevier Ltd, v. 57, n. 103121, p. 1878-8181, 1 abr. 2024.