



ANAIIS DO EVENTO



IV CONGRESSO BRASILEIRO DE
BIOTECNOLOGIA
ON-LINE

ORGANIZAÇÃO

Instituto Multiprofissional de Ensino - IME
CNPJ 36.773.074/0001-08

PARCEIROS

Editora Integrar
Associação Brasileira de Educação a Distância - ABED

COMISSÃO CIENTÍFICA

Alana Caise dos Anjos Miranda
Alberto Andrade Leite
Anderson Moraes Da Silva
André Henrique Araújo Reis
Andrezza do Espírito Santo Cucinelli
Breno Xavier Gonçalves
Cibele Diogo Pagliarini
Denise dos Santos Vila Verde
Iaquine Santos da Silva
Juliana Viana Barbosa De Souza
Karina Midori Endo
Manassés dos Santos Silva
Marcos William de Lima Gualque
Maria Aurea Soares de Oliveira
Mariana Conceição Menezes
Matheus Torres Branca
Paulo Ricardo Conceição Marques Trindade
Renan Diniz Ferreira
Vandbergue Santos Pereira



EDITORA INTEGRAR

A Editora Integrar é a editora vinculada ao **IV Congresso Brasileiro de Biotecnologia On-line - CONBIOTEC (IV CONBIOTEC)** atuando na publicação dos anais do respectivo evento. A Editora Integrar tem como objetivo difundir de forma democrática o conhecimento científico, portanto, promovemos a publicação de artigos científicos, anais de congressos, simpósios e encontros de pesquisa, livros e capítulos de livros, em diversas áreas do conhecimento.

Os anais do **IV CONBIOTEC** estão publicados na **Revista Multidisciplinar de Educação e Meio Ambiente** (ISSN: 2675-813X), correspondente ao volume 5, número 2, do ano de 2024.

APRESENTAÇÃO

O IV Congresso Brasileiro de Biotecnologia On-line - CONBIOTEC, organizado pelo Instituto Multiprofissional de Ensino LTDA (IME), será realizado nos 18 a 21 de Março de 2024. É considerado como um evento de caráter técnico-científico, com o objetivo de proporcionar a você profissional e estudante da área da Biotecnologia uma grande oportunidade de atualizar e difundir seus conhecimentos, a fim de estimular o pensamento científico e discutir temas relevantes na área. O IV CONBIOTEC também contou com um espaço para apresentação de trabalhos científicos e publicações de resumos nos anais do evento.

PROGRAMAÇÃO

Dia 18 de março de 2024

Palestras:

- 08:00 - Abertura do Evento
- 09:00 - Biotecnologia e a indústria de cosméticos – Beatriz Kopke de Assis Dal-Cheri
- 10:00 - Modificações Moleculares e Celulares na Genética Relacionadas ao Desenvolvimento do Câncer - Tuani Marostica
- 11:00 - Biocombustíveis: Evolução, Biotecnologias de Produção e Desafios - Jéssica Pereira de Matos
- 12:00 - A cultura de células in vitro como suporte para Pesquisa, Desenvolvimento e Inovação - Eduarda Rocha de Oliveira
- 13:00 - O papel da biotecnologia no desenvolvimento de vacinas recombinantes para a prevenção da diarreia infantil - Halyka Luzório Franzotti Vasconcellos Seródio
- 14:00 - Engenharia de tecidos: biomateriais e suas aplicações - Marizia Trevizani
- 15:00 - Melhoramento Genético na Aquicultura: Avanços e Perspectivas Baseados em Pesquisas e Evidências Científicas - Diana Carla Fernandes Oliveira

Dia 19 de março de 2024

Palestras:

- 08:00 - Biotecnologia da Reprodução: ferramentas aplicadas para o estudo da competência e metabolismo embrionário - Kelly Annes
- 09:00 - Nanopartículas poliméricas no reposicionamento de fármacos - Brenda Oliveira de Abreu
- 10:00 - O notável potencial biotecnológico dos fungos: por que não é amplamente discutido no âmbito acadêmico? - Ana Carolina do Prado
- 11:00 - Da Biomassa ao Biofuturo: Inovações em Biotecnologia para a Transição Energética e Valorização de Resíduos Agroindustriais Ana Lúcia Barbosa de Souza
- 12:00 - Biotecnologia Alimentar e a Bioquímica do Cérebro: Conexões e Potencialidades - Eliana Costa dos Santos

- 13:00 - Avanços Promissores na Terapia Gênica: Da Edição de Genes à Cura de Doenças Hereditárias - Roberta Sessa Stilhano Yamaguchi
- 14:00 - Métodos Biotecnológicos para a conservação de plantas - Milena Gaion Malosso
- 15:00 - Bioeconomia na Amazônia: o Potencial de bioprodutos Marajoaras - Gabriel Araújo de Jesus

Dia 20 de março de 2024

Palestras:

- 08:00 - Biotecnologia na prospecção de bactérias com potencial probiótico - Larissa Andréia Ferreira Sampaio
- 09:00 - Explorando Possibilidades e Futuros Potenciais na Geração de Energia a partir da Fração Orgânica dos Resíduos Sólidos Urbanos - Márcia Aparecida Silva
- 10:00 - Jornada Tecnológica: Navegando pelas Ondas da Inteligência Artificial e Biotecnologia - Iaquine Santos da Silva
- 12:00 - Vacina de DNA como imunoterapia para o câncer do colo do útero - Ione Ferreira
- 13:00 - Metagenômica de Solo na busca por microrganismos não convencionais de potencial biotecnológico para uso na agricultura brasileira- Carlos Emanuel Vieira Flores Soares
- 14:00 - Biotecnologia vegetal na conservação da biodiversidade - Joanne Moraes de Melo Souza
- 15:00 - Importância da Conservação de Cactáceas no cultivo In Vitro - Maria das Graças Rodrigues do Nascimento

Dia 21 de março de 2024

Palestras:

- 08:00 - Biomateriais: a ciência que há por trás dos implantes - Haroldo Reis Alves de Macêdo
- 09:00 - Biossíntese de nanopartículas de prata aplicadas ao meio ambiente - Micheline Thais dos Santos
- 10:00 - Aplicação de resíduos agroindustriais na Biotecnologia para o desenvolvimento da produção de enzimas através de micro-organismos - Thiago Pajeú Nascimento
- 12:00 - Estratégias de Isolamento e Aprimoramento genético clássico de leveduras para bioprocessos - Elisângela de Souza Miranda Muynarsk
- 13:00 - Modulação epigenética como ferramenta de exploração dos metabólitos silenciados em genomas de microrganismos - Tiago da Silva Araújo
- 14:00 - Biotecnologia na agricultura: uso de substâncias húmicas e microrganismos para promoção do crescimento vegetal - Lívia da Silva Lima
- 15:00 - Encerramento do Evento -- Comissão Organizadora



ADOÇÃO DE TECNOLOGIAS DIGITAIS NO ENSINO DE CIÊNCIAS E BIOLOGIA

CELMA CARDOSO PEIXOTO

Introdução: Na educação contemporânea, tanto professores quanto alunos estão dentro de um contexto de utilização de tecnologias digitais, sendo que a inserção cada vez maior destas tecnologias nas instituições de ensino tem se mostrado uma demanda dos estudantes e do próprio ordenamento legal da educação. A formação do docente no que diz respeito a utilização e a adoção das tecnologias digitais na prática do ensino é uma importante questão para a Educação Básica nos dias atuais. Cabe ao professor o relevante papel de buscar intervenções e estratégias didáticas diversificadas, que aprimorem a criatividade, a criticidade, a comunicação, a investigação e despertem no aluno a vontade intensa de adquirir conhecimentos. **Objetivo:** Neste sentido, o presente trabalho teve como objetivo analisar e discutir informações obtidas de diversos trabalhos de pesquisa direcionados à formação dos professores de Ciências e Biologia em relação ao uso e adoção das tecnologias digitais na prática docente. Considerou-se também neste estudo o ensino-aprendizagem e a aplicabilidade das tecnologias com os alunos da Educação Básica. **Material e Métodos:** Utilizou-se a metodologia de pesquisa bibliográfica a qual consiste em um conjunto de informações e dados, sobre um determinado tema, contidos em documentos impressos, artigos, dissertações, livros publicados dentre outros. **Resultados:** Foi possível notar que as tecnologias digitais nas suas mais variadas formas, tem favorecido a aprendizagem de Ciências e Biologia por parte dos alunos, pelo fato de terem amplo potencial para promover a educação, aproximando o ensino da realidade dos discentes. **Conclusão:** Porém, ainda há necessidade de atualização constante nos cursos de formação de professores no que diz respeito a adoção de tecnologias digitais em sala de aula.

Palavras-chave: Educação básica, Professor, Aluno, Aprendizado, Ferramentas digitais.



A IMPORTÂNCIA DA BIOTECNOLOGIA NO DIAGNÓSTICO PRECOCE DA HIPERTERMIA MALIGNA: UMA INOVAÇÃO TECNOLÓGICA

ANA BEATRIZ AGUIAR ANTÔNIO

Introdução: A Hipertermia Maligna (HM) é uma síndrome metabólica rara de caráter autossômico dominante associada a uma mutação do gene RYR1 cuja reação é associada à exposição de agentes gatilho como anestésicos à base de gases halogenados. Devido à sua natureza assintomática, o diagnóstico precoce é crucial para o tratamento e prevenção. A biotecnologia vem desempenhando papel ativamente importante nesse diagnóstico, promovendo inovações promissoras para entender seus mecanismos e assim desenvolver estratégias terapêuticas eficazes utilizando métodos de sequenciamento do gene RYR1, reconhecendo, assim, suas mutações. **Objetivo:** Esse estudo tem como objetivo revisar o papel da biotecnologia no diagnóstico, tratamento e compreensão da HM trabalhando em conjunto com seus avanços e perspectivas futuras, além de promover o acesso ao conhecimento de uma doença ainda pouco conhecida e estudada nas diversas áreas da saúde. **Metodologia:** Foi realizada uma revisão de artigos científicos disponíveis em fontes como SciELO, Pubmed-NCBI usando as palavras-chave “malignant hyperthermia” e “new generation sequencing”, selecionando estudos sobre os métodos diagnósticos da doença e abordagens terapêuticas. **Resultados:** A biotecnologia vem desempenhando um papel crucial no avanço da compreensão da HM. O Sequenciamento de Nova Geração (NGS) permite a identificação de mutações no gene RYR1, observando também sua variabilidade genética, fornecendo alternativas mais econômicas, mais rápidas e com alto rendimento na descoberta de variantes em todo o nível do genoma. O NGS pode ser utilizado para sequenciar o exoma completo, sendo essa a opção preferida para a detecção de variantes. Devido ao grande tamanho do gene RYR1, é de suma importância saber identificar a patogenicidade de uma variante específica para seu diagnóstico e prevenção. Além disso, a terapia gênica pode ser apontada como promissora no tratamento da HM, buscando solucionar a mutação do gene RYR1 futuramente. **Conclusão:** A biotecnologia oferece uma abordagem multifacetada, eficaz, econômica e moderna para buscar a solução dos desafios da HM, desde o diagnóstico precoce até o desenvolvimento de terapias gênicas que podem futuramente garantir um melhor prognóstico. Os avanços na área têm importância na compreensão dos mecanismos, facilitando o desenvolvimento de alternativas terapêuticas.

Palavras-chave: Hipertermia maligna, Biotecnologia, Ngs, Diagnóstico, Mutações.



A IMUNOTERAPIA BASEADA NA VACINA DE MRNA COMO ALTERNATIVA PARA O TRATAMENTO DAS NEOPLASIAS

BRUNO DE LUCAS BARROS DA SILVA

Introdução: O câncer é uma doença multifatorial, capaz de atingir diferentes tecidos, cujas características mais comuns são o crescimento anormal e patológico de células, com potencial de invasão de outras partes do corpo, e é uma das principais causas de morbidade e mortalidade no mundo. De forma análoga, uma estratégia terapêutica inovadora, baseada em vacinas de RNA mensageiro (mRNA), eliminou tumores de colo de útero induzidos pelo papilomavírus humano (HPV) em pesquisa do Instituto de Ciências Biomédicas (ICB) da universidade de São Paulo (USP). As vacinas levam informação genética de uma proteína do vírus, que ativa células de defesa capazes de reconhecer e destruir os tumores, além de impedir seu retorno. **Objetivo:** Esta pesquisa busca mostrar métodos eficazes que auxiliem o tratamento do câncer, como a vacina de mRNA. **Matérias e métodos:** Foi realizado uma revisão bibliográfica narrativa que integrou artigos nacionais e internacionais em inglês de 2022 e 2023 indexados em bases de dados online PubMed, SciELO e Genbank. **Resultados:** Os resultados positivos apresentados pelas primeiras vacinas aprovadas por autoridades sanitárias estrangeiras têm implicações que vão muito além do combate da pandemia da Covid-19, a eficácia comprovada da inédita tecnologia de RNA mensageiro usada nesses produtos marca o início de uma nova era na fabricação de imunizantes e abre caminho para tratamentos inovadores contra câncer, problemas cardíacos e várias doenças infecciosas. As vacinas de mRNA representam uma revolução tecnológica e empregam a informação genética do patógeno como princípio ativo, a vacina de mRNA em combinação com um anticorpo usado na imunoterapia contra o câncer chamado de Keytruda reduziu o risco de morte ou recorrência de melanoma em 44% em comparação com a Keytruda sozinha. As moléculas de mRNA são introduzidas em células do organismo que produzem a proteína que desencadeará as respostas imunológicas que conferem proteção para agentes infecciosos e para diferentes tipos de câncer. **Conclusão:** Destarte, as vacinas de mRNA abrem perspectivas para uma nova geração de terapias antitumorais baseadas no princípio de imunização ativa. Dessa forma, imunoterapia baseada em mRNA induz à resposta imunológica de forma ativa e não depende da aplicação sucessiva de moléculas ou células.

Palavras-chave: Vacina de mrna, Câncer, Imunoterapia, Neoplasias, Tratamento do câncer.



ANÁLISE DA ESTABILIDADE CROMOSSÔMICA DAS CÉLULAS TRONCO MESENQUIMAIS DE MEDULA ÓSSEA

ISABELI DO NASCIMENTO MASSON; ISADORA MAY VAZ; VALDEREZ RAVAGLIO JAMUR; THALITA BASTIDA VIEIRA; PAULO ROBERTO SLUD BROFMAN

Introdução: As células-tronco mesenquimais (CTMs) são amplamente conhecidas por serem células adultas fibroblastóides, ainda indiferenciadas e multipotentes. Vêm sendo exploradas como produtos de terapia avançada (PTAs) por suas propriedades imunomoduladoras, baixa imunogenicidade e alta taxa proliferativa. A medula óssea como fonte de células-tronco vem se tornando cada vez mais promissora em diversos tratamentos como em úlceras de pacientes diabéticos, osteoartrite, dentre outros. No entanto, durante o cultivo celular, instabilidades genéticas podem aparecer o que evidencia a necessidade de testes citogenéticos como um método de controle de qualidade. **Objetivos:** Avaliar a manutenção da integridade genômica por análise cromossômica com teste de citogenética convencional por bandeamento G e ensaio de micronúcleo das CTMs de medula óssea pré e pós o cultivo celular. **Materiais e Métodos:** Cinco amostras de CTMs de medula óssea anteriormente criopreservadas foram descongeladas para a realização de testes citogenéticos convencional (bandeamento G) e ensaio de micronúcleo. O bandeamento G permite visualizar alterações numéricas e estruturais por meio da análise de cariogramas. O ensaio de micronúcleo identifica quantitativamente alterações cromossômicas, podendo ser pontes nucleoplasmáticas, brotos ou micronúcleos, consequentes da divisão celular por meio do cálculo do índice de divisão nuclear (IDN). **Resultados:** O teste convencional demonstrou estabilidade cromossômica para quatro das amostras, de modo que apresentaram cariótipo normal 46,XY[20]. De maneira semelhante, o ensaio de micronúcleo também apresentou resultados considerados normais para as mesmas amostras, com IDNs superiores a 1, evidenciando que houve de fato a divisão celular. No entanto, a quinta amostra demonstrou algum tipo de instabilidade em ambas as análises. O teste de bandeamento G apresentou um cariograma com uma falta recorrente do cromossomo 19, enquanto o ensaio de micronúcleo resultou em IDN normal, porém com uma porcentagem de pontes nucleoplasmáticas mais alta se comparada aos demais resultados. **Conclusão:** As CTMs de medula óssea se apresentam como uma ótima possibilidade para serem utilizadas como PTAs, no entanto, ainda são suscetíveis a instabilidades genéticas. Assim, observa-se a importância de testes citogenéticos de controle de qualidade para o desenvolvimento de terapias seguras e eficientes.

Palavras-chave: Células-tronco, Citogenética, Bandeamento g, Teste de micronúcleo, Controle de qualidade.



ANÁLISE DA EXPRESSÃO DO GENE DA PROTEÍNA HP1 E DO ELEMENTO DE TRANSPOSIÇÃO HET-A NA LINHAGEM 6175 DE DROSOPHILA MELANOGASTER EM RESPOSTA À EXPOSIÇÃO CRÔNICA AO HERBICIDA GLIFOSATO

OTÁVIO SILVEIRA RIZZI

Introdução: A crescente demanda por alimentos e o aumento do uso de herbicidas à base de glifosato suscitam questionamentos sobre a sustentabilidade e os potenciais impactos ambientais e na saúde pública desses produtos. Este tema é de particular relevância, dado que o Brasil figura como o maior consumidor desse tipo de herbicida. Além disso, novos indicativos de efeitos adversos aos humanos foram encontrados, o que torna necessário uma fiscalização toxicológica contínua para estabelecer novos limites de segurança. **Objetivo:** O propósito deste estudo é investigar os efeitos do herbicida Roundup Original® na expressão de genes associados à manutenção dos telômeros e ao fenótipo de efeito de posição e variação (PEV) em moscas *Drosophila melanogaster*, com o intuito de estabelecer correlações com os efeitos na modulação epigenética humana. **Metodologia:** No âmbito desta pesquisa, foram analisados os genes Su(var)2-5 e Het-A de 120 moscas por meio da técnica de PCR em tempo real, juntamente com a avaliação das mutações induzidas nos olhos dos animais, visando quantificar a influência do contaminante. **Resultados:** Os achados revelaram uma distinção em relação ao grupo de controle negativo, tanto na análise dos pigmentos oculares quanto na expressão do gene Su(var)2-5 e no elemento de transposição Het-A. **Conclusão:** Os resultados indicam uma possível regulação da expressão gênica provocada pelo glifosato, sugerindo, adicionalmente, que concentrações mais elevadas desse herbicida podem resultar em morte celular. Este estudo contribui para a compreensão dos impactos do glifosato em nível molecular, fornecendo subsídios valiosos para avaliações mais abrangentes sobre os riscos associados ao seu uso.

Palavras-chave: Epigenética, *Drosophila*, Glifosato, Telômero, Roundup.



ANÁLISE IN SILICO DE SEQUÊNCIAS DA PROTEÍNA NÃO-ESTRUTURAL 12 DE SARS-COV-2 ENCONTRADAS EM MANAUS, AMAZONAS, BRASIL, REVELA MUTAÇÕES LIGADAS A MAIOR TRANSMISSIBILIDADE

JULIANE CORRÊA GLÓRIA; FERNANDO BERTON ZANCHI; LUIS ANDRÉ MORAIS MARIÚBA; GABRIEL EDUARDO MELIM FERREIRA; FELIPE GOMES NAVEGA

Introdução: A doença causada pelo coronavírus COVID-19 tem sido a causa de milhões de mortes em todo o mundo. Entre as proteínas do SARS-CoV-2, a proteína não-estrutural 12 (NSP12) desempenha um papel fundamental durante a infecção por COVID e faz parte do complexo RNA polimerase dependente de RNA. O monitoramento dos polimorfismos do NSP12 é de extrema importância para o desenho de novos medicamentos antivirais e monitoramento da evolução do vírus. **Objetivos:** Este estudo analisou as mutações NSP12 detectadas no SARS-CoV-2 circulantes durante os anos de 2020 a 2022 na população da cidade de Manaus, Amazonas, Brasil. **Métodos:** Foram realizados sequenciamentos de nova geração utilizando sequenciador Illumina da plataforma genômica de Instituto Leônidas e Maria Deane-Fiocruz Amazônia. Uma árvore filogenética foi construída para inferir clados utilizando a diversidade nas sequências de aminoácidos NSP12. Modelos de busca, modelagem e análise estrutural do complexo SARS-CoV-2 NSP12-NSP7-NSP8-RNA foram realizados utilizando os softwares Blast, Modeller 10.3, Swiss - PDBViewer v4.1 e UCSF Chimera. As sequências NSP12 do SARS-CoV-2 foram obtidas pelo nosso grupo e o isolado de Wuhan foi obtido do GenBank (NC_045512.2). **Resultados:** As mutações mais frequentes encontradas foram P323L e G671S. Relatos na literatura indicam que essas mutações estão relacionadas à eficiência de transmissibilidade, o que pode ter contribuído para o número extremamente elevado de casos nesta localidade. Além disso, duas mutações aqui descritas (E796D e R914K) são próximas e apresentam RMSD semelhante às mutações M794V e N911K, que foram descritas na literatura como influentes no desempenho da enzima NSP12. **Conclusão:** Estes dados demonstram a necessidade de monitorar o surgimento de novas mutações na NSP12 para melhor compreender as suas consequências nos tratamentos atualmente utilizados e no desenvolvimento de novos medicamentos. Dessa forma, podendo direcionar a implementação de políticas públicas relacionadas ao tratamento em cada região, a partir dos dados de vigilância.

Palavras-chave: Covid-19, Modelagem de estruturas 3d, Nsp12, Sars-cov-2, Polimorfismo.



APLICAÇÃO DO MICROBIOMA BRASILEIRO NO CONTROLE DA PODRIDÃO ABACAXI NA CANA-DE-AÇÚCAR

FABÍOLA RIBEIRO DE OLIVEIRA; CLARISSA HAMAIO OKINO-DELGADO; PAULO TEIXEIRA LACAVA; FERNANDA PERPÉTUA CASCIATORI

Introdução: A podridão abacaxi, doença causada pelo fungo *Ceratocystis paradoxa*, ataca as mudas de cana-de-açúcar no início do desenvolvimento, ocasionando apodrecimento dos tecidos e liberando um odor característico de essência de abacaxi. Como o fitopatógeno permanece no solo o contato com fungicidas químicos é dificultado, já os biofungicidas disponíveis frequentemente não sobrevivem nas condições tropicais. Neste contexto, o presente estudo buscou desenvolver novos biofungicidas a partir do microbioma brasileiro, incluindo o cerrado, que abriga 30% da biodiversidade nacional, apesar do solo apresentar condições estressantes como acidez e alta exposição a raios UV. Sendo que os microrganismos rizosféricos e endofíticos são responsáveis pelo aumento da resiliência da vegetação. Assim, compreender a complexidade desse microbioma permite explorar aplicações que vão desde a indústria farmacêutica à agricultura, por meio do desenvolvimento de bioprocessos adequados a cada microrganismo. Para isso, a etapa de bioprospecção se mostra essencial, como ocorre no início da pesquisa de novos biodefensivos agrícolas, onde pode-se averiguar o potencial antimicrobiano das cepas de interesse contra agentes fitopatogênicos como o fungo que ocasiona a podridão abacaxi em culturas de alto valor econômico como a cana-de-açúcar causando reduções de até 35% na produção.

Objetivo: Avaliar seis cepas de fungos endofíticos isolados do cerrado, três pertencentes ao gênero *Nigrospora* (BF02, BF08, BF014) e as demais pertencentes aos gêneros *Talaromyces*, *Pseudofusicocum* e *Phomopsis*, quanto à atividade antagônica ao fitopatógeno *Ceratocystis paradoxa*.

Materiais e Métodos: Para os seis fungos endofíticos, foram realizados testes de antagonismo *in vitro* pelo Método da Cultura Pareada em triplicata com o fitopatógeno *C. paradoxa*. Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e teste Tuckey ($p < 0,05$). **Resultados:** Os percentuais de inibição obtidos foram de 42,11 % ? 2,11 por *Pseudofusicocum* sp., 31,23 % ? 0,61 por *Phomopsis* sp., 29,83 % ? 1,61 por *Talaromyces* sp., dentre o gênero *Nigrospora*: 40,70 % ? 1,61 por BF02, 5,97 % ? 1,22 por BF014 e BF08 não apresentou inibição. **Conclusão:** As cepas que apresentaram maior potencial para aplicação agrícola e seguirão para estudos posteriores *in vivo* foram os isolados dos gêneros *Pseudofusicocum* e *Nigrospora* (BF02).

Palavras-chave: Bioprospecção, Antagonismo, Biodefensivos, Fungos endofíticos, Biodiversidade.



APLICAÇÃO GENÔMICA NO ESTUDO BIOQUÍMICO DE FOLHAS DE EUCALYPTUS SOB CONDIÇÕES OCEÂNICAS DO PACÍFICO SUL

MAIRA VIDAL VALENZUELA; DANIEL MIERES-CASTRO; BARBARA BARRIENTOS;
FREDDY MORA-POBLETE

Introdução: A avaliação da concentração de elementos químicos nas folhas das árvores, representa uma ferramenta essencial para a compreensão da vitalidade dos ecossistemas, a identificação de questões ambientais, bem como o acompanhamento de deficiências ou excessos nutricionais, vinculados à fitopatologia ou à manifestação de características fenotípicas específicas. A acumulação desses elementos pode ser impactada por uma combinação de fatores genéticos e ambientais, onde alguns elementos são transmitidos geneticamente, enquanto outros são suscetíveis às condições do solo, à disponibilidade de nutrientes, e a diversos outros elementos ambientais. **Objetivo:** O propósito desta pesquisa foi estudar a genômica da acumulação de elementos químicos em árvores de Eucalyptus de dez anos de idade, cultivados sob condições climáticas oceânicas do pacífico sul. **Materiais e Métodos:** Empregou-se a espectrometria de micro-fluorescência de raios X (micro-XRF) para analisar a composição química das folhas, enquanto o genotipado foi conduzido utilizando um chip de marcadores de polimorfismo de única base (GeneSeek, Lincoln, NE, EUA). Os parâmetros genéticos e genômicos foram calculados através dos pacotes Rv.4.2.2: Bayesian Generalized Linear Regression (BGLR) e Markov Chain Monte Carlo (MCMC). **Resultados:** Correlações estatisticamente significativas foram encontradas entre os elementos Ca-Sc; Mn-Fe; Cu-Zn; Co-Ni; Ni-Cu; Ni-Zn. As estimativas de herdabilidade genômica excederam aquelas de pedigree, variando de $h^2=0,15$ a $h^2=0,31$, enquanto as baseadas em pedigree oscilaram entre $h^2=0,02$ e $h^2=0,16$. Mg, Fe e Mn demonstraram as mais elevadas herdabilidades genômicas, indicando um controle genético moderado ($h^2>0,20$). **Conclusão:** Este estudo desempenha um papel significativo no aprimoramento da compreensão da interação entre fatores genéticos e ambientais na acumulação de elementos químicos nas folhas de eucalyptus, acrescentando uma camada de complexidade à nossa percepção das dinâmicas específicas das condições climáticas oceânicas do pacífico sul.

Palavras-chave: Polimorfismo de única base, Inferencia bayesiana, Herdabilidade, Bioquímica, Pedigree.



APLICAÇÕES DAS RADIAÇÕES IONIZANTES EM BIOTECNOLOGIA

RAFAELA FERRAZ DE CAMARGO; BIANCA DE FÁTIMA PINHEIRO FABRI RAMOS;
MARCO ANTÔNIO RODRIGUES FERNANDES; ANA BEATRIZ PALUDETTO DE OLIVEIRA

Introdução: A radiação ionizante possui energia para arrancar elétrons ligados a átomos e moléculas. Transportando grande quantidade de energia, ela interage com tecidos vivos e promove a quebra de ligações químicas. As aplicações das radiações ionizantes estão nas diversas áreas biotecnológicas, portanto, é importante elencar as áreas mais beneficiadas. **Objetivos:** Descrever as principais aplicações das radiações ionizantes. **Métodos:** Revisão narrativa a partir de pesquisa na base de dados do repositório institucional da Universidade Estadual Paulista. Para a busca inicial foi utilizado o termo radiação ionizante. Foram encontrados 997 resultados, dos quais foram selecionados 132 relacionados à temática de biotecnologia. Dentre esses, foram estudados 30 trabalhos que se relacionavam especificamente às aplicações das radiações ionizantes em biotecnologia. **Resultados:** As radiações ionizantes são utilizadas em diferentes áreas: medicina, biomedicina, medicina veterinária, agronomia, industrial e científica. Na área médica destacam-se a radioterapia, método terapêutico em que a radiação é direcionada a um volume alvo com o objetivo de atingir as células neoplásicas e induzir a morte celular, e a medicina nuclear, que conta com exames de diagnóstico por imagens, realizados por meio de radiofármacos específicos, além das tradicionais modalidades de exames como o raios X e a tomografia computadorizada. Na área biomédica a irradiação de hemocomponentes é utilizada para prevenir a doença do enxerto contra hospedeiro. Na medicina veterinária, o uso das radiações ionizantes está sendo cada vez mais difundido, tanto para diagnóstico como para tratamento, tendo em vista a crescente preocupação com o bem-estar animal e o aumento da sobrevivência dos mesmos. Na agronomia o processo de irradiação para esterilização de alimentos tornou-se essencial para eliminar micro-organismos, aumentando a durabilidade dos alimentos. Na indústria a radiação ionizante é empregada para a inspeção da integridade de peças e para o tratamento de polímeros, promovendo melhoria em propriedades físico-químicas. Inúmeras técnicas são estudadas pela ciência, como a irradiação de células, utilizada principalmente em pesquisas para avaliar a radiosensibilidade dos tecidos. **Conclusão:** Inúmeras são as áreas que utilizam as radiações ionizantes para obter maiores benefícios, tanto diagnósticos, como terapêuticos ou científicos. Logo, é importante buscar, cada vez mais, a atualização científica sobre a temática abordada.

Palavras-chave: Aplicações, Biotecnologia, Radiações ionizantes, Medicina, Biomedicina.



ATIVIDADE ANTIOXIDANTE E GRUPOS FENÓLICOS DO EXTRATO DO CAULE DE CROTON HELIOTROPIIFOLIUS KUNTH

MARYANNA SOARES DE OLIVEIRA; EMILLY LUANY ALVES SANTIAGO; SARA SAMANTA DA SILVA BRITO

Introdução: *Croton heliotropiifolius* Kunth também conhecida como velame, pertencente à família Euphorbiaceae, revela-se uma espécie tesouro da botânica que promete desvendar um vasto espectro de compostos bioativos, compostos secundários em plantas que estão envolvidos no seu sistema de defesa contra a radiação UV e ataque de insetos ou doenças, com diversas aplicações terapêuticas. Destacam-se seus potenciais anti-inflamatórios, antiproliferativos, antidiabéticos e antitumorais, entre outros. **Objetivo:** o presente trabalho teve como objetivo avaliar os grupos fenólicos e o potencial antioxidante do extrato metanólico do caule de *C. heliotropiifolius* Kunth. **Materiais e Métodos:** Para obtenção do extrato os caules foram secos em estufa de circulação de ar forçado a 40°C, até peso constante e triturados em moinho de facas, pesados e imersos no solvente metanol por três dias, pelo método da maceração. Após isso, a solução foi filtrada e o processo foi repetido três vezes, ao final o extrato foi concentrado em capela de exaustão para retirada do solvente e obtenção do extrato bruto metanólico. Os grupos fenólicos foram identificados utilizando a metodologia de Boulanouar et al. (2013) com os resultados expressos equivalentes aos padrões ácido gálico para fenóis totais, ácido cafeico para ácido hidroxicinâmico e quercetina para flavanois. O potencial antioxidante foi determinado por meio do sequestro de radicais livres utilizando o DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazil) nas concentrações de 0.10, 0.15, 0.20, 0.25, 0.50, 1.00 e 2.00 mg.mL⁻¹. **Resultados:** O extrato metanólico do caule de *C. heliotropiifolius* Kunth apresenta altos teores de grupos fenólicos. Para os flavonóis como composto majoritário apresentou 537,35 mg.QE g⁻¹, para os derivados do ácido hidroxicinâmico 364,35 mg.CAE g⁻¹ e para fenóis 309,90 mg.GAE g⁻¹. Corroborando o resultado do potencial antioxidante com uma concentração efetiva de CE₅₀ de 0,45mg.mL⁻¹. **Conclusão:** *C. heliotropiifolius* Kunth apresenta um bom potencial antioxidante e uma alta concentração de compostos fenólicos proporcionando um alto potencial biológico a ser estudado.

Palavras-chave: Dpph, Radicais livres, Velame, Extrato, Bioativos.



ATIVIDADE NEMATICIDA DE BACTÉRIAS ISOLADAS DE DIPLOPODA CONTRA MELOIDOGYNE INCOGNITA

AMANDA CARDOSO FONSECA LEMOS; LORHAINE SANTOS SILVA

Introdução: *Meloidogyne incognita* é uma importante praga agrícola em diversas culturas por todo o mundo. Seu ataque pode causar a redução do crescimento da planta, menor eficiência na absorção de água, nutrientes, sintomas de deficiências minerais e, conseqüentemente, perdas na produção. O controle de nematoides fitopatogênicos é tradicionalmente realizado com nematicidas químicos. Nematicidas químicos, devido sua alta toxicidade, podem acarretar danos ao ambiente, organismos não alvo e ao ser humano. O uso de microrganismos para controle biológico de nematoides são uma alternativa promissora e biologicamente correta, em relação ao controle químico. **Objetivos:** Testar *in vitro* o efeito nematicida de bactérias isoladas de diplópode em *M. incognita*. **Metodologia:** Ao todo 94 microrganismos previamente isolados de *Brachyurodesmus* sp. (Arthropoda: Diplopoda), foram utilizados. As bactérias estavam armazenadas em glicerol 20% a – 20°C, no Laboratório de Biotecnologia e Ecologia Microbiana – LABEM, da Universidade Federal de Mato Grosso, *campus* de Cuiabá - MT. Inicialmente as bactérias foram ativadas em caldo Luria Bertani (LB). Posteriormente em placas de 96 poços, por 24h, avaliou-se a mortalidade do nematoide modelo *Caenorhabditis elegans* (previamente criados e sincronizados no estágio N2). Todos os tratamentos que obtiveram 100% de mortes, foram novamente testados em quadruplicata. Os controles negativos foram a bactéria *Escherichia coli* OP50 (usada como alimento do nematoide) e caldo (LB) estéril. Foram selecionados 23 isolados bacterianos que tiveram 100% de mortalidade para *C. elegans*. *Meloidogyne incognita* em estágio J2, foram obtidos em cultura pura criados em tomateiros *Solanum lycopersicum* L., mantidos em casa de vegetação. Os ensaios foram realizados em quadruplicata, igual ao efetuado em *C. elegans*, o controle negativo foi água destilada. **Resultados:** Dos 23 isolados nenhum matou *M. incognita*. No entanto, *Bacillus altitudinis* e *B. subtilis* já foram reportados na literatura, tendo efeito nematicida em *Meloidogyne* spp. **Conclusão:** Apesar dos microrganismos testados não terem tido o efeito nematicida desejado, alguns dos isolados, tais como: *Enterobacter asburiae*, *Kluyvera ascorbata*, *Lysinibacillus macroides*, *Pantoea ananatis* e *Pseudomonas knackmussii* já foram reportados em estudos que pesquisavam bactérias promotoras do crescimento de plantas (BPCP), com efeitos probióticos e antifúngico. Pesquisas futuras para outros usos biotecnológicos dessas bactérias são incentivados.

Palavras-chave: Amazônia, Controle biológico, Fitonematóide, Microorganismos, Promoção de crescimento.



AValiação da Eficiência da PCR Convencional na Detecção da Doença da Escaldadura-das-folhas em Cana-de-açúcar

FABIANA APARECIDA CAVALCANTE SILVA; GREECY ALBUQUERQUE; MARIA PALOMA BARROS; BIANCA GALÚCIO PEREIRA ARAÚJO

Introdução: A cana-de-açúcar apresenta grande interesse econômico, principalmente, em função da produção de açúcar e etanol, sendo cultivada em todas as áreas tropicais e subtropicais. Além disso a cana-de-açúcar está entre as culturas mais importantes como matéria-prima de biocombustíveis contribuindo sobremaneira com a matriz energética global visando recursos mais limpos e renováveis. Entre as doenças que afetam a produtividade da cana-de-açúcar destaca-se a Doença da Escaldadura das folhas que é causada pela bactéria *Xanthomonas albilineans* (Xal) e ocorre em pelo menos 66 países em todo o mundo. O patógeno coloniza o sistema vascular das folhas, caules e raízes e pode causar grandes reduções na produtividade da cana e na qualidade do açúcar. **Objetivo:** O presente estudo tem como objetivo avaliar a eficiência de oligonucleotídeos utilizados na rotina de diagnose de Xal em cana-de-açúcar em amostras de diferentes regiões do Nordeste, utilizando reação em cadeia da polimerase (PCR convencional). **Materiais e Métodos:** Foram coletadas 13 amostras de diferentes áreas de cultivo da cana-de-açúcar dos estados de Pernambuco e Paraíba. O DNA genômico foliar das plantas foi extraído utilizando método fenólico e em seguida utilizado em reações em cadeia da polimerase utilizando 7 pares de oligonucleotídeos utilizados na rotina de diagnóstico molecular de Xal. Os amplicons foram aplicados em géis de agarose (1.5%) utilizando marcador de 1KB como padrão de comparação, e submetidos à eletroforese horizontal. Os géis foram analisados visualmente e as imagens capturadas através de fotodocumentador. **Resultados:** Dentre os 7 pares de oligonucleotídeos avaliados, 3 deles foram eficientes em determinar a ocorrência de Xal em amostras de cana-de-açúcar, utilizando PCR convencional. Dentre eles destacou-se o oligonucleotídeo PGBL que, além de sua aplicação na confirmação de isolados de Xal, apresentou resolução satisfatória na identificação de plantas infectadas. **Conclusões:** O uso de PCR convencional da diagnose fitossanitária é uma estratégia para redução de custos e obtenção de resultados com maior rapidez. A identificação de oligonucleotídeos eficientes em determinar a ocorrência de Xal através de PCR convencional permite um melhor controle da incidência do fitopatógeno assim como a tomada de decisão em relação ao manejo e aplicação de métodos de controle.

Palavras-chave: Estresse biótico, Pcr, Diagnose fitossanitária, Eletroforese, Dna.



AVALIAÇÃO DA FIDELIDADE GENÉTICA DE CANA-DE-AÇÚCAR VAR RB041443 UTILIZANDO MARCADORES ISSR (INTER-SIMPLE SEQUENCE REPEAT)

FABIANA APARECIDA CAVALCANTE SILVA; SOFIA SOARES DE FIGUEIREDO; GREECY ALBUQUERQUE; CAROLINA ELSZTEIN; BIANCA GALÚCIO PEREIRA ARAÚJO

Introdução: A cana-de-açúcar é amplamente cultivada, em virtude da sua importância para o agronegócio brasileiro. Nesse sentido, a micropropagação tem sido utilizada na produção em larga-escala para obtenção de clones de alta qualidade, entretanto, tal tecnologia pode induzir a ocorrência de variações somaclonais. **Objetivo:** O presente estudo tem como objetivo utilizar marcadores moleculares baseados em DNA denominado ISSR (Inter-Simple Sequence Repeat) e avaliar a possível ocorrência de variações somaclonais em plântulas de cana-de-açúcar (var. RB041443) durante a micropropagação utilizando biorreatores de imersão temporária (BIT). **Materiais e Métodos:** O DNA genômico foliar das plantas matrizes, clones de cana-de-açúcar (Subcultivos 1 a 5) e BIT, foi utilizado em reações em cadeia da polimerase utilizando 38 primers ISSR. Os géis foram analisados visualmente a partir de uma matriz de dados binários correspondente à presença (1) ou ausência (0) das bandas geradas na amplificação, por conseguinte foi feito um dendrograma de dissimilaridade genética estimada pelo índice de Jaccard entre as amostras, através do método de agrupamento Neighbor-Joining. **Resultados:** Foram selecionados os primers que geraram amplicons nítidos, sendo escolhidos 20 ISSR que geraram um total de 168 bandas, sendo 82 polimórficas e 86 monomórficas. Os dendrogramas revelaram baixo nível de dissimilaridade genética e a amplificação utilizando os marcadores do tipo ISSR, que provou ser um método valioso para avaliar a fidelidade genética, verificando assim, a ausência de variações somaclonais nos indivíduos investigados (var. RB041443). **Conclusões:** Os resultados indicam que os subcultivos 2 e 3 requerem maior atenção durante o processo de micropropagação, porém não influenciam nas etapas subsequentes e não induzem variação somaclonal.

Palavras-chave: Dna, Pcr, Micropropagação, Eletroforese, Genoma.



AVALIAÇÃO DA PROPRIEDADE IMUNOMODULADORA DAS CÉLULAS ESTROMAIS MESENQUIMAIS DA MEDULA ÓSSEA

MARIANA DO AMARAL BARCELLOS RASQUINI; THALITA BASTIDA VIEIRA; LIDIANE MARIA BOLDRINI LEITE; PAULO ROBERTO SLUD BROFMAN; CARMEN LÚCIA KUNIYOSHI REBELATTO

Introdução: As células estromais mesenquimais (CEM) possuem diferentes fontes de obtenção, sendo uma delas a medula óssea (MO). As CEM secretam fatores bioativos com ação imunomoduladora em resposta às citocinas pró-inflamatórias e tais fatores atuam em diferentes células do sistema imune, promovendo um efeito anti-inflamatório. Por este motivo, as CEM-MO têm sido utilizadas em ensaios clínicos para o tratamento de doenças inflamatórias e autoimunes. As CEM-MO são consideradas Produtos de Terapia Avançada (PTA), os quais devem passar por controles de qualidade de acordo com a legislação vigente (RDC 508/2021 – ANVISA), para demonstrar *in vitro*, a funcionalidade, visando o sucesso da aplicação terapêutica. Um dos testes funcionais é o ensaio do potencial de imunomodulação. **Objetivo:** Avaliar a atividade imunomoduladora *in vitro* das células mesenquimais estromais da medula óssea. **Materiais e Métodos:** O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da PUCPR (CAAE: 68585123.1.0000.0020). Foram utilizadas quatro amostras de CEM-MO de doadores saudáveis para a realização dos testes de imunomodulação. O protocolo foi baseado na estimulação da proliferação dos linfócitos T, presente no *pool* de células mononucleares (CMN) do sangue periférico, com um mitógeno inespecífico, e o co-cultivo durante cinco dias com as CEM-MO. A avaliação da proliferação dos linfócitos T, que são CD3 positivos, foi realizada por citometria de fluxo. **Resultados:** Após o co-cultivo das células (CMN/CEM-MO), foi possível verificar a proliferação dos linfócitos T na presença do mitógeno e das células mesenquimais. Em seguida foi realizado o cálculo para determinar o potencial de inibição de proliferação dos linfócitos T na presença das CEM-MO. As CEM-MO inibiram a proliferação dos linfócitos T em diferentes proporções: 45,81% ± 3,76 (1 CMN:2 CEM-MO); 48,25% ± 14,65 (1 CMN:5 CEM-MO) e 54,5% ± 22,91 (1 CMN:10 CEM-MO). Na avaliação da viabilidade celular por citometria de fluxo, foi observada uma média de 70%. **Conclusão:** Foi observado um potencial de inibição de proliferação dos linfócitos T na presença das CEM-MO de maneira dose-dependente. Este potencial foi acima de 50%, o que está de acordo com os critérios definidos pelo Centro de Tecnologia Celular da PUCPR para liberação de PTA para uso clínico.

Palavras-chave: Ensaio funcional, Proliferação, Linfócitos t, Imunogenicidade, Células estromais mesenquimais.



AVALIAÇÃO DA QUALIDADE MICROBIOLÓGICA DE EXTRATOS MEDICINAIS DE CANNABIS SATIVA PRODUZIDOS ARTESANALMENTE NO BRASIL

JULIANA DOS SANTOS CARMO; INGRID DOS SANTOS DA SILVA; MARCUS VINICIUS DE MELO DA SILVA; MELISSA ROSA SILVINO CIBIEN; CAMILA DA SILVA QUIDORNE

Introdução: *Cannabis sativa* L. é uma espécie herbácea que possui muitos princípios ativos, sendo os mais conhecidos o Δ^9 -tetrahidrocanabinol (Δ^9 -THC) e o canabidiol (CBD). Em diversos países há medicamentos registrados e suplementos alimentares a base de cannabis. No Brasil, muitos pacientes pediátricos portadores de epilepsia refratária estão sob tratamento com extrato medicinal de *Cannabis sativa* e apresentam uma excelente resposta terapêutica, com diminuição das crises epilêpticas. Devido ao elevado custo de importação do extrato de *Cannabis sativa*, famílias brasileiras estão cultivando a planta e produzindo o próprio extrato após a conquista do *habeas corpus* em favor da cultivação. **Objetivo:** Avaliar a qualidade microbiológica dos extratos artesanais de *Cannabis sativa* produzidos pelas famílias dos pacientes pediátricos portadores de epilepsia refratária. **Materiais e Métodos:** Foi realizado uma análise microbiológica de 52 amostras de extratos medicinais de *Cannabis sativa* preparados artesanalmente. A metodologia utilizada foi a descrita pela Farmacopeia Brasileira para análise microbiológica de produtos não estéreis. **Resultados:** 46,15% das amostras analisadas estavam fora dos limites recomendados pela Farmacopeia Brasileira, considerando como um produto a base de planta que foi submetido a um processo extrativo à quente. Os microrganismos identificados foram: *Escherichia coli*, *Enterobacter cloacae*, *Pantoea agglomerans*, *Cronobacter sakazakii*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Cedecea davisae*, *Bacillus* spp., *Aspergillus* spp. e *Candida albicans*. **Conclusão:** A realização da análise microbiológica em extratos artesanais de *Cannabis sativa* é essencial, uma vez que a contaminação microbiana pode caracterizar risco de infecção para os pacientes, que já são imunocomprometidos. Portanto, o monitoramento desses produtos deve ser realizado, a fim de garantir a segurança e eficácia, além de minimizar os riscos potenciais de infecção aos pacientes.

Palavras-chave: Análise microbiológica, Extratos medicinais, Cannabis sativa, Produção artesanal, Epilepsia refratária.



AVALIAÇÃO DA RESPOSTA IMUNE POR VIA INTRANASAL DE ANTÍGENOS CANDIDATOS A VACINA PARA MALÁRIA CAUSADA POR PLASMODIUM FALCIPARUM

EMMILY MYRELLA VASCONCELOS MOURÃO; KÉSSIA CAROLINE SOUZA ALVES;
MARIA EDILENE MARTINS ALMEIDA; GEMILSON SOARES PONTES; LUIS ANDRÉ
MORAIS MARIÚBA

Introdução: A malária é a doença parasitária de maior importância do mundo, sendo o *Plasmodium falciparum* responsável pela maioria dos óbitos. Os últimos dados divulgados pela Organização Mundial de Saúde, estima-se que ocorreram 249 milhões casos de malária registrados em 2022 com cerca de 608 mil mortes. Diante dessa preocupante realidade, surge a necessidade de desenvolver estratégias vacinais eficazes e economicamente acessíveis contra a malária. **Objetivo:** O objetivo deste estudo foi avaliar o perfil de resposta imune induzido pela administração via intranasal das proteínas rPfMSP-3 e rPfCSP recombinantes de *P. falciparum* em modelo murino. **Metodologia:** As proteínas rPfMSP-3 e rPfCSP foram expressas em um hospedeiro bacteriano, posteriormente purificadas utilizando a técnica de Cromatografia de Afinidade com Metal Imobilizado (CAMI) e quantificadas por meio do método de Bradford. Para a avaliação da resposta imunológica, camundongos da linhagem BALB/c fêmeas, com idades entre 6 e 8 semanas, foram divididos em 10 grupos contendo 7 animais cada. Estes animais foram imunizados via intranasal com diferentes concentrações das proteínas recombinantes, recebendo duas doses do imunizante (rPfCSP, rPfMSP-3 e PBS 1x) com um intervalo de 14 dias. Amostras de sangue foram coletadas antes da primeira imunização e nos dias 14 e 28 para avaliação da resposta imune induzida. A produção de anticorpos anti-rPfMSP-3 e anti-rPfCSP foi analisada por meio de ensaio imunoenzimático indireto e teste de invasão do merozoíto, enquanto o perfil sérico de citocinas foi avaliado utilizando citometria de fluxo. **Resultados:** Os resultados deste estudo revelaram que as proteínas recombinantes utilizadas apresentam um perfil imunogênico, com destaque para a rPfCSP que demonstrou maior imunogenicidade no estudo. A rPfMSP-3 também induziu uma resposta humoral significativa e os anticorpos anti-rPfMSP3 foram capazes de inibir a invasão do merozoíto nas hemácias. **Conclusão:** Os dados apresentados são promissores e podem servir como base para o desenvolvimento de novas estratégias vacinais contra a malária, particularmente aquelas que exploram a administração mucosal em modelos murinos, sem a necessidade de adjuvantes.

Palavras-chave: Imunidade, Mucosa, Vacina, Msp3, Csp.



AValiação de diferentes tipos de escarificação em espécies do gênero *Erythrina*

ISABELA CARVALHO CARLINI; MONICA ROSA BERTAO

Introdução: O gênero *Erythrina* (Fabaceae) tem sido pesquisado devido aos seus alcalóides tetracíclicos que possuem propriedades farmacológicas. A dormência das sementes é uma estratégia muito utilizada em espécies do Cerrado, já que tal ambiente é caracterizado por altos índices pluviométricos e tamanha sazonalidade. Tal problema, por sua vez, pode ser solucionado por meio de danos superficiais no tegumento, processo conhecido como escarificação. A escarificação pode ocorrer de forma natural no meio ambiente, através do pH ácido do solo e ação de microrganismos, por exemplo. Para obtermos esses resultados de forma artificial são utilizados os chamados escarificadores. **Objetivo:** Padronizar métodos de escarificação de forma a avaliar seus benefícios na germinação de sementes. **Materiais e métodos:** Foram obtidas sementes de *Erythrina verna* da safra de 2021, de lote desconhecido e pureza 81%, e *Erythrina speciosa* da safra de 2022, de lote 169 e pureza 90% de parceiros. Foram testados dois métodos de escarificação nas respectivas sementes, sendo estes a escarificação com ácido sulfúrico concentrado por 30 minutos a 25°C e escarificação mecânica feita manualmente com lixa de granulidade 80. **Resultados:** Para 50 sementes de *Erythrina speciosa* germinadas após a escarificação com ácido sulfúrico, 12 sementes germinaram cerca de 3-5 cm em um período médio de 15 dias. Este mesmo método foi utilizado também em 15 sementes de *Erythrina verna*, onde foram obtidas 3 plântulas com cerca de 3-5 cm com 11 dias de crescimento. Já para 50 sementes de *Erythrina speciosa* germinadas após a escarificação com lixa de granulidade 80, apenas 7 plântulas atingiram cerca de 3-5 cm em um período médio de crescimento de 15 dias. A escarificação mecânica com lixa não foi aplicada em sementes de *E. verna* já que os resultados obtidos anteriormente demonstraram que a escarificação ácida seria o método mais conveniente para ambas as espécies. **Conclusão:** Os resultados obtidos implicam que o melhor método, ou seja, aquele que desempenhou quebra de dormência mais eficaz para as sementes deste gênero, segundo os testes de germinação aplicados, foi a escarificação com ácido sulfúrico (H₂SO₄), sendo também o único método no qual foi possível observar aquecimento nas sementes (escarificação térmica).

Palavras-chave: Germinação, *Erythrina verna*, *Erythrina speciosa*, Agente escarificante, Sementes.



AValiação DO EFEITO DE DIETA SUPLEMENTADA COM PROBIÓTICOS NA DOSAGEM DE LISOZIMA EM TAMBAQUIS

LARISSA ANDRÉIA FERREIRA SAMPAIO; GUSTAVO DA SILVA CLAUDIANO; LUIZ FERNANDO FORTUNATO TUCCI; CLENI MARA MARZOCCHI MACHADO

Introdução: Probióticos são microrganismos que oferecem benefícios à saúde do hospedeiro, auxiliando, entre outros fatores, na melhora da resposta imunológica. A lisozima é uma substância importante no sistema inato de defesa dos peixes e a dosagem de sua concentração ou atividade é importante visto que possui a capacidade de lisar bactérias. **Objetivos:** Analisar a dosagem de lisozima sérica em peixes que receberam ração suplementada com cepas de bactérias probióticas seguido do desafio com *Aeromonas hydrophila*. **Metodologia:** O estudo foi conduzido na Universidade Federal do Oeste do Pará (UFOPA) e na Universidade São Paulo (USP-Ribeirão Preto) após aprovação da Comissão de Ética no Uso Animal, UFOPA (nº 0620180030). As cepas probióticas foram previamente isoladas do intestino (I10) e de um mix de intestino e fezes (M14) de tambaqui (*Colossoma macropomum*). Os peixes receberam ração suplementada com cada cepa separadamente sendo alimentados 1 ou 3 vezes ao dia com os probióticos. Decorridos 90 dias, os animais foram desafiados com *A. hydrophila* e 24 horas após o sangue foi coletado e centrifugado para obtenção do soro. Para a atividade da lisozima sérica foi inicialmente preparada uma curva de calibração. As amostras de soro foram inativadas em banho a 45°C por 30 minutos antes do ensaio. Após, 50µL de soro foi adicionado a 150µL de tampão fosfato e, em seguida, adicionado 150µL de suspensão de *Micrococcus lysodeikticus*. A leitura ocorreu em leitor de microplaca (15 minutos a 450 nm e 26°C) e o resultado expresso como variação da densidade óptica (ΔDO). **Resultados:** O ensaio aplicado para dosagem de lisozima permitiu verificar que houve diferença significativa para todos os grupos em relação ao grupo controle (352,6 ng/µL). Os grupos I10 3x e I10 1x apresentaram maiores concentrações, com 754,6 ng/µL e 582,3 ng/µL, respectivamente. Entretanto, não houve diferença significativa em relação aos grupos M14 3x e M14 1x (424,3 ng/µL e 450,3 ng/µL). **Conclusão:** Os grupos que receberam dieta suplementada com os probióticos apresentaram resultados satisfatórios elucidados pelo aumento da dosagem na concentração de lisozima sérica após desafio com a bactéria patogênica, enfatizando a capacidade das cepas de atuarem como imunoestimulantes no organismo dos animais.

Palavras-chave: Resposta imune, Desafio, Imunidade inata, Peixes, Microrganismo.



AVALIAÇÃO DO IMPACTO DO DESVIO DE MEDIÇÃO DE VOLUME ASPIRADO POR MICROPIPETETA NA CONTAGEM DE UNIDADES FORMADORAS DE COLÔNIAS DE STAPHYLOCOCCUS AUREUS EM SOLUÇÃO SALINA PEPTONADA

MARCUS VINICIUS DE MELO DA SILVA; CAMILA DA SILVA QUIDORNE; JULIANA DOS SANTOS CARMO; INGRID DOS SANTOS SILVA; MELISSA ROSA SILVINO CIBIEN

Introdução: Micropipetas são ferramentas essenciais em laboratórios microbiológicos para medição precisa de volumes líquidos. A contagem de unidades formadoras de colônias (UFC) é uma técnica comum para quantificar bactérias, como *Staphylococcus aureus*. No entanto, desvios na medição do volume aspirado pela micropipeta podem afetar consideravelmente os resultados da contagem de UFC, comprometendo a precisão e confiabilidade dos experimentos. **Objetivo:** Avaliar o impacto do desvio na medição do volume aspirado por micropipeta na contagem de UFC de *Staphylococcus aureus* em solução salina peptonada. **Materiais e Métodos:** Diluições seriadas de uma cultura de *Staphylococcus aureus* em solução salina peptonada foram preparadas. Cada diluição foi pipetada usando uma micropipeta calibrada pelo laboratório da Rede Brasileira de Calibração (RBC). A primeira diluição foi pipetada com um volume de 100 μL , com variações correspondentes de $\pm 10\%$. A segunda diluição foi pipetada com um volume de 500 μL , também com variações de $\pm 10\%$. As amostras pipetadas foram semeadas em placas de Petri contendo meio de cultura Ágar de Baird-Parker e incubadas. Após o período de incubação, as colônias foram contadas e os dados foram analisados estatisticamente para avaliar a relação entre o desvio na medição do volume aspirado e a contagem de UFC. **Resultados:** Foi observada uma correlação direta entre o desvio na medição do volume aspirado pela micropipeta e o resultado da contagem de UFC. Quanto maior o desvio absoluto, maior a variação absoluta nos resultados da contagem de UFC. Para ambas as diluições com variações de $\pm 10\%$, foi possível observar uma variação máxima de até 26% na contagem de UFC. Isso indica que desvios na medição do volume não corrigidos podem levar a diferenças significativas na contagem de colônias bacterianas. **Conclusão:** A correção do desvio na medição do volume aspirado por uma micropipeta pode aprimorar a precisão dos resultados do processo de contagem de UFC, contribuindo para uma análise mais precisa da carga bacteriana e uma interpretação mais confiável dos dados experimentais. Portanto, a calibração das micropipetas deve ser realizada sistematicamente, e os valores apresentados no certificado de calibração devem ser utilizados para corrigir o volume aspirado na contagem de UFC.

Palavras-chave: Metrologia, Microbiologia, Micropipeta, Ufc, *Staphylococcus aureus*.



AVALIAÇÃO DO PRÉ-TRATAMENTO DO SABUGO DE MILHO COM ÁCIDO OXÁLICO E GLICEROL ASSISTIDO POR MICRO-ONDAS PARA EXTRAÇÃO ENZIMÁTICA DE AÇÚCARES

JOÃO VITOR DOS SANTOS MOTTA; BRUNA GREEN RODRIGUES; ÁLVARO HENRIQUE MELLO JOSÉ; RITA DE CÁSSIA LACERDA BRAMBILLA RODRIGUES

Introdução: O sabugo de milho é uma biomassa lignocelulósica composta por celulose, hemicelulose e lignina, que podem ser convertidos em produtos de interesse industrial. No entanto, este material apresenta a necessidade de realizar pré-tratamentos para acessar as frações de interesse. O pré-tratamento ácido com aquecimento por micro-ondas é uma das metodologias propostas para superar este desafio e aumentar a acessibilidade da biomassa às enzimas. **Objetivo:** Este estudo visou avaliar o pré-tratamento do sabugo de milho com ácido oxálico/glicerol, utilizando aquecimento por micro-ondas, com o intuito de melhorar a conversão enzimática de celulose em açúcares fermentáveis. **Metodologia:** O sabugo de milho *in natura* foi submetido a diferentes condições de pré-tratamento utilizando micro-ondas, incluindo variações de temperatura, tempo de reação, granulometria, concentração de ácido oxálico e glicerol. Após os pré-tratamentos, foram realizadas análises composicionais e difração de raios X para avaliar o impacto do pré-tratamento. A hidrólise enzimática foi realizada utilizando Cellic Ctec2 à 25,50 FPU/g de biomassa à 50 °C e 200 rpm durante 96 h conduzida para determinar a conversão de celulose em glicose. **Resultados:** Após o pré-tratamento com granulometrias diferentes, a redução do tamanho das partículas do sabugo de milho resultou em uma melhoria na conversão da celulose em glicose, alcançando um valor de 65,92%. A análise de difração de raios X revelou que o Índice de Cristalinidade (ICr) da amostra *in natura* foi de 28,55%. Após o pré-tratamento T1 (5×10^6 nm), o valor de ICr foi de 29,35%, indicando uma remoção da fração amorfa da biomassa, que pode ter contribuído para o aumento na conversão da celulose em glicose (36,41%). Já no pré-tratamento T2 (420 e 710 nm), o ICr foi de 40,19%, substancialmente superior ao da biomassa *in natura*, refletindo na conversão mais elevada de celulose em glicose, que atingiu os 65,92%. **Conclusão:** A combinação de ácido oxálico, glicerol e aquecimento por micro-ondas demonstrou ser eficaz na melhoria da acessibilidade da celulose com a remoção das frações indesejadas. Essas descobertas têm possíveis implicações para o desenvolvimento de processos sustentáveis na indústria de biorrefinarias, contribuindo para a bioeconomia moderna e a busca por fontes de energia renovável.

Palavras-chave: Conversão de biomassa, Hidrólise ácida, Materiais lignocelulósicos, Biorrefinarias, Conversão enzimática.



BIOFORTIFICAÇÃO: APLICAÇÃO DA BIOTECNOLOGIA COMO ESTRATÉGIA PARA POTENCIALIZAR O VALOR NUTRICIONAL DE CULTURAS ALIMENTARES E PROMOVER O BEM-ESTAR HUMANO

EDIANA DA SILVA ARAÚJO; FRANCISCO CLERISTON RABELO AMANCIO; SARAH GOMES COELHO COSTA; SABRINA GOMES COELHO COSTA; DEISE SOUZA DE CASTRO

Introdução: A busca por soluções para garantir segurança alimentar e fornecer nutrição de qualidade à população mundial tem sido uma preocupação no meio científico. Em detrimento disso, muitos métodos vêm sendo empregados como alternativa para minimizar essa problemática, destacando o uso de fortificação, suplementação e biofortificação de alimentos. Isso torna-se possível ao emprego da biotecnologia alinhada ao melhoramento genético, ferramentas desenvolvidas para resolver deficiências de micronutrientes, aumentando os níveis de vitaminas e minerais essenciais em culturas básicas. Nesse contexto, a biofortificação de alimentos emerge como uma estratégia promissora e sustentável, cujo objetivo é aumentar o teor de nutrientes essenciais em culturas alimentares amplamente consumidas por populações com acesso limitado a uma dieta diversificada. Entre esses nutrientes, destacam-se o ferro e o zinco, cuja presença está em quantidades insuficientes em algumas dessas culturas, como milho, arroz e trigo. **Objetivo:** Compreender como a técnica de biofortificação e a aplicação da biotecnologia podem potencializar o valor nutricional de culturas alimentares, visando promover o bem-estar humano. **Materiais e Métodos:** O presente estudo consiste em uma revisão bibliográfica da literatura, fundamentada na análise de 9 artigos publicados entre 2020 e 2024, na língua inglesa. A seleção foi realizada na base de dados PubMed, utilizando os descritores: Biofortificação, Biotecnologia e Segurança Alimentar. **Resultados:** Alguns estudos indicam que a adoção de técnicas de biotecnologia, como exemplo da biofortificação de alimentos, pode surgir como uma estratégia que apresenta potencial significativo, no combate a desnutrição oculta de micronutrientes vitais ao bem-estar humano. Além de ser economicamente viável, essa abordagem tem a capacidade de enriquecer alimentos com determinados nutrientes ou torná-los biodisponíveis para o consumo. Essa iniciativa pode ser adaptada para atender às necessidades específicas das populações locais, que frequentemente enfrentam carências desses nutrientes em quantidades adequadas. **Conclusão:** A biofortificação é uma alternativa promissora na potencialização do valor nutricional de culturas alimentares, crucial, na luta contra a desnutrição, oferecendo culturas enriquecidas. Apesar dos desafios existentes, seu potencial na segurança alimentar, especialmente em países em desenvolvimento, é inegável. Investir em alimentos biofortificados é vital para fortalecer a imunidade e enfrentar desafios futuros de forma sustentável, diante das necessidades globais de saúde.

Palavras-chave: Nutrição, Biofortificação, Micronutrientes essenciais, Melhoramento genético, Dieta.



BIOINSETICIDA A PARTIR DE REJEITOS DE BIOMASSAS

YASMIM LEANDRO FRANÇA DO NASCIMENTO

Introdução: O Brasil é um dos principais produtores mundiais de alimentos, sendo o aumento da produção agropecuária diretamente relacionado ao desenvolvimento de novas técnicas de produção e inovações biotecnológicas. Um dos principais desafios no setor é o controle de pragas, como resposta a indústria agroquímica vem lançando produtos cada vez mais eficientes e com maior poder residual. Em contrapartida, o Brasil gera anualmente cerca de 700 milhões de toneladas de resíduos agroindustriais, onde grande parte não possui aproveitamento adequado. Neste contexto, problema do agronegócio brasileiro e soluções alternativas, o presente trabalho propõe o aproveitamento de resíduos de biomassa, como matéria prima para obtenção de bioóleo através do processo de pirólise, utilizados contra insetos pragas de grãos armazenados. Uma alternativa promissora e alinhada às estratégias de sustentabilidade. **Objetivos:** Avaliar o potencial bioinseticida dos produtos de pirólise no controle dos insetos pragas de grãos armazenados *Sitophilus zeamais* e o *Tribolium castaneum*. **Metodologia:** Teste de Fumigação: No lado interno da tampa de frascos de vidro, foi colocado um papel filtro que recebeu 30 mg do bioóleo, foram adicionados 20 insetos adultos. A mortalidade foi computada em intervalos periódicos e 24 horas. Teste de repelência: – Discos de papel filtro com 9 cm de diâmetro cortados pela metade foram depositados em placas de *Petri*, de forma a simular dois semicírculos tratado e controle. Foram adicionados 20 insetos adultos no centro de cada placa, a contagem dos insetos foi feita após o período de 1, 2, 6, 24 e 48 horas após o tratamento. **Resultados:** As frações de pirólise exibiram alta atividade fumigante contra o *S. zeamais*, causando 100% de letalidade no terceiro dia após tratamento. E 85,7% de letalidade, contra *T. castaneum* no quarto dia após a aplicação. A ação repelente dos produtos e pirólise contra *T. castaneum*, chegou a de mais de 80%, classificados como repelente classe 5 com a mais elevada atividade. Contra *S. zeamais* também apresentou alto índice de repelência classificado como repelentes de classe 4. **Conclusão:** Os produtos de pirólise demonstraram altas taxas de letalidade e atividade repelente. Apresentando potencial aplicação bioinseticida, com promissores usos biotecnológicos.

Palavras-chave: Bioinseticida, Pirólise, Rejeitos, Pragas agrícolas, Bioóleo.



BIOSENSOR ELETROQUÍMICO BASEADO EM PEPTÍDEO ANTIMICROBIANO BOTRAMP14 PARA A DETECÇÃO DE KLEBSIELLA PNEUMONIAE

DEBORA VITORIA DE OLIVEIRA DIAS; OCTÁVIO L. FRANCO; GLAUCIA MANOELLA DE SOUZA LIMA; MARIA DANIELLY LIMA DE OLIVEIRA; CÉSAR AUGUSTO SOUZA DE ANDRADE

Introdução: Infecções microbianas exercem um impacto significativo na saúde global, necessitando de métodos de detecção eficientes. *Klebsiella pneumoniae*, uma bactéria Gram-negativa, é uma causa comum de infecções adquiridas em hospitais, apresentando um desafio crescente devido à sua crescente resistência aos antibióticos. As abordagens tradicionais de detecção bacteriana são prejudicadas por tempos de resposta prolongados. Biossensores eletroquímicos se destacam como alternativa promissora na identificação de microrganismos de interesse clínico. A aplicação de nanopartículas como o óxido de grafeno (GO) em plataformas sensoras são essenciais para aprimorar o processo da cinética de elétrons na interface do eletrodo com o analito alvo. Peptídeos antimicrobianos (AMPs) emergem como biorreceptores inovadores em biossensores, permitindo a identificação de patógenos microbianos por inicial atração eletrostática e inserção na parede celular.

Objetivo: O presente projeto teve como objetivo o desenvolvimento de uma plataforma biossensora eletroquímica baseada em camada de GO e o peptídeo BotrAMP14 para a identificação de *K. pneumoniae*. **Materiais e Métodos:** Inicialmente, um eletrodo de trabalho com superfície de ouro é revestido por uma camada de GO+cisteína (Cys), eletrodepositado por meio da voltametria cíclica (VC), posteriormente, o peptídeo é imobilizado pelo ativador EDC NHS. O microrganismo alvo foi preparado em diferentes concentrações (10^1 a 10^5 unidades formadoras de colônia – UFC.mL⁻¹). O eletrodo funcionalizado é imerso na suspensão microbiana por 5 min, lavado em água deionizada e avaliado pelas técnicas VC e espectroscopia de impedância eletroquímica (EIE). **Resultados:** Na montagem da plataforma sensora, o GO+Cys auxiliou na imobilização do peptídeo BotrAMP14, resultando no fechamento dos picos anódicos e catódicos da VC e aumento da resistência a transferência de carga (RCT) na EIE, revelando a efetiva construção do sensor. Na identificação do analito alvo, a VC e EIE demonstraram uma resposta linear, com aumento consecutivo do RCT à medida que a concentração do microrganismo aumentava. O biossensor apresentou um limite de detecção de 10 UFC mL, ressaltando a sensibilidade do sistema proposto. **Conclusão:** A integração de AMPs em biossensores eletroquímicos representa uma estratégia inovadora para o avanço do diagnóstico clínico tradicional, oferecendo uma potencial mudança de paradigma na detecção de doenças infecciosas causada por microrganismos.

Palavras-chave: Biossensor, Peptídeo antimicrobiano, Nanopartículas, Voltametria cíclica, Impedância eletroquímica.



BIOTECNOLOGIA APLICADA AO DIABETES MELLITUS

ELI JÚNIOR PEREIRA RODRIGUES; STÉFANNE RODRIGUES REZENDE; HANSTTER HALLISON ALVES REZENDE

Introdução: Diabetes *Mellitus* (DM) é um conjunto de doenças que alteram o metabolismo da glicose sanguínea mediante a baixa produção da insulina pelo pâncreas, ou ainda, pela sua ação, causando no paciente um quadro de hiperglicemia, sendo classificada em DM tipo 1, DM tipo 2, diabetes gestacional e diabetes relacionadas à endocrinopatias ou síndromes pancreáticas. Nos últimos anos o diabetes tornou-se uma questão global, devido a sua alta taxa de morbidade, prevalência e mortalidade. Porém, com o avanço da biotecnologia é possível produzir insulina exógena por meio da engenharia genética utilizando a técnica do DNA recombinante (rDNA), a qual consiste no manejo do DNA e posterior transferência do gene entre espécies. A espécie hospedeira utilizada é a bactéria *Escherichia coli*, uma vez que não é patogênica por ser habitual da microbiota intestinal. **Objetivo:** Explicar o mecanismo do DNA recombinante para a produção de insulina exógena. **Materiais e Métodos:** Trata-se de uma revisão de literatura com coleta de informações, em qualquer idioma, na base de dados SciELO, no período 2009 a 2020, em que foram selecionados 3 dos 15 artigos resultantes da pesquisa, possuindo como descritores “diabetes mellitus” e “*Escherichia coli*”. **Resultados:** A tecnologia do rDNA consiste em alterar diretamente o DNA, induzindo a bactéria a amplificar uma região específica, isso é realizado mediante enzimas de restrição que fragmentam a região do DNA bacteriano de interesse. Após isso, esse fragmento de DNA é inserido no plasmídeo, conhecido como vetor de clonagem molecular, o qual replica esse gene para ser incorporado em uma célula hospedeira. A célula portadora do rDNA multiplica-se, formando várias células portadoras do gene, fazendo com que uma população dessas bactérias produzam a cadeia A e a outra a cadeia B, que juntas formam a insulina ativa. **Conclusão:** Conclui-se, portanto, que a biotecnologia possui formas terapêuticas ligadas ao tratamento do diabetes, sendo uma delas a tecnologia do DNA recombinante, a qual utiliza a bactéria *Escherichia coli* para a replicação do gene da insulina.

Palavras-chave: Dna recombinante, Doenças metabólicas, *Escherichia coli*, Insulina exógena, Plasmídeo.



CÂNCER DE PRÓSTATA E DIAGNÓSTICO

FRANCISCO AUGUSTO GOMES SANTOS

Introdução: O câncer é uma doença de origem multifatorial que apresenta um crescimento desordenado das células. Entre todos os tipos de câncer, o de próstata é o segundo mais comum no mundo. O tumor prostático afeta apenas homens e seu diagnóstico pode ser feito através de exames clínicos e laboratoriais, como o exame do toque e a avaliação dos níveis do antígeno prostático específico (PSA). Entretanto, o diagnóstico final é concedido após a realização de uma biópsia. Em razão da biópsia ser um exame invasivo, em que a presença do câncer pode passar despercebida e com riscos de infecções, a área oncológico-genit urinária busca meios diferentes para a realização de um diagnóstico menos invasivo e mais eficaz. Por efeito dessa busca, a metabolômica, que concede a análise dos metabólitos intracelulares, que desempenham papel crucial na maioria das reações intracelulares, vem recebendo mais atenção nos últimos anos com o intuito de reconhecer os biomarcadores indicativos do câncer. **Objetivo:** Revisar a literatura afim de observar os resultados do emprego da metabolômica no diagnóstico do câncer de próstata. **Metodologia:** Foi realizada uma revisão bibliográfica, por meio da busca e análise de artigos científicos publicados sobre o tema, sendo considerado como fonte de dados as bases eletrônicas como PubMed, Periódicos Capes e SciELO, publicados no período de 20 anos. **Resultados:** através da revisão de estudos, foi possível observar que metabólitos como: alanina, lactato, glicina, glutamato, colina e espermina, podem ser considerados biomarcadores da progressão da doença. **Conclusão:** Torna-se de conhecimento que os resultados que foram encontrados a partir da análise da metaboloma em amostras de pacientes com diagnóstico positivo apresentaram uma considerável quantidade de metabólitos capazes de serem considerados biomarcadores do câncer de próstata. Pode-se citar que os metabólitos alanina, lactato, glicina, glutamato, colina e espermina, foram os que mais se destacaram, sendo a colina considerada um metabólito chave da doença. Contudo, apesar da necessidade de maiores estudos e maiores atualizações na área, a análise metabolômica se mostra como forte instrumento para a realização de um diagnóstico de câncer de próstata menos invasivo e seguro.

Palavras-chave: Câncer, Diagnóstico, Câncer de próstata, Metabolômica, Metabólitos.



CARACTERIZAÇÃO DE NEUROESFERAS DERIVADAS DE CÉLULAS-TRONCO DE PAPILA APICAL E POLPA DE DENTE PERMANENTE

GIOVANNA DE ARAUJO RICARDO ROSSANO; ANA HELENA SELENKO; JESSICA BODART GUIMARÃES; PAULO ROBERTO SLUD BROFMAN; LETICIA FRACARO

Introdução: As células-tronco mesenquimais (CTM) de tecidos dentários, como as de papila apical (SCAP) e polpa dentária (DPSC), exibem grande potencial para diferenciação neuronal devido à sua origem comum com os neurônios, a ectoderme. Essas células, ao expressarem marcadores similares às células-tronco neurais, mostram-se promissoras para o tratamento de doenças neurodegenerativas. A técnica de cultivo em neuroesferas tem se mostrado eficaz para induzir a diferenciação dessas CTM em neurônios. **Objetivo:** Avaliar a eficiência das DPSC e SCAP na formação de neuroesferas. **Metodologia:** Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética (CAAE: 67807123.8.0000.0020). As DPSC e SCAP foram cultivadas e caracterizadas conforme a Sociedade Internacional de Terapia Celular e Gênica (ISCT). Após a expansão celular, induziu-se à formação de neuroesferas por cinco dias utilizando meio DMEM/F12 suplementado com EGF, FGF e B27. As neuroesferas foram quantificadas e dimensionadas nos dias dois e quatro sendo classificadas como pequenas ($<50\mu\text{m}$), médias ($51\text{--}250\mu\text{m}$) e grandes ($>251\mu\text{m}$). Os dados foram expressos em médias, desvio padrão e porcentagens. **Resultados:** As fontes demonstraram expressão imunofenotípica conforme os critérios da ISCT. No dia dois, observou-se uma maior quantidade de neuroesferas nas SCAP ($105,5\pm 65,8$) quando comparada com as DPSC ($61\pm 36,8$). Em relação ao tamanho, as SCAP apresentaram 50,7% de neuroesferas classificadas como médias enquanto as DPSC apresentaram 52,71%. No dia quatro, houve uma diminuição na quantidade para SCAP ($34,5\pm 14,8$) e DPSC ($23,5\pm 10,6$). Para a porcentagem de neuroesferas médias foi observada uma diminuição para SCAP (49%) e um aumento para DPSC (57%). A diminuição na quantidade está relacionada com o aumento da porcentagem de neuroesferas $>251\mu\text{m}$ para as SCAP (3,2%; 7,5%) enquanto para DPSC está relacionado ao aumento das neuroesferas entre $51\text{--}250\mu\text{m}$ e $>251\mu\text{m}$ (2%; 4,7%), demonstrando que as neuroesferas se agregaram. **Conclusão:** Este estudo comprovou a eficácia das SCAP e DPSC na formação de neuroesferas, com uma maior quantidade de tamanho médio nas DPSC. Estudos já demonstraram que neuroesferas médias apresentam condições mais favoráveis na expressão de marcadores neuronais. Estes resultados contribuem para o entendimento da formação das neuroesferas, além de tornar SCAP e DPSC candidatas importantes para o desenvolvimento de novas terapias para doenças neurodegenerativas.

Palavras-chave: Células-tronco mesenquimais, Tecidos dentários, Ectoderme, Crista neural, Cultivo 3d.



CARACTERIZAÇÃO NUTRICIONAL E PROSPECÇÃO FITOQUÍMICA DAS FRAÇÕES DO FRUTO DO BACUPARI

LUCINÉIA CAVALHEIRO SCHNEIDER; KATYUSCYA VELOSO LEÃO; RONY KEITO LOPES MOREIRA; LUCELIA HOEHNE

Introdução: O Cerrado brasileiro apresenta várias espécies frutíferas de sabores únicos e muitos desses frutos vem sendo estudados pela sua riqueza nutricional e funcional. Dentre os frutos existentes que ainda são pouco estudados encontra-se a *Salacia crassifolia*, conhecida como bacupari do Cerrado. **Objetivo:** O presente estudo teve o objetivo de caracterizar seus constituintes nutricionais, identificar e quantificar os compostos fenólicos e atividade antioxidante da polpa, casca e semente *in natura* de frutos do bacupari do município de Cristópolis, Bahia. **Materiais e métodos:** O experimento foi dividido em três etapas, a primeira etapa foi a coleta, seleção, higienização, sanitização e preparo das frações dos frutos. A segunda etapa foi a quantificação dos teores de umidade, fibras, proteínas, lipídeos totais e carboidratos. A terceira etapa foi a identificação fitoquímica das frações polpa, casca e sementes. **Resultados:** Os resultados demonstram que a polpa possui teor considerável em fibra alimentar variando entre $7,45 \pm 0,02$ e $9,78$ g/100 g, proteína ($1,95 \pm 0,0$ g/100 g na safra 1 e $0,76$ g/100g na safra 2), no entanto o teor de lipídico foi baixo para a semente ($1,70 \pm 0,2$ g/100g na safra 2). Nos testes fitoquímicos foram identificados a presença de saponinas, flavonoides e substâncias fenólicas em todas as frações, destacando-se a semente que apresentou resultados fortemente positivo para substâncias fenólicas. Nos testes quantitativos, obteve-se que os frutos do bacupari são ricos em compostos bioativos, os quais destacam-se as substâncias fenólicas com $1485 \pm 0,02/1745 \pm 0,12$ mg EAG/100g, safra 1 e 2 respectivamente. Revelaram também que todas as frações são fontes de substâncias com potencial antioxidante, com destaque para as sementes, pois obteve-se valores de EC50 baixos: 1,59 mg/ml (DPPH). **Conclusão:** Constatou-se que os frutos são ricos em fibras e compostos bioativos, pois demonstrou alta eficácia no sequestro de radicais livres, destacando-se as substâncias fenólicas, considerando-se um ótimo antioxidante natural, principalmente na fração da semente. Ressalta-se a importância desse estudo, pois ainda há poucas informações do bacupari na literatura, o que pode potencializar o seu uso no desenvolvimento de produtos alimentícios ou ainda nutracêuticos.

Palavras-chave: Nutrição, Compostos bioativos, Análise, Alimento, Frações.



COMBINAÇÃO DOS GENES MIM E BBM2 PARA INDUÇÃO DE SEMENTES-CLONES EM BATATA

AMANDA LIMA VILELA; FILIPE ALMENDAGNA RODRIGUES; MOACIR PASQUAL

Introdução: A batata (*Solanum tuberosum* L.) é a quarta cultura mais importante do mundo em termos de calorias humanas consumidas por dia e atualmente é propagada principalmente a partir de tubérculos. No entanto, as batatas produzem sementes sexuais chamadas sementes de batata verdadeira (TPS) e o cultivo de batatas a partir de TPS teria várias vantagens sobre a multiplicação a partir de tubérculos. Apesar da propagação por tubérculos resultar em uniformidade, quase 10% da produção é desperdiçada como propágulo para a próxima geração. Além disso, batatas-sementes são caras para produtores e difíceis de armazenar e transportar. **Objetivo:** Estamos utilizando os recursos de edição do gene CRISPR-Cas9 para criar mutantes em genes que regulam várias etapas envolvidas na meiose e combiná-los com a expressão ectópica de um fator de transcrição -BABY BOOM no óvulo para criar apomixia na batata. **Materiais e Métodos:** Calos obtidos das folhas de batata selvagem *in vitro* foram utilizadas para transformação indireta por *agrobacterium* e dois plasmídeos foram construídos para cada edição genômica (MiMe e BBM2). **Resultados:** O protocolo funcionou bem para a indução de calos e regeneração de plantas. Foi encontrada uma planta transformada indiretamente para o “tratamento MiMe”. **Conclusão:** Nocautes em três genes meióticos -SPO11, REC8 e OSD1 devem eliminar a meiose e resultar em gametas não reduzidos e não combinados. Os óvulos são convertidos diretamente em embriões pela expressão de BABY BOOM para induzir a partenogênese. Em combinação, estas duas estratégias devem resultar em plantas capazes de produzir sementes clonais que tenham a mesma constituição genética ou heteroziguidade da planta mãe.

Palavras-chave: *Solanum tuberosum* L, Crispr-cas9, Sementes clones, Cultura de tecidos, Biotecnologia.



COMPARAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIBACTERIANA DE EXTRATOS DE ACHYROCLINE SATUREIODES EM SALMONELLA SETUBAL E ENTEROCOCCUS FAECALIS

ANNELIZE RODRIGUES GOMES; ELOAH DRUDI LEPORE; CAMILA CRISTINA BACCETTI
MEDEIROS; RODRIGO SORRECHIA; ROSEMEIRE CRISTINA LINHARI RODRIGUES
PIETRO

Introdução: As plantas medicinais possuem grande capacidade de serem utilizadas para a produção de antimicrobianos, principalmente em relação a resistência, um problema global que afeta toda a população e primordialmente idosos, recém-nascidos e imunocomprometidos. Entre as plantas medicinais, pode ser citada a *Achyrocline satureioides*, popularmente conhecida como Macela, espécie aromática tradicionalmente utilizada, que apresenta propriedades antioxidante, anti-inflamatória, antimicrobiana e analgésica. **Objetivos:** Comparar a atividade antimicrobiana do extrato vegetal das flores e folhas de *A. satureioides* e um de seus componentes principais, a quercetina, entre *Salmonella setubal* (ATCC 19196) e *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212). **Metodologia:** Foram aplicados ensaios antimicrobianos, em triplicata, para a determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM). As amostras foram preparadas em DMSO 5%. Os controles do meio e do crescimento bacteriano consistiram, respectivamente, em meio de cultura apenas ou meio contendo bactérias. A ampicilina, na concentração de 6,25 a 0,006 µg/mL, foi utilizada como controle positivo. A faixa de concentração dos extratos foi de 5.000 - 4,88 µg/mL, e da quercetina de 2.500 - 2,44 µg/mL. **Resultados:** Para o extrato de flores e folhas de *A. satureioides*, as bactérias *Salmonella setubal* e *Enterococcus faecalis* apresentaram CIM de 5.000 µg/mL, enquanto para quercetina a CIM foi > 2.500 µg/mL. Em ambas, o DMSO não apresentou atividade antimicrobiana e houve crescimento em todos os poços do controle positivo das bactérias, bem como ausência no controle do meio de cultura. Ambas as linhagens apresentaram sensibilidade à ampicilina. **Conclusão:** A quercetina não apresentou efeito inibitório significativo, contudo ambos os extratos apresentaram atividade em CIM 5.000 µg/mL, sugerindo que a combinação entre os compostos presentes nos extratos vegetais intensificou a sua ação antimicrobiana. A comparação entre as bactérias evidenciou que os extratos testados apresentaram tanto atividade contra bactéria gram-positiva quanto gram-negativa, apontando suas propriedades antimicrobianas para futuro desenvolvimento de produtos. Financiamento: FAPESP, Processo nº 2023/06410-8.

Palavras-chave: Achyrocline satureioides, Atividade antibacteriana, Salmonella setubal, Enterococcus faecalis, Quercetina.



COMPORTAMENTO ELETROQUÍMICO DA N,N-DIISOPROPILETILAMINA EM ELETRODOS DE CARBONO VÍTREO MODIFICADOS COM NANOTUBOS DE CARBONO

OLYVIA LYRA GOMES DA ROCHA; FRED AUGUSTO RIBEIRO NOGUEIRA; LEONARDO VIEIRA DA SILVA

Introdução: A amina N,N-diisopropiletilamina (PEA) é uma amina terciária e utilizada na preparação de gambierol, uma toxina de éter policíclico marinho e também na síntese de potentes inibidores da memapsina do cérebro humano, um fator chave na progressão da doença de Alzheimer. A importância dessa amina como molécula modelo usada em sínteses e identificação de produtos de interesse biológico torna necessário a compreensão do comportamento eletroquímico em busca de informações relevantes para a aplicação desse composto. Os nanotubos de carbono (NTC) são materiais em escala nanométrica que possuem propriedades atraentes para a construção de sensores eletroquímicos. Dentre suas especificidades, pode-se destacar a sua excelente atividade eletroquímica, alta condutividade eletrônica, grande área de superfície e facilidade de funcionalização. **Objetivo:** Este estudo pretende avaliar o comportamento voltamétrico da amina PEA em diferentes valores de pH na plataforma modificada com nanotubos de carbono. **Materiais e métodos:** A amina foi analisada por voltametria cíclica utilizando um eletrodo de carbono vítreo como eletrodo de trabalho, solução tampão Britton-Robinson com valores de pH de 7, 8, 10, 11 e 12 como eletrólito, um eletrodo de Ag/AgCl como eletrodo de referência e fio de platina como contra eletrodo. A amina foi analisada nas plataformas de carbono vítreo (CV) e CV/NTC. **Resultados:** Em pH 10, valor no qual foram obtidos resultados mais promissores, o voltamograma cíclico da PEA apresenta um pico de oxidação em 0,75 V na plataforma de CV, enquanto na plataforma modificada com NTC, a amina apresenta um deslocamento do pico de oxidação para valores mais baixos, bem definido em 0,65 V, além de um aumento significativo da corrente. **Conclusão:** A amina apresenta eletroatividade nas condições estudadas. Os resultados obtidos indicam que a plataforma modificada com nanotubos de carbono se mostra promissora para o estudo do comportamento dessa amina e comprovam sua relevância para otimizar e melhorar os resultados, permitindo uma compreensão mais abrangente do comportamento eletroquímico da amina em sistemas mais complexos.

Palavras-chave: Plataforma modificada, N-diisopropiletilamina, Sensor, Voltametria, Nanotubos de carbono.



DEGRADAÇÃO DE DESOXINIVALENOL ATRAVÉS DA BIOTRANSFORMAÇÃO POR MICRORGANISMOS BIOPROSPECTADOS

PAULA FERNANDA PETRUF RIBEIRO; RENATO ANTONIO DOS ANJOS

Introdução: O desoxinivalenol (DON), também chamado de vomitoxina, é uma das principais micotoxinas contaminantes de grãos, com incidência em todos os continentes. DON é produzida principalmente por fungos do gênero *Fusarium* e além das perdas econômicas referentes a safra de grãos, elevados riscos são relatados para a saúde humana e animal, pela capacidade de inibir a síntese proteica promovendo imunossupressão. Por ser uma molécula altamente estável em tratamentos químicos e físicos o processamento padrão dos grãos não é capaz de degradar a toxina, e as alternativas existentes na literatura como utilização de ozônio, plasma de argônio e sementes resistentes encarecem o produto final por apresentarem altos custos de operação. A degradação por via biológica a partir da biotransformação da toxina, é uma alternativa economicamente viável e com maior especificidade. **Objetivos:** O objetivo dessa revisão é analisar a eficiência do uso de microrganismos para a degradação de desoxinivalenol *in vitro*. **Metodologia:** Foram selecionados artigos em língua inglesa publicados entre 2003 e 2023, indexados no PubMed, Web of Science, Scopus e Google Scholar e que avaliassem a degradação biológica de DON. Foram utilizadas como palavras-chave os termos "deoxynivalenol", "mycotoxin", "biodegradation" e "biotransformation" nos campos título e resumo. **Resultados:** A utilização de solos com incidência de *Fusarium* para a bioprospecção de microrganismos competidores ou antagonistas foi o método mais relatado para o isolamento de cepas com potencial de degradação de DON, seguido de isolados do intestino de frangos, bovinos e peixes. A cepa com maior potencial de biotransformação da toxina foi o *Bacillus* sp. LS100, com 100% de conversão, enquanto a menor conversão relatada foi de 80,2% utilizando *Pelagibacterium halotolerans* ANSP101. Esses resultados indicam que a biotransformação de DON atinge valores satisfatórios para serem agregados na produção agrícola e animal minimizando os riscos associados a essa micotoxina. **Conclusão:** A degradação de micotoxinas pela ação de agentes biológicos é uma alternativa aos processos de elevado custo de operação, que encarecem o produto final para o consumidor. Novos estudos devem ser realizados para adequar essa nova alternativa para aplicação na lavoura, avaliando a eficiência desses microrganismos fora das condições estabelecidas em laboratório.

Palavras-chave: Micotoxina, Vomitoxina, Desoxinivalenol, Bioprospecção, Biotransformação.



DESAFIOS DA PROPRIEDADE INTELECTUAL NA CONCESSÃO DE PATENTES NA ACADEMIA

MARA GABRIELA RUBENS; CAIO SÉRGIO SANTOS; FRANCISCO MARLON CARNEIRO
FEIJÓ; NILZA DUTRA ALVES; GRAZIELLY DANTAS DA COSTA

Introdução: O Instituto Nacional da Propriedade Industrial (INPI), criado em 1970, é uma autarquia federal que está vinculada ao Ministério da Economia, tendo a responsabilidade de aperfeiçoar, disseminar e gerir o sistema brasileiro de concessão e garantia dos direitos de propriedade intelectual para a indústria e é responsável pela concessão de patentes de Invenção. Além do ensino, pesquisa e extensão, as instituições de ensino superior exercem um importante papel para o empreendedorismo e desenvolvimento econômico local, uma vez que desenvolvem pesquisas que contribuem para a melhoria da vida das pessoas. **Objetivo:** Identificar os principais desafios enfrentados por inventores na academia. **Materiais e Métodos:** A pesquisa foi feita em bases de dados do governo federal e artigos científicos. **Resultados e Discussão:** Segundo o boletim do INPI de dezembro de 2023, houve um aumento nos pedidos de patentes (2,9%) com relação ao ano anterior, correspondendo a 27.918 pedidos, no entanto, a concessão de patentes teve uma queda de -21,1%. No ranking dos 50 maiores depositantes de patentes no ano de 2023, as instituições de ensino superior públicas se destacam, um levantamento do INPI, entre os anos de 2014 e 2019, destaca que 76% das instituições que mais registraram patentes são universidades públicas, caracterizando muitas pesquisas inovadoras na academia. Dentre as principais dificuldades enfrentadas pelos pesquisadores, pode-se destacar a falta de instruções mais precisas na elaboração dos textos de patentes, a falta de recursos financeiros, a demora na análise dos pedidos, que pode chegar até 10 anos, a burocracia para a solicitação e a falta de investimentos públicos em pesquisas. **Conclusão:** A academia representa uma fonte inesgotável de conhecimento e inovação, há a necessidade de maiores investimentos, treinamento de pessoal para auxiliar a elaboração dos textos de patentes, bem a redução da burocracia para o depósito de patentes, investimento em pessoal habilitado por parte do INPI para que haja uma redução na demora das avaliações dos pedidos.

Palavras-chave: Propriedade industrial, Patentes, Academia, Inovação, Universidade.



DESENVOLVIMENTO DE PLATAFORMAS NANOESTRUTURADAS COM POLÍMEROS ELETROGERADOS DA OXIDAÇÃO DE FENÓIS PARA DETERMINAÇÃO E QUANTIFICAÇÃO DE SUBSTÂNCIAS DE RELEVÂNCIA BIOLÓGICA

JÉSSICA HIGINO DE SOUZA; RAUL DOS SANTOS PEREIRA; FRED AUGUSTO RIBEIRO NOGUEIRA; LEONARDO VIEIRA DA SILVA

Introdução: Biomoléculas como as catecolaminas atuam como biomarcadores do estresse oxidativo de diversas patologias, pois são neurotransmissores do sistema nervoso central que estimulam, inibem ou influenciam as atividades das células. Esta classe de mensageiros químicos é composta por dopamina, noradrenalina e adrenalina que também é conhecida como epinefrina. Níveis elevados de epinefrina no sistema nervoso podem estimular inúmeras doenças como doença de Parkinson, infarto do miocárdio e feocromocitoma. Diante da importância para a saúde de quantificar tais substâncias, é crescente nos últimos anos a busca por dispositivos que sejam simples, descartáveis e portáteis. Sensores eletroquímicos vêm ganhando espaço por apresentarem boa seletividade, bom custo benefício e alta sensibilidade, além de serem ferramentas de análise que oferecem capacidade de miniaturização e baixo custo em relação a outras técnicas analíticas. **Objetivos:** Desenvolver um sensor eletroquímico modificado com nanotubos de carbono de paredes múltiplas e polímero eletrogerado da eletro-oxidação do ácido vanílico para detecção e quantificação de epinefrina. **Metodologia:** O eletrodo de carbono vítreo foi acoplado a cela eletroquímica composta por um sistema de três eletrodos, sendo o eletrodo de trabalho de carbono vítreo com e sem modificação com nanotubos de paredes múltiplas, eletrodo de referência Ag|AgCl e o eletrodo auxiliar um fio de platina conectados a um potenciostato da Echo Chemie (Autolab® modelo PGSTAT-30). Técnicas como a voltametria cíclica e voltametria de pulso diferencial foram utilizadas para obtenção de parâmetros cinéticos, caracterização analítica da superfície sensora e otimização dos parâmetros experimentais. **Resultados:** Utilizando a técnica de voltametria cíclica foi observado a geração três pares redox baseados no sistema quinona/hidroquinona, o perfil voltamétrico sugere a formação de polímero na superfície do eletrodo modificado. Estudos por voltametria de pulso diferencial foram realizados para obter uma curva analítica de epinefrina sobre a plataforma que apresentou um LD de 4,07 $\mu\text{mol L}^{-1}$. **Conclusão:** O sensor proposto encontra-se em desenvolvimento, entretanto já foi possível verificar a formação de um sistema redox que melhoram as respostas eletroanalíticas da plataforma e sob condições experimentais previamente otimizadas foi construída a curva analítica a partir da corrente resultante versus concentração de epinefrina, que apresentou um limite de detecção dentro do aceitável.

Palavras-chave: Sensores modificados, Epinefrina, Nanotubos, Fenóis, ácido vanílico.



DESENVOLVIMENTO E AVALIAÇÃO DE ANTICORPOS IGY PARA DETECÇÃO DE MALÁRIA

JULIANE CORRÊA GLÓRIA; ELIZA RAQUEL DUARTE DA SILVA; ALICE PEREIRA DE ALENCAR; CAIO COUTINHO DE SOUZA; LUIS ANDRE MORAIS MARIUBA

Introdução: A malária ainda representa um grave problema de saúde pública, apresentando altos índices de morbidade e mortalidade. Uma das medidas mais importantes para o controle desta doença é o seu diagnóstico precoce e eficaz. Existem vários métodos de diagnóstico, dentre os quais os diagnósticos imunológicos se destacam. Tais métodos se baseiam na interação antígeno-anticorpo, sendo que os anticorpos monoclonais e policlonais são as principais ferramentas que compõem os testes comercialmente disponíveis. Os métodos clássicos para obtenção de anticorpos específicos para detecção de malária envolvem a utilização de mamíferos, implicando em gargalos éticos e econômicos. A tecnologia IgY vem como uma alternativa à utilização de mamíferos, reduzindo a quantidade de animais requeridos, dispensando a eutanásia e sangria e resultando em alto rendimento de anticorpos específicos. **Objetivo:** Sendo assim, demonstramos neste trabalho a utilização dessa tecnologia para obtenção de imunoglobulinas do tipo Y contra peptídeos de lactato desidrogenase de plasmódio e glutamato desidrogenase de plasmódio. **Metodologia:** utilizando nanotubos de carbono solubilizados como moléculas carreadoras, galinhas foram imunizadas com peptídeos selecionados a partir de análise por bioinformática das proteínas em estudo. Os animais apresentaram níveis detectáveis de anticorpos contra os três peptídeos utilizados. Diferentes métodos de purificação foram avaliados para obtenção dos anticorpos do ovo das galinhas imunizadas, sendo o mais eficiente o método de precipitação por acidificação. Em seguida, a capacidade de reconhecimento dos anticorpos ao antígeno nativo foi avaliada utilizando amostras de pacientes por meio de citometria de fluxo baseado em esferas (CBA). **Resultados:** Os dois anticorpos direcionados ao antígeno pLDH apresentaram resultados promissores, sendo um capaz de detectar malária causada pela *Plasmodium vivax* e *Plasmodium falciparum*, e segunda capaz de detectar especificamente *Plasmodium falciparum*. O anticorpo direcionado à proteína GDH não apresentou resultado satisfatório, contendo uma alta taxa de reatividade cruzada com amostras negativas. **Conclusão:** Os anticorpos aqui desenvolvidos poderão ser testados em métodos de diagnóstico rápido da doença, assim como a metodologia descrita pode servir como base para o desenvolvimento de novos insumos contra diferentes doenças.

Palavras-chave: Malaria, Plasmodium, Igy, Anticorpo, Diagnostico.



DESENVOLVIMENTO POR HIBRIDIZAÇÃO MOLECULAR E BIOISOSTERISMO DE ANÁLOGOS CÍCLICOS DO LQB-278 PARA O TRATAMENTO DAS LEUCEMIAS

RACHELL RAMALHO CORREIA THIMOTEO; CRISTIANE MENDES THIMOTHEO; GRAÇA JUSTO

Introdução: As leucemias são o principal tipo de câncer infanto-juvenil no Brasil e no mundo, além de uma das principais causas de morte nesta faixa etária. Seu tratamento atual é realizado através da poliquimioterapia, sendo o mesmo extremamente agressivo e ainda existir o risco de resistência à terapia. Pesquisas buscam desenvolver novas moléculas que possuam propriedades farmacológicas duplas, assegurando melhor eficácia terapêutica e menor efeito colateral, e a química sintética tem trago importantes colaborações neste campo utilizando ferramentas como a hibridização e o bioisosterismo para construção destes protótipos. O estudo da relação estrutura-atividade de diferentes compostos sintéticos tem revelado importantes estruturas com ação antitumoral, entre elas o LQB-278, uma nova e inédita molécula sintetizada pela hibridização do fragmento terpênico geranila no anel aromático do N-Fenil-t-butilnitrona, qual apresentou importante ação antileucêmica *in vitro*. Modificações estruturais no terpenila nitrona LQB-278 através do bioisosterismo geraram diferentes análogos dos quais três promoveram aumento da ação citotóxica em linhagens de leucemia linfóide aguda Jurkat. **Objetivo:** Nossa finalidade neste trabalho é apresentar uma revisão bibliográfica sobre a importância do LQB-278 e seus análogos como moléculas sintéticas promissoras no efeito antileucêmico. **Métodos:** Foi realizada uma intrínseca revisão bibliográfica no PUBMED no qual foram apurados os mais recentes artigos sobre o LQB-278 e seus análogos, além de diversos trabalhos relacionados moléculas híbridas no tratamento do câncer e leucemias. Os artigos estudados para esta revisão são de revistas indexadas de alto impacto e com QUALIS/CAPES A2-B1. **Resultados:** Nesta revisão é demonstrada a importância do LQB-278 e seus análogos na ação antileucêmica, assim como técnicas de hibridização molecular e bioisosterismo podem contribuir na construção de novas drogas para o tratamento do câncer. Entre os derivados, os LQB-292, LQB-287 e LQB-461 mostraram destaque no tratamento da linhagem de leucemia Jurkat, tendo este último demonstrado ativação da via intrínseca e extrínseca da apoptose e superação de mecanismos de resistência celular. **Conclusão:** A hibridização molecular associada ao bioisosterismo podem ser ferramentas poderosas para síntese de moléculas promissoras no tratamento do câncer, dentre elas o LQB-278 e seus análogos LQB-292, LQB-287 e LQB-461, quais tem demonstrado importante ação antileucêmica *in vitro* descrita na literatura.

Palavras-chave: Resumo bibliográfico, Leucemias, Lqb-278, Hibridização molecular, Bioisosterismo.



DETECÇÃO DE FUNGOS ASSOCIADOS AO DECLÍNIO E MORTE DE VIDEIRAS NO RIO GRANDE DO SUL POR TÉCNICAS DE PCR

KELLY CORDOLINO ADÃO; FÁBIO ROSSI CAVALCANTI

Introdução: As podridões de tronco da videira representam um problema ao setor vitivinícola mundial, em decorrência dos prejuízos gerados pelo declínio e morte de plantas causados por fungos fitopatogênicos. Dentre elas, destaca-se a “doença de Petri” causada pela associação da espécie *Phaeoconiella chlamydospora* com várias espécies de *Phaeoacremonium spp.*, e o ‘pé-preto’ causado pelas espécies de fungos dos gêneros *Cylindrocarpon spp.* e *Ilyonectria spp.*. Muitas vezes, os agentes causadores dessas podridões do tronco da videira estão presentes na mesma amostra de tecido vegetal, dificultando a identificação dos mesmos por metodologias de diagnose clássicas, que também são mais lentas e imprecisas. **Objetivo:** Ajustar e desenvolver métodos de PCR para detecção de fungos causadores dessas podridões, isolados de amostras infectadas em vinhedos comerciais no Rio Grande do Sul. **Materiais e Métodos:** Para isso, realizou-se a extração de DNA total da biomassa fúngica dos isolados pelo método fenol: clorofórmio: álcool: isoamílico. Ensaio de detecção dos patógenos por iniciadores específicos foram desenvolvidos. O par de iniciadores específicos CylF e CylR foi aplicado para detecção específica dos agentes causais do ‘Pé-preto’ no DNA-molde dos isolados. Iniciadores específicos para identificação de *Phaeoconiella chlamydospora* (Pmo1 e Pmo2), *Phaeoacremonium spp* (Pal1N e Pal2) e *Cylindrocarpon/Ilyonectria* (CylF/CylR) também foram usados para detecção do DNA fúngico por PCR *Nested*, a partir de sequências-molde da região ITS1/2 obtidas com iniciadores ITS5 e ITS4. **Resultados:** Foi possível ajustar um programa de amplificação para identificação das espécies associadas ao ‘Pé-preto’ em PCR direta e otimizar um programa de segunda rodada de PCR *Nested* para detecção específica de cada espécie estudada. **Conclusão:** A detecção dos fungos de podridão de tronco da videira é de extrema importância para a garantia da qualidade fitossanitária do material propagativo de videira, impedindo a contaminação de novas áreas de produção.

Palavras-chave: Detecção molecular, *Phaeoconiella chlamydospora*, *Phaeoacremonium spp*, *Cylindrocarpon spp*, *Ilyonectria spp*.



DETERMINAÇÃO DO POTENCIAL TUMORIGÊNICO DAS CÉLULAS ESTROMAIS MESENQUIMAIS DA MEDULA ÓSSEA

LETICIA VITORIA MORAES YAN; BIANCA POLAK FURMAN; DÉBORA REGINA DAGA;
DANIELA BOSCARO MARSARO; CARMEN LÚCIA KUNIYOSHI REBELATTO

Introdução: As células estromais mesenquimais derivadas da medula óssea (CEM-MO) têm sido utilizadas na medicina regenerativa devido ao seu potencial anti-inflamatório e de regeneração tecidual. Estas células são utilizadas no desenvolvimento de Produtos de Terapia Avançada (PTA) e de acordo com a legislação vigente (RDC 508/2021 – ANVISA) há a necessidade da realização de testes de controle de qualidade para garantir a segurança do PTA que será utilizado no tratamento dos pacientes que participam dos ensaios clínicos. Durante a produção de um PTA as células são submetidas a uma extensa manipulação, o que pode causar instabilidades genéticas nas CEM-MO e aumentar seu potencial tumorigênico. Este potencial pode ser avaliado pelo ensaio de formação de colônias em soft ágar que se baseia na habilidade das células com potencial tumorigênico de crescerem independente de ancoragem e formarem colônias. **Objetivo:** Avaliar o potencial tumorigênico das CEM-MO como controle de qualidade das amostras que estão criopreservadas no Biobanco do Centro de Tecnologia Celular (CTC) da PUCPR. **Materiais e Métodos:** O estudo tem aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa (CAEE: 68585123.1.0000.0020). Foram utilizadas cinco amostras de CEM-MO e células HeLa como controle positivo. O ensaio de formação de colônias em soft ágar consistiu na utilização de duas concentrações de ágar (1% e 0,6%) onde 20.000 CEM-MO e células HeLa foram semeadas em placa de 6 poços, em duplicata técnica e incubadas em estufa com 5% de CO₂, a 37°C, por 21 dias. Neste ensaio o crescimento das CEM-MO foi comparado ao das células HeLa, que apresentam potencial tumorigênico (controle positivo). **Resultados:** Após 21 dias, foi realizado o registro fotográfico e observou-se que as CEM-MO crescem de forma isolada e não formaram colônias, enquanto as células HeLa, por serem tumorigênicas, crescem independente de ancoragem, formando colônias. **Conclusão:** Neste ensaio foi possível demonstrar que o processo de fabricação de um PTA a base de CEM-MO, utilizado no CTC/PUCPR é seguro em relação a tumorigenicidade, garantido a qualidade e eficácia para futura utilização em ensaios clínicos na medicina regenerativa.

Palavras-chave: Produto de terapia avançada, Controle de qualidade, Segurança, Eficácia, Anti-inflamatório.



DETERMINAÇÃO DOS FENÓIS TOTAIS DO HIDROLATO DE *OCIMUM GRATISSIMUM* LINEU

ANTONIO NEUDIMAR BASTOS COSTA; PAULO SERGIO CORREA SIEBRA; GRACIANNY FERNANDES MAGALHÃES; MARIA ALANA DUARTE MARINHO; MAGDA ELISA TURINI DA CUNHA

Introdução: O *Ocimum gratissimum* Lineu, popularmente conhecido como alfavaca, manjeriço, alfavacão ou alfavaca-cravo, é uma espécie da família Lamiaceae, nativa da África e da Ásia, mas presente em todo o território brasileiro. Além de seu uso como tempero na culinária, por possuir sabor e odor similar ao Cravo-da-Índia, os extratos obtidos da planta possuem inúmeros benefícios medicinais, tais como efeitos no relaxamento da musculatura lisa do trato gastrointestinal, ação hipoglicemiante, antioxidante, antiinflamatória e antidiarreica, são descritos na literatura. **Objetivo:** Determinar os fenóis totais do hidrolato da *Ocimum gratissimum* Lineu, para uma possível utilização na indústria farmacêutica. **Metodologia:** Trata-se de um estudo analítico, experimental, quantitativo. A planta foi coletada no Horto de Plantas Medicinais do Centro Universitário INTA - UNINTA - Sobral e realizada a extração por hidrodestilação e calculado o rendimento de extração. Para a quantificação dos fenóis totais foi realizado os seguintes testes: teste de Folin Ciocalteu, teste de Salkowski, teste de Liebermann Burchardt, teste do Cloreto de Ferro. **Resultados:** Os resultados obtidos para cada teste foram Teste de Folin Ciocalteu: POSITIVO, com 135,41 mg de fenóis totais; Teste de Salkowski: POSITIVO; Teste de Liebermann Burchardt: POSITIVO; Teste do Cloreto de Ferro: POSITIVO. Vários fatores podem interferir na quantidade de fenóis totais que podem ser extraídos das plantas. A fertilização que é feita para o cultivo, a localização e a época da colheita são fatores que estão diretamente relacionados com o conteúdo fenólico na planta em questão *Ocimum gratissimum*. Na literatura já é descrito a presença desses compostos testados nesse trabalho como: fenóis e taninos, porém ainda há carência de pesquisas mais detalhadas em diferentes técnicas de extração. **Conclusão:** A partir do exposto acima, é possível concluir que o hidrolato de *Ocimum gratissimum* é rico em fenóis totais, terpenos, triterpenos e taninos, sendo possível sua utilização na produção farmacêutica. E como já bem descrito em literatura seus benefícios farmacológicos, é de grande relevância que sejam realizados mais estudos e é fundamental a busca pela identificação quantitativa dos compostos química presentes no referido hidrolato.

Palavras-chave: Aerossois, Fenóis, Alfavaca-cravo, *Ocimum gratissimum*, Antioxidante.



EFEITO LARVICIDA IN VITRO DO ÓLEO DE UVA ASSOCIADO AO ÓLEO DE CAFÉ NO CONTROLE DO CARRAPATO RHIPICEPHALUS (BOOPHILUS) MICROPLUS

JOÃO VITOR CARVALHO CONSTANTINI; ROSEMEIRE CRISTINA LINHARI RODRIGUES PIETRO; CAMILA CRISTINA BACCETTI MEDEIROS; RODRIGO SORRECHIA

Introdução: O controle eficaz do carrapato *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* é de extrema importância na pecuária, visando prevenir prejuízos econômicos e promover a saúde do gado bovino. Nesse contexto, estratégias inovadoras são necessárias para abordar esse desafio, e a fitoterapia surge como uma alternativa promissora. Este estudo focaliza o uso associado do óleo de café verde e do óleo de semente de uva, por serem ricos em metabólitos, como ácido clorogênico e resveratrol, respectivamente, que apresentam propriedades antioxidantes e antimicrobianas reconhecidas. Explorar os benefícios desses compostos naturais pode representar uma abordagem sustentável e eficaz para mitigar os impactos dos carrapatos na produção pecuária. **Objetivo:** Analisar os efeitos larvicidas da associação do óleo de café verde e óleo de semente de uva, frente a larvas de *R. (B.) microplus*. Este trabalho faz parte da linha de pesquisa do laboratório de Biotecnologia Farmacêutica da FCFAR – UNESP, em parceria com a EMBRAPA - Sudeste, que visa a realização de um screening randômico na busca por drogas vegetais com ação larvicida/carrapaticida. **Metodologia:** Para a análise do efeito larvicida in vitro da associação do óleo de café verde e óleo de semente de uva, frente aos carrapatos *R. (B.) microplus*, foi utilizado o teste de contato com papel impregnado (TCPI) com as concentrações de 12,5; 25; 50 e 100 µL/mL de cada extrato, associados, diluídos em água Milli-Q e Tween 80® 2%. Como controle negativo foi utilizada água Milli-Q e Tween 80® 2%. **Resultados e Discussão:** Os resultados obtidos no TCPI demonstraram pequenos efeitos larvicidas da associação de óleos frente aos carrapatos *R. (B.) microplus* nas concentrações de 100 e 50 µL/mL, obtendo médias de 6 % e 3 % de mortalidade, respectivamente. **Conclusão:** Os efeitos acaricidas da associação do óleo de café verde e óleo de semente de uva fornecem subsídios para fomentar novas pesquisas em diferentes concentrações e fases do ciclo de desenvolvimento do carrapato, além de possíveis associações dos óleos com produtos biotecnológicos, como a associação de fungos, visando a potencialização da porcentagem de mortalidade e, deste modo, possibilitando o seu uso no controle biológico de carrapatos na bovinocultura.

Palavras-chave: *Rhipicephalus (boophilus) microplus*, Atividade larvicida, Atividade acaricida, óleo de café verde, óleo de semente de uva.



EFEITO LETAL DE EMULSÕES DE ÓLEO ESSENCIAL DE CITRUS SINENSIS E DE SEU COMPOSTO MAJORITÁRIO LIMONENO EM ADULTOS DE DROSOPHILA SUZUKII (MATSUMURA, 1931)

VIVIANA CAROLINA BOJACÁ LÓPEZ; JULIE KENNYA DE LIMA FERREIRA; ROCIO Y. FARRO-BARBARÁN; KHALID HADDI

Introdução: *Drosophila suzukii*, é uma espécie invasora que vem causando danos econômicos em frutas vermelhas nativas e exóticas em diversos países. Atualmente seu controle principalmente no uso de inseticidas sintéticos, porém estes são capazes de afetar negativamente outros organismos, além de causar poluição ambiental. Os óleos essenciais (OE) têm-se mostrado promissores no controle de pragas em abordagens sustentáveis e respeitosas ao meio ambiente. **Objetivo:** O presente estudo objetivou avaliar a toxicidade de emulsões de óleo essencial de *Citrus sinensis* (laranja doce) e de seu composto majoritário limoneno em *D. suzukii*. **Material e métodos:** As moscas foram expostas às emulsões de óleo essencial de laranja doce (OE) e emulsões de limoneno em três proporções diferentes (água:tween 80). O conteúdo das emulsões correspondeu a 2,5% (1:1), 5% (1:2) e 7,5% (1:3) de OE ou limoneno e de Tween 80 (p/v). As moscas são provenientes de uma população mantida no Laboratório de Entomologia Molecular e Ecotoxicologia (MEET), do Departamento de Entomologia (DEN) da Universidade Federal de Lavras (UFLA). As emulsões (2.2 ml) foram aplicadas em roletes de algodão em potes de vidro de 250 ml, em que foram inseridas 25 moscas por pote em triplicata por tratamento. Como controle foi utilizada água açucarada a 20%. Os experimentos foram mantidos sob condições controladas (T°: 25±2°C, UR:60±5% e fotofase 12H). A mortalidade foi avaliada após 24H. **Resultados:** Observou-se alta toxicidade das emulsões nas proporções de 1:1 e 1:3 para OE de laranja e 1:1 e 1:2 para limoneno. As % de mortalidade foram de 57,3% e 54,7% para OE de laranja e de 76% e 41,3% para limoneno. **Conclusão:** O estudo demonstrou atividade positiva na mortalidade de *D. suzukii* quanto a exposição de emulsões de OE de laranja e limoneno. Isso abre possibilidades para novos estudos acerca do potencial inseticida de óleos essenciais.

Palavras-chave: Laranja doce, Biotecnologia, Controle de pragas, Emulsão, óleo essencial.



EFEITOS DO PESTICIDA MANCOZEBE EM DESFECHOS NEUROCOMPORTAMENTAIS DE ZEBRAFISH ADULTOS

KETLEN VIEIRA BORGES; MARCOS FREITAS CORDEIRO

Introdução: O mancozebe (MZ) é um pesticida atualmente liberado no Brasil, da família dos carbamatos e está entre os pesticidas mais utilizados no país. Possui manganês (Mn) e zinco (Mn) em sua composição, metais cuja exposição está associada a danos neurotóxicos. Pouco se sabe sobre os efeitos que esse contaminante pode causar quando em concentrações e ocorrências ambientalmente relevantes. Sendo assim, é de extrema importância a realização de estudos comportamentais que investiguem os impactos da exposição do MZ. **Objetivo:** Esta pesquisa objetivou avaliar respostas neurocomportamentais (atividade exploratória, ansiedade e agressividade) de zebrafish adultos expostos ao MZ. **Materiais e Métodos:** Os animais foram aleatoriamente distribuídos em três grupos experimentais (n = 30), sendo um o controle e dois grupos expostos a uma formulação comercial de MZ diluída em 180 e 360 µg/L, durante 96 h. Os animais foram submetidos aos testes comportamentais de campo aberto, tank diving e agressividade contra reflexo. **Resultados:** Foi observado que peixes expostos à menor concentração de MZ por 96 h apresentaram redução significativa na atividade locomotora/exploratória e mais tempo na zona de fundo, interpretado como mais comportamento tipo-ansioso. Apesar de terem se mostrado mais similares ao controle na atividade locomotora e tank diving, os peixes expostos à maior concentração testada (360 µg/L) apresentaram redução significativa no tempo em confronto com o reflexo. **Conclusão:** Nossos dados indicam que a exposição aguda ao MZ na concentração de 180 µg/L já é suficiente para desencadear alterações neurocomportamentais (déficits locomotores e ansiedade) detectáveis em zebrafish adultos, não sendo este um efeito dose-dependente.

Palavras-chave: Agroquímicos, Ansiedade, Comportamento e mecanismos comportamentais, Manganês, Zinco.



ENGENHARIA DE PROTEÍNAS CONTRA A POLUIÇÃO POR PET: ANÁLISE MOLECULAR DE VARIANTES DA PETASE

BRUNA LETÍCIA PORTILHO FURTADO; CLAUBER HENRIQUE SOUZA DA COSTA;
CARLOS GABRIEL DA SILVA DE SOUZA; JERÔNIMO LAMEIRA

Introdução: A pesquisa aborda as preocupações ambientais e de saúde relacionadas ao polietileno tereftalato (PET), destacando a descoberta da capacidade da enzima PETase, encontrada na bactéria *Ideonella sakaiensis*, em degradar o PET. No entanto, a eficácia da PETase é limitada pela sua estabilidade térmica. O estudo propõe investigar três variantes da PETase através de simulações de dinâmica molecular para entender suas alterações estruturais e funcionais, visando melhorar sua eficácia na degradação do PET e contribuir para soluções ambientais. **Objetivo:** O objetivo primordial deste estudo é realizar uma investigação detalhada das três variantes da PETase (R280A, S121D/D186H e S121E/D186H/R280A), escolhidas por sua atividade enzimática ligeiramente aprimorada em relação à enzima selvagem. Para isso, serão empregadas simulações avançadas de dinâmica molecular, visando compreender as modificações estruturais e funcionais dessas variantes. **Materiais e Métodos:** Os métodos empregados neste estudo envolveram o uso de estruturas da PETase, enquanto o ligante PET foi construído a partir da estrutura tridimensional e as simulações de dinâmica molecular foram conduzidas utilizando técnicas padrão. As simulações foram executadas para a PETase selvagem e suas variantes, com uma duração total de 500ns, permitindo uma análise detalhada das alterações estruturais e modificações induzidas pela ligação do substrato PET. **Resultados e Discussão:** Os resultados das simulações de dinâmica molecular revelaram que as variantes da PETase (R280A, S121D/D186H e S121E/D186H/R280A) apresentaram desvios estruturais mais pronunciados em comparação com a enzima selvagem, conforme evidenciado pela análise do Root Mean Square Deviation (RMSD). Especificamente, as mutações induziram maiores flutuações conformacionais nas estruturas das variantes, indicando alterações significativas em suas conformações em comparação com a PETase selvagem. Além disso, a análise do Root Mean Square Fluctuation (RMSF) revelou padrões de flutuação distintos entre as variantes e a enzima selvagem. Regiões específicas das variantes, como os locais das mutações, demonstraram maior flutuação em comparação com a PETase selvagem, sugerindo alterações na dinâmica estrutural induzidas pelas mutações. **Conclusão:** Essas análises fornecem insights valiosos sobre as mudanças conformacionais e dinâmicas das variantes da PETase em comparação com a enzima selvagem, destacando a influência das mutações na estrutura e estabilidade da enzima auxiliando na mitigação dos problemas ambientais associados a esse polímero.

Palavras-chave: Pet, Petase, Simulação computacional, Dinâmica molecular, Biodegradação.



ENSAIOS PARA DETECÇÃO DE CONTAMINAÇÕES BACTERIANAS EM PROCESSOS FERMENTATIVOS ATRAVÉS DA ESPECTROMETRIA DE MASSA

EVERALDO LAZARO DA ENCARNACAO

Introdução: O uso da espectrometria de massa já está consolidado para processos aeróbicos através da análise do *off gas* dos biorreatores monitorando variáveis como a *taxa de oxigênio consumido*, a *taxa de liberação de CO₂*, o *quociente respiratório* e o *K_{la}*. Estas variáveis entregam para o operador a condição de controlar o ambiente aeróbico e correlações matemáticas podem ser feitas para que outros parâmetros possam ser levantados. Já nos processos anaeróbicos muitas variáveis também podem ser acompanhadas como por exemplo o CO₂, o etanol e outras substâncias presentes no *off gas*. O monitoramento contínuo dos componentes do *off gas* pode dar subsídios para o entendimento do comportamento das leveduras e bactérias além de facilitar ações de controle no sentido de otimizar a produção e redução de gastos com insumos. Foram efetuados experimentos práticos para análise do comportamento de uma fermentação anaeróbica com a levedura *Saccharomyces cerevisiae*. O foco principal seria detectar o ácido acético no *off-gas* para poder detectar e mensurar através de correlações matemáticas a contaminação do processo por bactérias acéticas. **Objetivos:** Identificar e quantificar no *off gas* de fermentadores a presença de ácido acético com o uso de um espectrômetro de massa. **Metodologia:** Foi feita uma pesquisa experimental com abordagem qualitativa. **Resultados:** Foi constatada a presença do ácido acético no *off gas* do fermentador em todos os ensaios realizados. Esta presença foi evidenciada pela evolução positiva do valor estimado do ácido acético como resultado da análise do espectrômetro de massa. **Conclusões:** Com a correta medição do ácido acético no *off gas*, é possível se estabelecer uma correlação matemática com a quantidade de ácido acético presente no mosto, podendo-se assim mensurar a quantidade de ácido acético gerada durante a fermentação. A percepção antecipada da proliferação de bactérias acéticas, reduz o consumo de antibióticos necessários no combate destas contaminações. Ainda são necessários novos testes que sejam mais quantitativos através da calibração do espectrômetro de massa, removendo através dessa calibração qualquer interferente que possa mascarar os resultados para entrega de resultados fidedignos do ácido acético e outros analitos de interesse.

Palavras-chave: Contaminação bacteriana, Fermentação, Off gas, Espectrômetro de massa, Processos aeróbicos.



ESTABILIDADE TÉRMICA DE LACASES PRODUZIDAS POR *PLEUROTUS OSTREATUS* CULTIVADO NA PRESENÇA DE PLÁSTICO LDPE

DANIEL SARAIVA ROESSING; JUAN DIEGO RIBEIRO DE ALMEIDA; CARLOS DANIEL SANTOS DE SOUZA; NAIRA SULANY OLIVEIRA DE SOUZA; ROBERT LANGLADY LIRA ROSAS FILHO

Introdução: O polietileno (PE) é o plástico mais produzido globalmente e apresenta notável resistência à degradação natural, contribuindo significativamente para a poluição ambiental e causando impactos em diversos ecossistemas e organismos, incluindo o ser humano. A biodegradação de PE por fungos tem emergido como uma alternativa promissora e ecologicamente aceitável para o seu manejo. Fungos como o cogumelo comestível *Pleurotus ostreatus* têm mostrado potencial para degradar o PE, através da produção de enzimas oxidativas como lacases e peroxidases. **Objetivo:** O objetivo deste experimento foi avaliar a estabilidade térmica de lacases produzidas por *P. ostreatus* cultivado na presença de filmes de polietileno de baixa densidade (LDPE) sob fermentação líquida. **Material e métodos:** A cepa *Pleurotus ostreatus* CPOINPA1 foi cultivada com filmes de LDPE em erlenmeyers contendo 50 mL de meio caldo mineral, suplementado com 0,3% de extrato de levedura, em condições estacionárias a 27°C, durante 30 dias. Após esse período, os extratos enzimáticos dos cultivos foram coletados e, em seguida, incubados às temperaturas de 25°C, 50°C, 70°C e 90°C durante uma hora. Em seguida, a atividade de lacases dos extratos foi medida por meio de ensaios colorimétricos. **Resultados:** A atividade de lacase média dos extratos produzidos por *P. ostreatus* CPOINPA1 foi de $387,6 \pm 30,0$ UI/L em 25°C, $393,4 \pm 39,4$ UI/L em 50 °C, e $346,5 \pm 40,7$ UI/L em 70°C. Não foi detectada atividade de lacase em 90°C. **Conclusão:** As lacases produzidas por *P. ostreatus* CPOINPA1 cultivado na presença de LDPE demonstraram atividade consistente na faixa de 25°C a 70°C, apresentando potencial para aplicação em bioprocessos de até 70°C. Estes resultados podem contribuir para futuros estudos de otimização da degradação fúngica de PE.

Palavras-chave: Biodegradação, Plástico ldpe, *Pleurotus ostreatus*, Lacase, Estabilidade térmica.



ESTUDO DO EFEITO DO EXTRATO DE HORTELÃ SOBRE O CULTIVO DA MICROALGA *DUNALIELLA SALINA*

AGATHA GONÇALVES ARAÚJO; STEPHANIE FRANÇA CARNEIRO; ALINE KIRIE GOHARA BEIRIGO; ÉVELLIN DO ESPIRITO SANTO; JOÃO CARLOS MONTEIRO DE CARVALHO

Introdução: A fome, devido à iminente sobrepopulação, é uma das questões mais importantes nos tempos atuais. Neste contexto, a microalga *Dunaliella salina* vem atraindo cada vez mais a atenção no meio científico por ser rica em carotenoides, principalmente o β -caroteno (precursor da vitamina A) e pela capacidade de ser cultivada sustentavelmente, auxiliando na redução de gases do efeito estufa, além de desempenhar papel relevante na indústria e economia. Diversas inovações estão voltadas para buscar formas de cultivos mais eficientes e com maior concentração celular. Dessa forma, os extratos vegetais antioxidantes possuem alto potencial em razão da sua habilidade de neutralizar espécies reativas de oxigênio (ROS) e proteger as células contra danos oxidativos, esses compostos funcionam como agentes protetores, reduzindo o estresse oxidativo e mantendo a viabilidade e o desenvolvimento celular. **Objetivos:** O objetivo deste trabalho foi avaliar a influência do extrato aquoso de hortelã no cultivo da *Dunaliella salina*. **Metodologia:** O cultivo de *Dunaliella salina* foi realizado em Erlenmeyer contendo 100mL de meio sintético com 1,5M de NaCl. No controle utilizou-se meio de cultura padrão, e no teste adicionou-se 0,5% (p/v) de extrato aquoso de hortelã, sendo incubados a 25 °C, 110 rpm, $80 (\pm 10) \mu\text{mol f\u00f3tons.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$, com controle de pH por injeção de CO_2 nos primeiros 15 dias até atingir a fase estacionária. Neste estágio, a luminosidade foi aumentada para $120 (\pm 10) \mu\text{mol f\u00f3tons.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$, e o CO_2 foi dispensado. O crescimento foi acompanhado por meio da contagem celular em câmara de Neubauer e análise da integridade celular por microscopia (Olympus BX51). **Resultados:** A concentração celular máxima do controle e teste foi de $226,83 \times 10^4$ células.mL⁻¹ no dia 12 e $338,18 \times 10^4$ células.mL⁻¹ no dia 19 de cultivo, respectivamente. Embora o cultivo controle tenha atingido a fase estacionária e iniciado processo de carotenogênese mais rápido, o cultivo teste apresentou um aumento de 50% na concentração celular máxima. **Conclusão:** O extrato aquoso de hortelã mostrou um efeito positivo atuando na concentração celular do cultivo, podendo ser aplicado como método de cultivo mais eficiente.

Palavras-chave: Crescimento, Microalga, *Dunaliella salina*, Extrato, Cultivo.



ESTUDO DO EFEITO DO FITORMÔNIO ÁCIDO SALICÍLICO SOBRE O DESENVOLVIMENTO DA MICROALGA DUNALIELLA SALINA

STEPHANIE FRANÇA CARNEIRO; AGATHA GONÇALVES ARAÚJO; ALINE KIRIE GOHARA BEIRIGO; ÉVELLIN DO ESPIRITO SANTO; JOÃO CARLOS MONTEIRO DE CARVALHO

Introdução: Atualmente, uma grande problemática é a produção de alimentos para suprir a população mundial prevista para atingir 9,7 bilhões até 2050. Neste contexto, as microalgas possuem alto potencial para promover soluções inovadoras pois, além de realizarem fotossíntese e contribuírem para a redução de gases do efeito estufa, ainda podem fornecer macronutrientes e compostos bioativos. Diversos estudos estão sendo desenvolvidos a fim de aumentar a concentração celular e produtividade de compostos de interesse nutricional e comercial. Assim, o ácido salicílico, hormônio vegetal conhecido por suas propriedades biológicas de crescimento em plantas, está sendo alvo de interesse devido à sua influência no cultivo e processo de carotenogênese da microalga *Dunaliella salina*. Estudos revelaram efeitos na regulação de diversas funções fisiológicas e metabólicas, abrindo caminho para avanços na biotecnologia e melhoria do cultivo. **Objetivo:** O objetivo deste trabalho foi avaliar a influência do fitohormônio ácido salicílico no desenvolvimento da microalga *Dunaliella salina*. **Metodologia:** A cepa de *Dunaliella salina* foi cultivada em Erlenmeyer com 100mL de meio sintético com salinidade 1,5M de NaCl, sendo o controle, e o hormônio vegetal foi adicionado no experimento teste (50mg/L). As incubações foram realizadas a 25 °C/110 rpm/80 (± 10) μmol fótons/ $\text{m}^2 \cdot \text{s}$ e controle de pH por injeção de CO₂ nos 15 primeiros dias até atingir a fase estacionária. A partir disso, a luminosidade foi aumentada para 120 (± 10) μmol fótons/ $\text{m}^2 \cdot \text{s}^1$ e o CO₂ foi dispensado. O crescimento foi acompanhado através da contagem celular em câmara de Neubauer e análise da integridade celular por microscopia (Olympus BX51). **Resultados:** As amostras controle e teste atingiram valores máximos de concentração celular na fase estacionária de 259,6 \pm 53,8 e 236,8 \pm 30,0 células/mL, respectivamente no dia 17 de cultivo. Embora a concentração máxima tenha sido semelhante, a amostra teste apresentou um ciclo mais rápido de carotenogênese (29 dias), ficando laranja num período mais curto do que a controle (36 dias), o que também levou ao declínio celular mais rapidamente. **Conclusão:** O hormônio vegetal ácido salicílico mostrou efeito positivo para acelerar o ciclo de carotenogênese da *Dunaliella salina*, tendo potencial para ser aplicado em larga escala, sendo necessárias análises mais detalhadas de carotenoides.

Palavras-chave: Fitormônio, Microalga, Carotenoides, Cultivo, *Dunaliella salina*.



ESTUDO DO FIPRONIL EM DIFERENTES VALORES DE PH PARA SUA DETECÇÃO EM ÁGUAS MANANCIAIS COM SENSORES BASEADOS EM NANOTUBOS DE CARBONO

GIOVANNA GRAZIELLA ANCELMO NOGUEIRA; LARISSA FREIRE DA SILVA MATOS; NAELY DE LIMA DA SILVA; LEONARDO VIEIRA DA SILVA; FRED AUGUSTO RIBEIRO NOGUEIRA

Introdução: A utilização global de pesticidas na produção agroindustrial tem como finalidade controlar diversos organismos prejudiciais. Todavia, há uma crescente preocupação acerca do destino de descartes seguros dessas substâncias, visto que, o uso descontrolado na agricultura tem ocasionado em problemas de saúde pública e contaminação ambiental, principalmente referente à contaminação de rios e mananciais. O fipronil é um inseticida amplamente utilizado no cultivo da cana-de-açúcar. Em meio aquático, produz o dessufinil, composto esse que apresenta atividade neurotóxica, assim como a molécula de origem. Essa sua neurotoxicidade representa risco biológico às espécies que atuam favoravelmente na manutenção saudável do cultivo em questão. **Objetivos:** Este trabalho objetivou desenvolver sensores eletroquímicos a partir da modificação com nanotubos de carbono para detectar o pesticida fipronil em águas de mananciais e avaliar o seu comportamento em diferentes valores de pH. **Materiais e Métodos:** Os nanotubos de carbono (NTC) são materiais de escala nanométrica que fomentam a sensibilidade do Eletrodo de Carbono Vítreo (ECV), reduzindo os limites de detecção e facilitando a transferência de elétrons. O sensor proposto foi desenvolvido envolvendo um eletrodo de carbono vítreo modificado com nanotubos de carbono e uma solução com o pesticida fipronil, que foi depositado por meio de técnicas eletroquímicas e aplicando-se o método potenciodinâmico. Os parâmetros eletroquímicos e analíticos do sensor foram testados com a deposição do pesticida fipronil e comparados na ausência dessa substância, sua resposta eletroquímica foi verificada em duas plataformas distintas: ECV e ECV/NTC em solução tampão Britton-Robinson em diferentes valores de pH. **Resultados:** A presença do fipronil foi detectada através do pico de oxidação, previamente disposto na literatura como característico, cuja modificação com nanotubos de carbono forneceu uma otimização da plataforma. Observou-se um deslocamento do potencial de oxidação do fipronil em resposta às variações de pH, apresentando um pico de oxidação mais definido em valores de pH mais alcalino, não sendo detectado o pico em valores de pH ácidos. **Conclusão:** Os métodos analíticos empregados neste estudo possibilitam não só identificar os compostos presentes na célula eletroquímica, mas também quantizar e determinar sua concentração, possibilitando o monitoramento de águas afetadas pelo uso de pesticidas.

Palavras-chave: Ph, Sensores, água, Fipronil, Nanotubos de carbono.



ESTUDO DO POTENCIAL DE APLICABILIDADE DO CORANTE DO AÇAÍ

FRED AUGUSTO RIBEIRO NOGUERIA; ASHLEY SABRINA LOPES SANTOS; ANA MARTA NUNES; JÉSSICA HIGINO DE SOUZA; VITÓRIA ROCHA DE OLIVEIRA

Introdução: Durante o processamento de polpas, sucos e outros derivados de frutas são gerados toneladas de resíduos, os quais são na maioria das vezes descartados de maneira inadequada, acarretando poluição ambiental. A possibilidade de desenvolver novas aplicações destes descartes agrega valor comercial ao produto e diminui seus impactos ambientais. Além disso, o estudo de corantes de produtos nativos do Brasil contribui para uma melhor investigação dessas espécies, o que pode motivar a aplicação destes corantes em diversas áreas da indústria e gerar novas atividades econômicas no país. **Objetivos:** O trabalho tem como objetivo principal caracterizar por espectrofotometria o corante natural extraído do açaí e avaliar o comportamento em diferentes valores de pH. **Metodologia:** A obtenção do corante foi realizada pela extração do pó do açaí liofilizado em etanol (99,5 %):HCl (0,1 mol/L) sob agitação por 24 h. Após filtrado, o corante foi caracterizado por espectrofotometria na região UV/Visível para avaliar os comprimentos de absorbância máxima e o comportamento do corante em soluções tampão Britton-Robinson do pH 2 ao pH 12. **Resultados:** A análise por espectrofotometria na região do UV-vis do corante mostrou uma banda larga de absorção com baixa intensidade entre os comprimentos de onda 500 e 600 nm, característica das antocianinas, o que mostra que o corante obtido em etanol acidificado possui essas substâncias em sua composição. O comportamento do corante em soluções tampão do pH 2 ao pH 12 mostrou uma diminuição da banda entre 500 - 600 nm com o aumento do valor de pH e um aparecimento de uma banda na região UV abaixo de 300 nm. **Conclusão:** Os resultados de espectrofotometria UV-vis mostram que o corante obtido apresenta um comportamento multicromático em função da mudança de pH. Essa mudança de coloração em função do pH garante ao corante um potencialidade em diversas aplicações que necessitam desse fenômeno, como sensores para alimentos, produtos dermatológicos, cremes, células solares, dentre outras aplicações.

Palavras-chave: Açaí, Espectroscopia, Corante, Antocianinas, Aplicação.



ESTUDO IN SILICO DE MOLÉCULAS BIOATIVAS PRESENTE NA ESPÉCIE AZADIRACHTA INDICA E SEU POTENCIAL FRENTE AO CÂNCER COLORRETAL (CCR)

AMANDA CAROLYNE COSTA COUTO DE SANTANA; MARCIA BARBOSA DA SILVA

Introdução: Considerada a terceira enfermidade maligna mais comum na população mundial, o Câncer Colorretal (CCR), tem seu desenvolvimento a partir de uma progressão tumoral ordenada com diversas alterações genéticas distintas e cumulativas. Um pólipó adenomatoso em suas fases iniciais manifesta-se de forma benigna até o surgimento do câncer. Estudos apontam efeitos promissores relacionados ao efeito antitumoral com extratos de *Azadirachta indica* - árvore da família *Meliaceae*, comumente utilizada para o tratamento de doenças cutâneas e várias outras infecções. **Objetivo:** Realizar uma busca *in silico* de compostos bioativos presentes na espécie *Azadirachta indica* com propriedades anticancerígenas. **Materiais e Métodos:** Os metabólitos ativos presentes na espécie *A. indica* serão identificados através da busca de artigos científicos em base de dados. As estruturas tridimensionais dos receptores de proteínas relacionados as vias de sinalização do CCR, serão recuperadas do Protein Data Bank, usando IDs de PDB e as estruturas dos ligantes serão obtidas através das plataformas ZINC15 e PUBchem. Receptores e ligantes serão preparados para docking molecular e a corrida será realizada pelo software AutoDockTools. Ao final serão analisadas as interações que acontecem entre o ligante e o receptor e em qual ponto ocorrem essas interações utilizando o software Discovery Studio. Com isso, ao obter os ligantes com melhores resultados, será construído um ligante único, utilizando o software MOE, para então, realizar, também, uma busca farmacofórica, com o fito de buscar novas indicações para fármacos. O resultado da interação oferecido pela técnica do molecular docking será analisada para simulações de dinâmica molecular, utilizando o software GROMACS. **Resultados Obtidos:** Até o presente momento foram selecionados 30 bioativos presentes na espécie *Azadirachta indica* e teremos com alvo a via de sinalização MTor. Espera-se, ao final da realização deste projeto, esclarecer os mecanismos de ação relacionados ao efeito antitumoral de compostos da espécie *Azadirachta indica*, através de ferramentas de bioinformática. **Conclusão:** São apontados efeitos promissores na literatura relacionados ao efeito antitumoral de bioativos presentes na espécie *Azadirachta indica*.

Palavras-chave: Carcinogênese colorretal, Neem, Antitumoral, Molecular docking, Bioinformática.



ESTUDOS DOS CASOS DE CORONAVÍRUS E SUA RELAÇÃO COM DETERMINANTES QUE REFLETEM A DESIGUALDADE SOCIAL NA REGIÃO SUDESTE DO BRASIL

ADRIANO LAFIN

Introdução: A Covid-19 é uma doença causada pelo novo coronavírus, o SARS-CoV-2, que surgiu na China em 2019, potencialmente grave, de elevada transmissibilidade e de distribuição mundial. Em 11 de fevereiro de 2020, essa enfermidade foi oficialmente denominada Covid-19. O Brasil, e principalmente a região Sudeste, a mais populosa e povoada do país, encontra-se em um contexto de grande desigualdade social, com populações vivendo em condições precárias, tanto de habitação como de saneamento básico, sem acesso sistemático à água e em situação de aglomeração. Com a hipótese de que fatores socioeconômicos e demográficos influenciam a evolução da pandemia da Covid-19, essa é a unidade de agregação para análise. **Objetivos:** analisar a evolução da incidência de coronavírus e sua correlação com indicadores de desigualdade social na região Sudeste do Brasil, no período de março a agosto do ano de 2020. **Métodos:** trata-se de um estudo observacional, transversal, com abordagem quantitativa, com variáveis extraídas de bancos de dados do Ministério da Saúde, relativas ao número de casos confirmados e de óbitos por Covid-19, no período de março a agosto de 2020, nos estados da região Sudeste do Brasil, como variáveis-resposta. **Resultados:** verificou-se que tanto casos como óbitos foram mais intensos em localidades de maior desigualdade e com indicadores sociais de pior qualidade. Houve correlações significativas positivas entre óbitos acumulados e tamanho da população ($r=0,422$), óbitos acumulados e razão de rendimentos ($r=0,426$) e óbitos acumulados e pessoas sem acesso à rede de esgoto ($r=0,42$). **Conclusão:** a pandemia da Covid-19 acomete uma grande parcela da população da região Sudeste em situação de extrema vulnerabilidade socioeconômica. Os resultados do estudo trazem à tona discussões a respeito da igualdade de direitos no Brasil; desse modo políticas públicas de saúde devem ser direcionadas às pessoas com maior risco de vulnerabilidade social, econômica ou ambiental.

Palavras-chave: Determinantes sociais da saúde, Sudeste, Infecções, Infecções por coronavírus, Pandemia.



EXPLORANDO A BIOTECNOLOGIA NA EDUCAÇÃO AMBIENTAL: UM ENFOQUE INTERATIVO E PRÁTICO PARA ALUNOS DO 6º ANO

MARIANA SANTOS

Introdução: Durante a Semana do Meio Ambiente, os alunos do 6º ano da Escola de Ensino Fundamental Dom Pedro I, na cidade de Feira Grande - Alagoas, participaram de atividades educativas centradas na biotecnologia e sua contribuição para a preservação ambiental. **Objetivos:** Introduzir os alunos à biotecnologia de forma acessível e divertida, desenvolvendo conhecimento e conscientização sobre como ela pode ser uma aliada na proteção do meio ambiente. **Relato de Experiência:** Os alunos foram inicialmente divididos em quatro grupos, promovendo uma participação dinâmica e colaborativa. Utilizamos um jogo de tabuleiro especialmente desenvolvido para explorar informações sobre biotecnologia e seu impacto ambiental. Cada etapa do jogo desafiava os alunos com questões relacionadas ao tema, com um tempo limitado de 5 minutos para elaborar respostas ou cumprir desafios propostos. A equipe que completasse o percurso primeiro era declarada vencedora. Após o jogo, todas as equipes se reuniram para discutir os assuntos abordados e a importância do conhecimento adquirido para a ciência e para a preservação do meio ambiente. Para complementar a atividade, realizamos um experimento simples de compostagem de resíduos orgânicos. **Discussão:** Alunos apresentaram reflexões profundas sobre a importância da biotecnologia na preservação do meio ambiente e como suas aplicações podem contribuir para um futuro mais sustentável. O experimento de compostagem também foi bem-sucedido, proporcionando aos alunos uma experiência prática sobre o ciclo de vida dos resíduos orgânicos e a importância da reciclagem e reutilização na redução do impacto ambiental. **Conclusão:** A metodologia adotada durante a Semana do Meio Ambiente, centrada no jogo de tabuleiro e no experimento de compostagem, revelou-se altamente eficaz na promoção do aprendizado e na conscientização dos alunos sobre a importância da biotecnologia na preservação ambiental. Através da participação ativa no jogo e das reflexões durante a discussão em grupo, os alunos não apenas ampliaram seus conhecimentos sobre o tema, mas também desenvolveram habilidades de trabalho em equipe e pensamento crítico. O experimento de compostagem proporcionou uma experiência prática e tangível sobre a importância da reciclagem de resíduos orgânicos. Essa experiência proporcionou uma oportunidade valiosa para os alunos se envolverem com questões ambientais científicas.

Palavras-chave: Biotecnologia, Aprendizado dinâmico, Meio ambiente, Experimento, Ensino.



EXPLORANDO O USO EXPERIMENTAL DO PEIXE ZEBRAFISH (*Danio rerio*) COMO MODELO ALTERNATIVO EM NEUROCIÊNCIA

LARISSA PAULA DE CARVALHO FERREIRA

Introdução: Neste resumo, é abordada a pesquisa sobre o uso do peixe Zebrafish (*Danio rerio*) como modelo em estudos neurocientíficos. O Zebrafish, também conhecido como peixe-zebra ou paulistinha, despertou interesse na comunidade científica devido às suas características únicas, como tamanho pequeno, custo de criação acessível e semelhança genética com mamíferos, incluindo os humanos. Sua crescente popularidade como organismo modelo experimental tem sido evidenciada nos últimos anos. Este interesse se justifica pela capacidade do Zebrafish de fornecer insights valiosos sobre diversos aspectos da neurobiologia, contribuindo para avanços significativos na compreensão do sistema nervoso. **Objetivos:** O principal objetivo deste estudo foi realizar uma análise da literatura existente sobre a utilização do Zebrafish em estudos neurocientíficos, com o propósito de identificar vantagens e desafios associados a esse modelo experimental. Além disso, buscamos destacar as principais áreas de pesquisa em que o Zebrafish tem sido aplicado com sucesso, bem como as lacunas que ainda precisam ser exploradas. **Metodologia:** Para atingir esse objetivo, foram conduzidas buscas detalhadas nas bases de dados eletrônicas PubMed e Web of Science, utilizando termos relevantes relacionados ao uso do Zebrafish em estudos neurocientíficos. Foram incluídos estudos publicados em inglês entre os anos de 2009 e 2019, considerados relevantes para a análise proposta. **Resultados:** Os resultados obtidos enfatizam o potencial do Zebrafish como um modelo valioso para a neurociência. Destacam-se suas vantagens, como seu tamanho pequeno, custo reduzido de manutenção e alta taxa de reprodução. No entanto, também foram identificadas algumas dificuldades, como os cuidados específicos necessários para a manipulação dos animais e os métodos de pesquisa ainda em desenvolvimento. **Conclusão:** O peixe Zebrafish (*Danio rerio*) oferece perspectivas promissoras para a investigação de questões neurobiológicas. Sua utilização pode contribuir significativamente para o avanço do conhecimento sobre o funcionamento do sistema nervoso e para o desenvolvimento de novas abordagens terapêuticas para doenças neurológicas.

Palavras-chave: Zebrafish, Modelo alternativo, Neurociência, Revisão, Pontencial.



EXPLORANDO RESÍDUOS DE CAFÉ COMO FONTE ALTERNATIVA PARA PRODUÇÃO DE ENZIMA PROTEOLÍTICA

WALLISON JUSTINO DA SILVA; PAULA MARIA CARNEIRO ROCHA; MARINA KIMIKO KADOWAKI; RITA DE CÁSSIA GARCIA SIMÃO; ALEXANDRE MALLER

Introdução: Os fungos filamentosos, excepcionais produtores enzimáticos e considerados biodegradadores naturais, secretam substâncias capazes de degradar estruturas complexas, como as proteínas. Eles são considerados alvos ideais para a exploração do potencial biotecnológico, visando aumentar a produção enzimática e sua eficiência catalítica. **Objetivo:** Avaliar a produção de protease por três linhagens de fungos termófilos. **Metodologia:** A manutenção das linhagens foi realizada em meio BDA. Repiques foram mantidos em estufa a 40 °C por aproximadamente 7 dias. Em seguida, 1 mL dessa suspensão foi inoculada em frascos Erlenmeyer (125 mL) contendo 25 mL de 10 tipos de meios diferentes, suplementados com 1% de resíduo de café e incubados a 40 °C, sob regime estacionário e rotacional, por diferentes períodos (24h a 216h). A atividade enzimática foi determinada pela reação de 50 µL de enzima, 250 µL de substrato (caseína a 1% em tampão fosfato de sódio 150 mM, pH 7,5), utilizando 500 µL de ATA para interromper a reação, seguida de centrifugação a 10000 rpm/5 min. Uma unidade enzimática foi definida como 1 µmol de produto formado por minuto dentro das condições dos ensaios, a 280 nm. **Resultado:** Os testes enzimáticos demonstraram atividade variada entre as classes avaliadas. O fungo PA2A1T apresentou maior potencial para a produção de protease, especialmente em meio Malte estacionário, atingindo seu pico ao sétimo dia, com 33,9 U/mL, seguido do meio Czapek com 18,9 U/mL. Em sistema rotacional, o meio Klausen apresentou a maior atividade no 7º dia, com 18,8 U/mL, seguido por Saboud com 16,9 U/mL. Deste modo, compreendemos com a otimização realizada, que o meio de cultivo, assim como o sistema de produção, são fatores importantes na indução da produção enzimática e proteica, assim como o período de incubação, visto que, houve pico enzimático entre os diferentes meios. Assim, é possível potencializar a atividade enzimática com os parâmetros analisados. **Conclusão:** Observou-se que, a quantidades de proteínas presentes no café, demonstrou eficiência na produção enzimática, potencializada por características específicas de alguns meios. Destaca-se a importância de futuras otimizações das condições de cultivo, pois as variáveis independentes exercem relevante interferência na atividade, permitindo aprimorar a produção enzimática.

Palavras-chave: Fungos filamentosos, Protease, Resíduos agroindustrial, Resíduos de café, Fungos termófilos.



EXPRESSÃO DA PROTEÍNA CIRCUNSPOROZOÍTO (CSP) DE *PLASMODIUM VIVAX*, EM *ESCHERICHIA COLI*

KÉSSIA CAROLINE SOUZA ALVES; JOYCE MARINHO MELO; YURI SILVA FERREIRA;
MARIA EDILENE MARTINS DE ALMEIDA; LUIS ANDRÉ MORAIS MARIÚBA

Introdução: A malária é um problema de saúde pública amplamente distribuída nas regiões tropicais e subtropicais no mundo, no qual o *Plasmodium vivax* é responsável pelo maior número de casos. Uma das alternativas para controle da infecção seria o desenvolvimento de uma vacina. Atualmente, ainda não existe vacina para malária causada por *P. vivax*. Alguns antígenos promissores têm sido avaliados como candidatos para vacina, dentre eles está a proteína Circunsporozoíto (CSP). **Objetivo:** O objetivo deste estudo foi expressar o antígeno CSP de *Plasmodium vivax* em *Escherichia Coli* e purificar a proteína obtida. **Material e Métodos:** O plasmídeo PvCSP-pET sintetizado foi inserido na cepa *E. coli* DH5 α por eletroporação. As colônias transformantes foram crescidas em meio Luria Bertani, após atingir o crescimento celular ideal, o meio foi acrescido de IPTG para expressão da proteína PvCSP. A bactéria foi lisada por sonicação e o sobrenadante purificado. A purificação foi realizada por cromatografia de afinidade em coluna de níquel por meio de cauda de histidina contida junto a sequência da PvCSP. A confirmação da purificação foi realizada por eletroforese em SDS-PAGE e em seguida *Immunoblot* em membrana de celulose utilizando anticorpo primário anti-histidina. **Resultados:** A proteína foi expressa em *E. coli* com sucesso e após purificação foi possível isolar a proteína. Ao ser analisada em gel SDS-Page assim como o *immunoblot* foi possível observar bandas de aproximadamente 37 kDa correspondente ao peso molecular da PvCSP. Foi obtido um rendimento de 3 mg/L de proteína em 3L de meio de cultura. **Conclusão:** Foi possível realizar a expressão da proteína CSP de *P. vivax* em *E. coli* DH5 α com sucesso por meio da inserção de plasmídeo sintético PvCSP-pET na bactéria, entretanto apresentando baixo rendimento. A separação da PvCSP das demais proteínas da bactéria também foi realizada de forma eficaz aplicando técnica de purificação por cromatografia de afinidade, apresentando rendimento final satisfatório para realização de novos ensaios. Logo em experimentos posteriores será avaliada a capacidade imunogênica desta proteína em modelo murino, visando em testes futuros analisar capacidade protetora de uma vacina baseada na CSP de *P. vivax*.

Palavras-chave: Plasmodium vivax, Csp, Proteína recombinante, Malária, Circunsporozoíto.



EXPRESSÃO DE UMA PROTEÍNA GLUTAMATO DESIDROGENASE EM HOSPEDEIRO ESCHERICHIA COLI

JULIANE CORRÊA GLÓRIA; ELIZA RAQUEL DUARTE DA SILVA; REBECA TEIXEIRA PEREIRA; KELSON AVILA GRAÇA DE ALCANTRA; LUIS ANDRE MORAIS MARIUBA

Introdução: A malária continua sendo uma doença de grande importância para a saúde pública, possuindo elevados números de morbidade e mortalidade nos países tropicais e subtropicais do mundo. A microscopia ainda é considerada o método padrão ouro para diagnóstico de malária, no entanto, esta possui muitas desvantagens relacionadas a sua aplicação em áreas remotas. Com isso, temos a necessidade de ampliar e aprimorar a utilização de metodologias *point-of-care*, tais como os testes de diagnóstico rápido (TDR). Dentre os possíveis marcadores de infecção a serem utilizados há a glutamato desidrogenase de *P. falciparum*, que vem emergindo como uma alternativa para detecção. **Objetivo:** Por esse motivo, nossa equipe teve como objetivo a expressão e purificação de uma proteína PfGDH recombinante para posterior utilização em imunizações de animais para obtenção de anticorpos capazes de detectar malária falciparum. **Métodos:** A expressão da proteína foi feita utilizando célula hospedeira bacteriana *Escherichia coli*, e a purificação foi realizada por cromatografia de afinidade, empregando resina de níquel. Foram analisados dois tempos de indução, 3 horas e *overnight*. A confirmação da expressão da proteína recombinante foi feita por meio de *western blot*, onde foram avaliadas tanto a porção solúvel quanto a insolúvel do lisado da célula bacteriana, nos dois tempos testados. A análise da indução da expressão e purificação foi realizada por meio de SDS-PAGE 12%. **Resultados:** A proteína foi obtida em melhor rendimento com o tempo de indução de 3 horas, em comparação a indução por 16 horas e encontrada em maior quantidade na porção solúvel do lisado da célula bacteriana. A cromatografia de afinidade foi eficiente para atingir um bom grau de pureza, com rendimento final de 4 mg/L. **Conclusão:** A proteína recombinante de PfGDH foi obtida com sucesso em hospedeiro *E. coli*, sendo obtida na fração solúvel do lisado bacteriano. Com a expressão e purificação desta proteína recombinante, poderemos utilizar este antígeno para imunização de animais, sejam camundongos ou galinhas, para obtenção de anticorpos que serão avaliados quanto a capacidade de detecção deste marcador em pacientes infectados com malária falciparum.

Palavras-chave: Malaria, Plasmodium, Diagnostico, Glutamato desidrogenase, Pfgdh.



FASES INICIAIS DO FRACIONAMENTO DE EXTRATOS AQUOSOS DE ACTINOBACTÉRIAS COM ATIVIDADE ANTIFÚNGICA CONTRA CRYPTOCOCCUS NEOFORMANS

LUCAS DA COSTA CAMPOS; BÁRBARA MARIA RODRIGUES WINGLER; LYS SOUSA PARENTE; MARCIO JOSÉ POÇAS FONSECA; MARIA LUCILIA DOS SANTOS

Introdução: O filo Actinobacteria é reconhecido como uma importante fonte de compostos bioativos, destacando-se antibióticos. **Objetivos:** Considerando-se as elevadas taxas de morbidade e mortalidade associadas a infecções sistêmicas causadas por *Cryptococcus* spp., tal pesquisa teve como objetivo iniciar o fracionamento de extratos aquosos de quatro isolados de actinobactérias (UzM, UzK, Ha1 e PP1) que previamente apresentaram atividade de inibição da proliferação de outros micro-organismos. Este fracionamento visou ao futuro isolamento dos princípios ativos para o controle dessas linhagens de leveduras, além de investigar as técnicas de fracionamento visando ao futuro isolamento de princípios ativos. **Materiais e Métodos:** O estudo envolveu a obtenção dos extratos aquosos, o fracionamento desses com solventes orgânicos como n-hexano, acetato de etila e butanol, e monitoramento por cromatografia de camada fina. A suscetibilidade das linhagens H99 e *hda1Δ* de *C. neoformans*, ao extrato aquoso antes e após o fracionamento, foi avaliada quanto à determinação da concentração inibitória mínima (MIC). Avaliou-se, ainda, por meio de microscopia eletrônica de transmissão, a ultraestrutura de diferentes linhagens de *C. neoformans* cultivadas na presença dos extratos de actinobactérias. **Resultados:** Observou-se que a capacidade inibitória do extrato aquoso de UzM foi perdida após o fracionamento, o que indica a perda de substâncias inibitórias nesse processo. A análise por MET revelou alterações na ultraestrutura da parede celular e o aumento de vesículas intracelulares nas leveduras expostas ao extrato de UzM. **Conclusão:** A perda de capacidade inibitória observada pode ser atribuída à interferência dos solventes orgânicos. Esses dados, somados aos resultados da análise por microscopia indicam o potencial dos extratos analisados, sobretudo de UzM, para o isolamento de compostos inibidores do crescimento de *Cryptococcus*.

Palavras-chave: Actinobactérias, Atividade antifúngica, *Cryptococcus neoformans*, Extratos aquosos, Microscopia eletrônica.



FUNGOS ENCONTRADOS EM DIFERENTES ETAPAS DO TRATAMENTO DE RESÍDUOS DA INDÚSTRIA DE LATICÍNIOS

BIANCA LIRA SARAIVA; ANTONIO DAVID ARAGÃO DE OLIVEIRA; CAROLLINY SANDY MARIANO LIMA; VANESSA COSTA SOUZA; GABRIELA MACEDO ARETAKIS DE ALMEIDA

Introdução: A indústria de laticínios gera grandes quantidades de resíduos e efluentes geralmente apresentando alta carga orgânica e concentração de gordura, a depender da etapa do processo. Estes resíduos e efluentes devem ser tratados para se enquadrar nos parâmetros legais exigidos pelo governo, demandando atenção dos gestores. Uma alternativa para seu tratamento é a biorremediação realizada a partir de sua própria microbiota. **Objetivos:** Este trabalho teve como objetivo isolar microrganismos fúngicos presentes em resíduos de diferentes etapas do processamento industrial de laticínios, para futuras aplicações biotecnológicas. **Metodologia:** O resíduo foi obtido de três diferentes etapas do processo da estação de tratamento de efluentes (ETE) de uma indústria de laticínios, que incluem o local de entrada do efluente na estação, o local de adensamento do lodo e a saída. As amostras coletadas foram diluídas para posterior plaqueamento. O isolamento dos microrganismos foi realizado em placas de petri contendo meio BDA, que foram incubadas a 30 °C durante 7 dias, com a técnica de repiques contínuos para purificação da colônia. **Resultados:** Foram encontrados sete morfotipos de fungos nas amostras analisadas, sendo um morfotipo na amostra de entrada, cinco no adensamento do lodo, e um fungo na saída. Os morfotipos seguiram para posterior identificação taxonômica. O fato do lodo ser mais denso, contendo mais matéria orgânica, com condições mais favoráveis ao crescimento microbiano, pode ter contribuído para a presença de uma maior variedade destes microrganismos nesta etapa de processamento. **Conclusão:** Este estudo fornece um passo na busca do conhecimento da microbiota em diferentes etapas do processamento de resíduos industriais. Após identificação taxonômica e investigações bioquímicas dos fungos, a utilização destes poderá ser um aliado dos avanços dos processos biotecnológicos, pois fornecem subsídios para futuras investigações e aplicação de estratégias para o tratamento e destinação de resíduos e efluentes industriais, como a biorremediação.

Palavras-chave: Microrganismo, Biotecnologia ambiental, Microbiologia, Diversidade, Resíduo sólido.



IMPORTÂNCIA DA CULTURA DE TECIDOS VEGETAIS PARA O SETOR AGROINDUSTRIAL BRASILEIRO

MILENA GAION MALOSSO; IVAN MONTEIRO DOS SANTOS; LAVINIA EVELLYN PERES
FIGUEIRA; EDILSON PINTO BARBOSA

Introdução: Biotecnologia é a elaboração de um processo ou produto a partir de um ser vivo ou derivado. É dividida em onze grandes áreas, da qual a área denominada verde, é aplicada à agricultura e da qual as técnicas de cultura de tecidos vegetais são de extrema importância para o desenvolvimento do setor agroindustrial brasileiro. **Objetivo:** Realizar uma revisão de literatura sobre os impactos das técnicas de cultura de tecidos vegetais na agroindústria brasileira. **Materiais e Métodos:** Para isso, foram inseridos no google acadêmico os caracteres booleanos: " impactos da biotecnologia na agroindústria", "técnicas de cultura de tecidos vegetais e impactos na agroindústria", "impactos da biotecnologia no setor agrícola brasileiro" e "impactos da cultura de tecidos vegetais no setor agrícola brasileiro". Foram incluídos na análise todos os artigos provenientes de revistas indexadas, ou Trabalhos de Conclusão de Curso de Graduação, Dissertação de Especialização ou de Mestrado e Teses de Doutorados devidamente avaliados por docentes competentes e publicados nos últimos dez anos e destes, foram excluídos aqueles que não estavam escritos em língua portuguesa. **Resultados:** As técnicas de cultura de tecidos vegetais envolvem a manipulação de células, tecidos e órgãos vegetais em condições controladas de laboratório para desenvolver plantas com características desejáveis. No setor agroindustrial brasileiro, essas técnicas têm impactos significativos, promovendo avanços na produção agrícola. A clonagem de plantas, por exemplo, permite a reprodução eficiente de variedades superiores, resultando em maior uniformidade e produtividade nas lavouras. A transformação genética possibilita a inserção de genes de interesse, conferindo resistência a pragas, tolerância a estresses ambientais e melhor qualidade nutricional. Esses avanços contribuem para a sustentabilidade, reduzindo a dependência de pesticidas e aumentando a adaptação das culturas a diferentes condições climáticas. Além disso, a cultura de tecidos facilita a propagação rápida de mudas, acelerando os programas de melhoramento genético e permitindo a rápida disseminação de variedades aprimoradas. **Conclusão:** As técnicas de cultura de tecidos vegetais desempenham um papel estratégico no setor agroindustrial brasileiro, impulsionando a inovação e contribuindo para a produção sustentável de alimentos em um contexto de desafios ambientais e de demanda crescente.

Palavras-chave: Biotecnologia, Agroindústria, Técnicas de cultura de tecidos vegetais, Impacto econômico, Melhoramento vegetal.



INVESTIGAÇÃO DA EFICÁCIA DO USO DE PROBIÓTICOS PARA FINS COSMÉTICOS: UMA REVISÃO

EDLENE RIBEIRO PRUDÊNCIO DE SOUZA; MILENA GUIISO DE JESUS; PAOLA MARIA BARBOSA

Introdução: Uma tendência em ascensão na indústria cosmética é a formulação de produtos que visam equilibrar e estimular microrganismos benéficos na pele, fazendo uso de metabólitos microbianos, conhecidos como pós-bióticos. Apesar de os mecanismos subjacentes a essa ação ainda não estarem completamente esclarecidos, uma variedade de benefícios biológicos tem sido atribuída aos metabólitos. **Objetivo:** Este trabalho visa avaliar a produção científica no ano de 2023 referente à investigação das propriedades promovidas por probióticos para aplicações cosméticas. **Metodologia:** A elaboração desta revisão utilizou os descritores “Skin”, “probiotic” e “cosmetic” com o operador booleano “and”. Foram selecionados artigos na língua inglesa que avaliaram a ação de probióticos, na forma de células integrais ou pós-bióticos, no ano de 2023. **Resultados:** Foram encontrados dez artigos que utilizaram probióticos em cosméticos e avaliaram sua eficácia. Destes, sete utilizaram extrato bruto dos metabólitos microbianos, ou seja, todo conteúdo de células lisadas ou inativadas. Dois deles utilizaram um peptídeo isolado dos metabólitos produzidos e apenas uma publicação avaliou a eficácia da cultura viável. Dentre as publicações que declararam os microrganismos utilizados para fins cosméticos, *Lacticaseibacillus rhamnosus* e *Lactiplantibacillus plantarum* foram os mais frequentes. Seis artigos investigaram a eficácia de pós-bióticos na pele por métodos *in vitro*, utilizando ensaios químicos e biomarcadores em culturas de células humanas, sendo a ação antioxidante e anti-inflamatória as mais estudadas. Os resultados *in vitro* indicaram uma ação relevante dos metabólitos nas propriedades avaliadas. Nos artigos que realizaram testes *in vivo* com pacientes voluntários, a investigação das propriedades dos pós-bióticos contra rugas, queda de cabelo e caspa foi comprovada. **Conclusão:** Os pós-bióticos mostraram atividade relevante nas propriedades investigadas, mostrando-se como ativos promissores em formulações cosméticas.

Palavras-chave: Lactobacillus, Bifidobacterium, Pele, Skin care, Revisão.



INVESTIGAÇÃO DO GENE DO AMBLYOMIN-X COMO CANDIDATO A DNA TERAPÊUTICO ANTITUMORAL

VICTOR DAL POSOLO CINEL; ANA MARISA CHUDZINSKI-TAVASSI; CARLOS DEOCESANO-PEREIRA; MARCOS VINICIUS BURI; MELISSA REGINA FESSEL

Introdução: O câncer é uma doença caracterizada pelo crescimento celular descontrolado e é uma das principais causas de morte no mundo. Proteínas derivadas da biodiversidade têm sido exploradas como uma abordagem promissora no tratamento do câncer. Uma proteína recombinante tipo kunitz derivada do carrapato *Amblyomma sculptum*, o Amblyomin-X (AMB), demonstrou atividade antitumoral seletiva em células tumorais. No entanto, sua produção em larga escala utilizando sistemas bacterianos enfrenta desafios devido à sua estrutura complexa. Uma abordagem alternativa para superar esses desafios de produção envolve a expressão da molécula terapêutica diretamente nas células do paciente. **Objetivo:** Avaliar plasmídeos que expressam o gene AMB endereçado para diferentes compartimentos celulares para uso como DNA terapêutico antitumoral em células de melanoma humano. **Métodos:** Foram sintetizados plasmídeos codificando o AMB ou eGFP (controle) direcionados para: secreção, retículo endoplasmático (RE), mitocôndria e sem endereçamento específico. A transfecção foi padronizada em células de melanoma humano SKMEL28 e a produção do AMB foi verificada por RT-PCR e Western Blot. O potencial antitumoral foi avaliado por MTT e pela atividade das Caspases 3/7. Plasmídeos coexpressando AMB e E2-Crimson foram utilizados para avaliar células E2-Crimson+ por citometria de fluxo. Análises de bioinformática foram realizadas em busca de possíveis sítios de destruição na sequência da proteína. **Resultados:** A eficiência de transfecção foi de $\pm 50\%$ em células SKMEL28. A produção de AMB foi induzida a nível de RNAm por todos os plasmídeos, mas apenas o AMB secretado e o AMB direcionado ao RE foram detectados a nível proteico. A transfecção não modulou a viabilidade celular ou a atividade das Caspases 3/7. Análises de bioinformática sugerem que o AMB pode estar sendo degradado por ubiquitinação/sumoilação. **Conclusão:** Embora todos os plasmídeos foram capazes de induzir a transcrição do AMB em células SKMEL28, apenas o AMB secretado e o AMB direcionado ao RE foram identificados a nível proteico. Sob as condições avaliadas, nenhum dos plasmídeos apresentou efeito antitumoral em células SKMEL28. Nas próximas etapas, serão realizadas mutações dirigidas nos sítios de degradação previstos para avaliar se, quando intactos, o AMB mitocondrial e o AMB sem endereçamento específico são capazes de induzir um efeito antitumoral.

Palavras-chave: Terapia gênica, Kunitz, Câncer, Melanoma, *Amblyomma sculptum*.



INVESTIGAÇÃO DOS EFEITOS DA ORIZALINA COMO AGENTE ANTINEOPLÁSICO EM LINHAGENS MURINAS B16F10 E NIH3T3

CLARA MARIA FARIA SILVA; MARIANA CRISTINA TEIXEIRA DE MOURA; VITÓRIA LUIZA FARIA SILVA; EDUARDO BATISTA DE SOUZA; ROBSON JOSÉ DE OLIVEIRA JÚNIOR

Introdução: O câncer constitui uma das enfermidades mais prevalentes na sociedade, manifestando-se com ampla variedade de sintomas e afetando diversos órgãos e tecidos. A quimioterapia se destaca como uma das principais abordagens de tratamento, no entanto, alguns agentes quimioterápicos apresentam uma incidência significativa de efeitos adversos. Nesse contexto, a busca por novos quimioterápicos que minimizem ou eliminem esses efeitos torna-se imperativa. Nesta busca, um candidato em estudo é a orizalina, originalmente um herbicida, devido a sua capacidade de ser um agente antimetabólico. Ademais, agentes antineoplásicos buscam este efeito, pois são substâncias que impedem a divisão celular, interferindo assim, na proliferação de células tumorais, levando-as à morte.

Objetivo: Avaliar a citotoxicidade *in vitro* da orizalina em células tumorais murinas (B16F10) e células controle saudáveis murinas (NIH3T3), com a finalidade de quantificar os valores do IC 50 (concentração inibitória de 50%) e IS (índice de seletividade). **Metodologia:** Primeiramente preparou-se uma solução de 200 μM de orizalina em meio de cultura celular RPMI1640, em seguida, formulou-se um painel de diluição o qual foi utilizado para ambas as linhagens estudadas. Com isso, desenvolveu-se os testes de citotoxicidade (*in vitro*) por intermédio da redução da rezazurina (alamar blue) nas células B16F10 e NIH3T3 que ao serem submetidas ao tratamento com a orizalina em diferentes concentrações foram lidas em um espectrofotômetro, nos comprimentos de onda de 570 e 600 nm, isso permitiu a obtenção de dados utilizados na quantificação da IC 50 e do IS. **Resultados:** O valor de IC 50 obtido para a linhagem B16F10 foi de 285,9 μM , e o valor de IC 50 obtido do tratamento com a orizalina na linhagem NIH3T3 foi de 230,1 μM . Com estes resultados foi calculado um índice de seletividade de 0,8. **Conclusão:** A literatura apresenta dados que comprovam a capacidade citotóxica da orizalina, assim como os nossos resultados, demonstraram um certo grau de sua toxicidade para as células, contudo, não foi obtido um valor interessante de seletividade do tratamento frente as linhagens estudadas. Embora tal fato, é recomendado mais testes que possam explorar outras aplicações da orizalina e desenvolver mais testes frente a outros tipos tumorais.

Palavras-chave: Câncer, Citotoxicidade, Quimioterapia, Herbicida, Orizalina.



ISOLAMENTO DE FUNGOS COM POTENCIAL BIOTECNOLÓGICO EM RESÍDUO DA INDÚSTRIA DE SORVETES

ANTONIO DAVID ARAGÃO DE OLIVEIRA; BIANCA LIRA SARAIVA; CAROLLINY SANDY
MARIANO LIMA; VANESSA SOUZA COSTA; GABRIELA MACEDO ARETAKIS DE
ALMEIDA

Introdução: Nos últimos anos, tem havido um aumento na busca por fontes alternativas de microrganismos com potencial biotecnológico. Os resíduos industriais são reconhecidos como ambientes propícios para a diversidade microbiana, incluindo fungos, que podem ser explorados em várias aplicações biotecnológicas. **Objetivos:** O presente estudo teve como meta isolar linhagens de fungos presentes no resíduo da indústria de sorvetes, visando fornecer subsídios para futuras aplicações biotecnológicas. **Metodologia:** Amostras de resíduo industrial de sorvetes foram coletadas e processadas em laboratório para o isolamento de fungos. Foram utilizadas técnicas de diluição seriada e plaqueamento em meio BDA. As placas foram incubadas durante 7 dias, para posterior isolamento. As linhagens fúngicas isoladas foram observadas e diferenciadas através de técnicas de microscopia óptica. **Resultados:** Foram isolados 21 morfotipos de fungos provenientes do resíduo industrial, que seguirão para posterior identificação taxonômica. Entre eles, foram identificadas características morfológicas de táxons pertencentes aos gêneros *Aspergillus* e *Penicillium*. Mais além, observou-se que dentre esses gêneros foram encontradas algumas cepas com características morfológicas e bioquímicas que sugerem potencial biotecnológico, especialmente na produção de lipases, enzimas responsáveis pela quebra de gorduras em moléculas menores. **Conclusão:** O resíduo industrial de sorvete mostrou ser um ambiente com diversidade fúngica com potencial para aplicações biotecnológicas. A identificação das espécies isoladas e a caracterização de suas propriedades bioquímicas representam um passo importante para a exploração desses microrganismos em processos biotecnológicos, como a produção de enzimas, biofertilizantes e biodegradação de resíduos orgânicos. Este estudo contribui para o conhecimento da microbiota associada a resíduos industriais e para o desenvolvimento de estratégias sustentáveis de aproveitamento desses recursos, incluindo o tratamento de resíduos industriais gordurosos.

Palavras-chave: Isolamento de fungos, Resíduo industrial de sorvete, Gerenciamento de resíduos, Biotecnologia, Aplicações biotecnológicas.



LECTINAS DA CANA DE AÇÚCAR: UM ARMA SECRETA CONTRA A ESCALDADURA DA FOLHA

BEATRIZ CAROLINA ALVEZ TOVAR; MAIRA OROPEZA

Introdução: As lectinas são proteínas presentes em diversos organismos, incluindo plantas, com capacidade de se ligar a carboidratos. Na cana-de-açúcar, elas reconhecem e aglutinam proteínas de fitopatógenos, como *Xanthomonas albilineans*, evitando sua adesão e colonização. *X. albilineans* secreta adesinas não fimbriais para aderir às células da planta, mas as lectinas da cana-de-açúcar podem ser uma barreira de defesa contra essa bactéria. **Objetivo:** Avaliar o potencial das lectinas de cana de açúcar como biomarcadores de resistência à escaldadura da folha. **Metodologia:** Foi extraído o RNA total de plantas *in vitro* de cana-de-açúcar das variedades V781 (suscetível) e V0050 (resistente), saudáveis e inoculadas com *X. albilineans* (10^8 cel.ml⁻¹), às 3, 5, 18 e 24 horas pós-inoculação (hpi). Logo foi feita a transcrição reversa do RNA para cDNA e amplificação por AFLP, submetendo o cDNA à digestão com enzimas de restrição (AseI e Taq α I) e amplificação com os iniciadores Ase06-Taq05 e Ase06-Taq12. Finalmente foram sequenciados os fragmentos de DNA e comparados com a base de dados do NCBI. **Resultados:** Dos fragmentos de DNA isolados e sequenciados, foram escolhidos dois porque apresentaram similaridade com uma lectina de floema de *Arabidopsis thaliana*. Na variedade V0050 foi expressa a sequência "A" às 3 hpi, enquanto "B" foi expressa às 24 hpi. Não foi observada expressão destas sequências na variedade V781. **Conclusão:** As lectinas da cana-de-açúcar podem ser importantes na defesa contra *X. albilineans*, aglutinando as adesinas não fimbriais da bactéria e impedindo sua colonização. São necessários estudos mais aprofundados sobre o papel das sequências "A" y "B", para confirmar a possibilidade de serem utilizadas como marcadores moleculares para identificar variedades resistentes à escaldadura da folha.

Palavras-chave: Cana-de-açúcar, *Xanthomonas albilineans*, Lectinas, Adesinas não fimbriais, Biomarcadores.



MANEJO SUSTENTÁVEL DA FLORESTA AMAZÔNICA: PRODUÇÃO DE BIOGÁS A PARTIR DE RESÍDUOS DE ÁRVORES

NATHÁLIA BULCÃO SOARES; ALEX ENRICH PRAST; THUANE MENDES ANACLETO

Introdução: Os materiais lignocelulósicos, que compõem cerca de 60% da biomassa vegetal, surgem como uma alternativa promissora. O sucesso na conversão dessa biomassa em biodiesel, usado como biocombustível, impulsionou sua exploração na geração de outras fontes energéticas, como o biogás. Comparado a outros biocombustíveis, o biogás se destaca por ser uma fonte de energia limpa produzida a partir da conversão de resíduos orgânicos em energia elétrica, térmica e automotiva, transformando, portanto, um passivo ambiental em um ativo econômico. O biogás é produzido por meio da tecnologia de digestão anaeróbia (DA) que é um processo bioquímico de degradação da matéria orgânica conduzida por microrganismos como bactérias e arqueias na ausência de oxigênio, resultando na produção de gases como o gás carbônico e metano. Embora a DA seja amplamente difundida, sua produção pode ser afetada negativamente devido a presença de estruturas complexas e recalcitrantes de baixa biodegradação, variação na composição química da biomassa lignocelulósica, inadequações das condições operacionais e uso incorreto de pré-tratamentos. O pré-tratamento e a co-digestão visam melhorar a eficiência da DA, tornando a biomassa mais acessível e aumentando a biodegradabilidade da matéria orgânica. **Objetivo:** Nesse sentido, o presente estudo, tem como objetivo de avaliar o potencial de resíduos de árvores provenientes do manejo florestal sustentável na Amazonia/BR para a produção de biogás. Serão investigados os efeitos da composição química desses resíduos no desempenho de diferentes pré-tratamentos, visando aumentar a taxa de degradação da matéria orgânica e, conseqüentemente, a produção de biogás. **Metodologia:** O experimento foi conduzido em batelada, utilizando serragem de sete espécies diferentes de árvores, com aplicação de pré-tratamento ácido com H_2SO_4 e CH_3COOH , em duas concentrações diferentes, 6% e 8%. **Resultados:** Foi observado que dentre as 8 amostras de serragem, a Inamuí apresentou melhor produção de biogás em mL, com a serragem crua. O pré-tratamento com CH_3COOH a 8% apresentou melhor rendimento de biogás na maioria das serragens testadas. **Conclusão:** Por fim, é esperado que este experimento contribua na viabilização de uma produção energética menos poluente e mais sustentável, por meio da determinação de uma configuração operacional adequada em termos de custo-produtividade, impulsionando assim a implementação.

Palavras-chave: Biogas, Biomassa lignocelulósica, Pré-tratamento, Digestão anaeróbia, Amazonia.



MELHORAMENTO GENÉTICO DO MILHO NO CONTROLE DE PATÓGENOS DA CIGARRINHA

VITÓRIA MARIA SEMPKOSKI

Introdução: O milho é uma planta classificada como angiosperma que vem sendo acometida por mollicutes que são bactérias (*Spiroplasma kunkelli* e *Phytoplasma*), e pelo vírus (*Maize rayado fino virus – MRFV*) presentes em insetos-vetores como cigarrinha (*Dalbulus Maidis*). Os patógenos são transmitidos pelo inseto durante sua alimentação e se espalham na planta até atingir as células e modificar os genes gerando prejuízos ao produtor. **Objetivo:** Apresentar os tipos de melhoramento genético na cultura do milho para evitar a entrada de doenças pela cigarrinha no DNA das células dessa cultura. **Materiais e métodos:** A resistência das variedades de milho aos patógenos é adquirida em laboratório por meio da modificação de alelos dominantes e recessivos. No melhoramento de milho, deve-se definir se o programa visa obter híbridos ou variedades. Para híbridos é necessária a avaliação de linhagens para selecionar genótipos superiores. Nas variedades é preciso desenvolver sintéticos que reúnam fontes de resistência vertical ou qualitativa podendo levar a uma resistência mais prolongada. **Resultados:** A resistência do tipo qualitativa resulta em variedades resistentes ou susceptíveis à doença, é uma herança monogênica e quando exposta aos patógenos da cigarrinha pode não ter resistência a alguma raça de patógeno, se essa variedade for cultivada continuamente os patógenos terão mutação no seu próprio DNA, dessa forma a variedade de milho não será mais resistente. Quando se induz resistência quantitativa, houve a contribuição de vários alelos em vários genes com efeito menor. Dessa forma, essa resistência é maior porque é mais efetiva para um número maior de patógenos. Porém a transferência de alelos que conferem a resistência horizontal de um genótipo para outro é mais difícil em relação à transferência de alelos que conferem resistência vertical. **Conclusão:** Conclui-se que o melhoramento genético é a melhor opção para controle dos patógenos transmitidos pela cigarrinha na cultura do milho. A seleção de genes resistentes às doenças tanto para a criação de híbridos quanto para novas variedades é fundamental para alavancar as produções e não permitir que os patógenos alterem o material genético das plantas e gere danos como enfezamento pálido, enfezamento vermelho e vírus da risca.

Palavras-chave: Dna, Patógenos, Alelos, Resistência, Melhoramento.



MICRO BIOMEDICINA: UTILIZANDO A BIODIVERSIDADE MICROBIANA NA CRIAÇÃO DE TERAPIAS

CAROLINE STEFANI PLANK; WÁLLISON JUSTINO DA SILVA

Introdução: Devido a capacidade de alguns microrganismos desenvolver-se em condições adversas, como altas temperaturas, altos teores de salinidade e pH, nos revela a possibilidade da presença de mecanismos únicos de adaptação que podem ser explorados para aplicações práticas. Ademais, sobreviver em ambientes extremos confere a esses seres uma notável plasticidade adaptativa e metabólica, essa característica apresenta um potencial considerável no âmbito biotecnológico. Essas propriedades podem incluir a produção de enzimas industriais robustas, que são essenciais em processos biotecnológicos, além de, metabólitos secundários que exibem propriedades bioativas, como antimicrobianas, antioxidantes e até mesmo anti-oncogenes. **Objetivo:** Avaliar as propriedades farmacológicas das diversidades microbianas presentes em ambientes extremos, com propriedades medicinais e seu potencial para o desenvolvimento de terapias alternativas eficazes. **Metodologia:** O presente estudo, baseia-se em uma revisão da literatura, foi considerado para inclusão artigos que tratassem de microrganismos extremófilos que expressassem produção de elementos que sejam aplicados em saúde. **Resultado:** Diversos são as propriedades biotecnológicas de agentes extremófilos, como a polimerase, produzida pelo gênero *Thermococcus*, extensivamente empregada para sequenciamento genômico e aplicações similares. O nucleosídeo fosforilase é responsável pela síntese de análogos de nucleosídeos, produzidos pelo *Aeropyrum pernix K1*. *Pseudoalteromonas arctica* produz Esterase EstO, com propriedade para aumentar a solubilidade de anti-inflamatórios. A redutase mercúrica atua na desintoxicação bacteriana, sendo produzida pela cepa *Archaeon SCGC-AAA261G05*. Ainda, as enzimas β -agarase AgaP4383 e β -agarase Aga4436, ale? de hidrolizar o ágar, têm a capacidade de recuperar o DNA contido em gel de ágar, e são produzidas por bactérias do gênero *Flammeovirga*. **Conclusão:** Dessa forma, percebe-se a amplo potencial para criação de novas terapias, bem como a aplicação atual na indústria farmacêutica, como enzimas Est11 esterase, que agem como catalisadores na indústria farmacêutica, produzidas pela espécie *Psychrobacter pacificensis*. Destaca-se também a produção de carotenóides, utilizados como antioxidantes, podendo ser empregados em produtos alimentícios, cosméticos e farmacêuticos, ressaltando ainda que alguns tipos de carotenóides são produzidos unicamente por microrganismos extremófilos.

Palavras-chave: Agentes extremófilos, Terapias, Enzimas, Indústria, Produção.



NOVAS OPORTUNIDADES PARA APLICAÇÕES DE NANOCRISTAIS DE CELULOSE: ANÁLISE DE ACOPLAMENTO DE PROTEÍNAS NÃO COVALENTES POR CITOMETRIA DE FLUXO

JULIANE CORRÊA GLÓRIA; LUIS ANDRE MORAIS MARIUBA; YURY OLIVEIRA CHAVES;
ADÉLIA MARQUES DE FIGUEIREDO; LIZANDRO MANZATO

Introdução: Os nanocristais de celulose (CNCs) são conhecidos por diversas características que os tornam uma das nanopartículas com grande potencial para aplicação em diversas áreas como desenvolvimento de biossensores e moléculas transportadoras. Porém há poucos relatos na literatura descrevendo a análise de acoplamento de nanocristais de celulose com biomoléculas e os existentes são trabalhosos, necessitando ainda de uma grande estrutura laboratorial. **Objetivo:** Neste artigo, descrevemos o acoplamento não covalente da proteína Albumina de Soro Bovino (BSA) a CNCs usando Proteína Fluorescente Verde (GFP) como molécula repórter. **Metodologia:** Inicialmente, diferentes concentrações de GFP (0,06, 0,12, 0,25, 0,5, 1, 2, 4 µg) foram adicionadas a 2µl de CNC (10,4% em peso, gentilmente cedido pela University of Maine - Process Development Center) para determinar a saturação. ponto dessa interação, sendo incubado a 22°C por 5 horas, no pH de 7,4. Posteriormente, as amostras foram analisadas no BD FACS Canto II. Para análise de acoplamento de BSA, amostras de proteínas em concentrações variadas de 0,5 a 8 µg foram colocadas em contato com CNC e incubadas conforme descrito anteriormente. Em seguida, foram adicionados 2µg de GFP às amostras, seguido de 3 horas de incubação e análise em citometria de fluxo. **Resultados:** As amostras GFP-CNC apresentaram maior intensidade média de fluorescência (MFI) quando comparadas ao controle negativo, indicando um acoplamento não covalente bem-sucedido. Além disso, à medida que mais GFP foi adicionado, foi detectada uma MFI mais elevada. O teste de bloqueio apresentou uma diminuição esperada do MFI de 0,5 µg para 8 µg de BSA. **Conclusão:** Portanto, demonstramos a capacidade da citometria de fluxo em avaliar o acoplamento de proteínas não fluorescentes em CNC através de uma metodologia simples e relativamente rápida, não necessitando de muitas etapas e reagentes para sua realização, fornecendo dados qualitativos e quantitativos. Em trabalhos futuros, o método que desenvolvemos aqui poderá ser aplicado para análise de diferentes ensaios de acoplamento entre CNC e proteínas não fluorescentes e seu uso em áreas de biotecnologia.

Palavras-chave: Nanocristais, Acoplamento, Citometria, Celulose, Fluorescência.



OBTENÇÃO DE MUTANTES *HOS2*Δ EM *CRYPTOCOCCUS NEOFORMANS*, POR MEIO DA TÉCNICA DE CRISPR/CAS9 SUICIDA

LYS SOUSA PARENTE; ALINE KÖNIG; MARCIO JOSÉ POÇAS-FONSECA; CÍNTIA MARQUES COELHO

Introdução: *Cryptococcus neoformans* é uma levedura, considerada patógeno oportunista, que infecta em maioria indivíduos imunossuprimidos. Mesmo com tratamento utilizando antifúngicos existe uma alta taxa de mortalidade em pacientes portadores de HIV/AIDS. Mais preocupante, considerando a recente pandemia de SARS-CoV-2, é a possibilidade de infecção simultânea do patógeno estudado e do COVID-19. Recentemente, foi demonstrado que inibidores químicos de histonas desacetilase atenuam fenótipos de virulência de *C. neoformans*, mas não se sabe qual o papel específico de genes dessas vias de regulação na virulência e no silenciamento epigenético. **Objetivos:** Esse estudo visa produzir linhagens mutantes de *C. neoformans* para o gene *HOS2*, uma histona desacetilase de classe II, utilizando a técnica de CRISPR/Cas9 suicida, para melhor entender os aspectos epigenéticos e assim buscar formas de tratamento mais avançados para a criptococose. **Metodologia:** Foi sintetizado plasmídeo modificado para funcionamento dos sistema CRISPR/Cas9 suicida, com gRNA e DNA doador contendo cassete de expressão para resistência a Higromicina direcionado ao gene *HOS2*. Uma linhagem JF289XH99 C5 foi então transformada, as colônias resultantes foram selecionadas com Higromicina, e, foi realizado teste de estabilidade e PCRs. Para confirmar a inserção precisa os amplicons foram enviados para sequenciamento. **Resultados:** A transformação resultou em 22 colônias que sobreviveram em meio seletivo, 4 das quais tiveram inserção em local correto, de acordo com a análise de PCR. Desses transformantes, 3 foram enviados para sequenciamento, colônias 1, 11 e 16, demonstrando sucesso da inserção do cassete de expressão para resistência a higromicina no gene alvo. **Conclusão:** A transformação foi bem sucedida, e em seguida análises serão realizadas para verificar o potencial papel desse gene na via epigenética de silenciamento e nos atributos de virulência deste fungo.

Palavras-chave: Crispr/cas 9, Desacetilase de histona, Epigenética, Virulência, Transformação.



O EFEITO DE DOSES CRESCENTE DE POTÁSSIO NO DESENVOLVIMENTO DE MUDAS DE CURCUBITÁCEAE

LIA MARA DA SILVA GOMES; BRUNA DE MELO VIANA; GILMARA DA CRUZ RANGEL

Introdução: Existem diversas espécies de importância econômica na família das Cucurbitáceas como pepino, melancia, moranga, abóbora, melão. As mudanças climáticas tem promovido um desafio para a produção de hortícolas, um dos desafios na produção são a produtividade e redução dos custos da produção. A suplementação nutricional é importante para o desenvolvimento e qualidade das mudas. Tal nutrição pode ser realizada através da aplicação de fertilizantes no substrato ou via foliar. Adotar técnicas para a obtenção de mudas de melhor qualidade e obter uma produção de longa escala de mudas de cucurbitáceas é uma alternativa para a cadeia produtiva de hortaliças, onde prepara a planta para o estágio produtivo com máxima eficiência. **Objetivo:** O objetivo deste trabalho foi comparar os efeitos de diferentes doses de potássio, no desenvolvimento e no crescimento das mudas de cucurbitáceas. **Materiais e métodos** Foram semeadas três sementes em cada copo, após o desenvolvimento das plântulas foi realizada um raleio, deixando apenas uma muda por copo. Foram realizadas duas fertirrigação, aos 19 dias após a semeadura as plantas foram levadas para o laboratório onde foram lavadas e colocadas em papel para retirar o excesso de umidade. **Resultados:** As variáveis avaliadas foram massa fresca de parte aérea, massa fresca de raiz, massa seca de parte aérea e massa seca de raiz a dose do fertilizante com acréscimo de 5% ou seja, 0,56 g de potássio houve um aumento na massa fresca de 1,233333 g. e para o tratamento 3 o aumento da dose para 10% 1,12 g houve um decréscimo no peso da massa para 0,590000. **Conclusão:** O efeito de dose de potássio acrescentado à solução nutritiva aumentou a produção de massa fresca de raiz em pepino, melhorando o desenvolvimento das plantas.

Palavras-chave: Produção de mudas, Cucurbitacea, Mudanças climáticas, Fertirrigação, Nutrição mineral.



O IMPACTO DA QUALIFICAÇÃO NA CONFIABILIDADE DO SEQUENCIAMENTO DE DNA

INGRID DOS SANTOS DA SILVA; JULIANA DOS SANTOS CARMO; MARCUS VINICIUS DE MELO DA SILVA; MELISSA ROSA SILVINO CIBIEN; CAMILA DA SILVA QUIDORNE

Introdução: Os sequenciadores de DNA (SDNA) desempenharam um papel fundamental no combate à pandemia da Covid-19, eles permitiram uma identificação rápida do novo coronavírus. A utilização desses equipamentos é fundamental para identificação de variantes, desenvolvimento de vacinas, detecção de surtos etc. Com os SDNA foi possível realizar o mapeamento genético específico e rastrear a origem geográfica das variantes do SARS-CoV-2. O Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde teve um papel importante na luta contra a COVID-19, realizando as análises de controle da qualidade das vacinas e análise prévias dos kits de diagnóstico. A qualificação de equipamentos é empregada como um processo de garantia de que um equipamento esteja adequado para sua aplicação pretendida. Além disso é um requisito de boas práticas que emprega procedimentos, protocolos, relatórios e registros de ações tomadas ou conclusões alcançadas. **Objetivo:** Evidenciado a importância e a criticidade da qualificação para os SDNA, foi proposto um protocolo de qualificação para SDNA. **Metodologia:** Foi realizado um levantamento da literatura relacionada SDNA, posteriormente foram elaborados um protocolo de qualificação e um formulário, em formato de checklist, para analisar criticamente os testes que serão realizados durante a qualificação do equipamento por provedores externos. **Resultado:** Com a aplicação do checklist será possível realizar um monitoramento expressivo da qualificação SDNA. A qualificação de equipamentos é empregada como um processo de garantia de que um equipamento esteja adequado para sua aplicação pretendida. A qualificação dos SDNA é de extrema importância em diversos campos, como pesquisa científica, medicina e biotecnologia. Esta intervenção é fundamental para evitar erros na interpretação dos dados e na tomada de decisões com base nessas informações, especialmente em contextos clínicos, em que os diagnósticos e tratamentos podem depender desses resultados. **Conclusão:** Dessa forma, compreende-se que uma proposta de formalização do protocolo de qualificação dos SDNA desempenhará um papel fundamental na garantia da qualidade, confiabilidade e validade dos dados genômicos gerados, impactando diretamente a pesquisa científica, o diagnóstico clínico, a descoberta de medicamentos, bem como, proporcionando avanços intuitivos na compreensão e no tratamento de doenças e impulsionando a inovação na área da biotecnologia.

Palavras-chave: Qualificação, Sequenciadores de dna, Confiabilidade, Rastreabilidade, Garantida da qualidade.



OTIMIZAÇÃO DE EXPRESSÃO DA PROTEÍNAS RECOMBINANTES BASEADAS NA ALFA TOXINA DE CLOSTRIDIUM NOVI

DARLEIDE DOS SANTOS BRAGA; LUIS ANDRÉ MORAIS MARIÚBA; MARIA EDILENE MARTINS ALMEIDA; ALEX CANGUSSU; MELLANIE CARMO FELIX

Introdução: A expressão de proteína recombinante é crucial na biotecnologia para produzir proteínas específicas com aplicações científicas e farmacêuticas. O *Clostridium novyi* é uma bactéria anaeróbica que possui a alfa toxina, uma proteína com potencial aplicativo devido às suas propriedades únicas. Em trabalhos anteriores desenvolvidos por nossa equipe foi produzida uma proteína recombinante baseada na alfa toxina e expressa em *E. coli*, apresentando, porém, baixo rendimento. **Objetivo:** Este trabalho teve como objetivo otimizar a expressão de uma proteína recombinante baseada na alfa toxina do *C. novyi*. **Materiais e Métodos:** O gene sintético utilizado foi obtido através da seleção de fragmentos imunogênicos identificados por bioinformática. Bactérias *Escherichia coli* BL21 (DE3) pLysS™ foram transformadas com plasmídeo pRSET contendo este gene. Após transformação, as células foram cultivadas em placas com LB ágar e indutores (IPTG, 1 mM e 0,1 mM final, e lactose, 10 g/L) em nas temperaturas de 22 e 37°C, por 3 e 16 horas. Após indução, as bactérias foram centrifugadas e sonicadas, seguido de análises utilizando a técnica SDS-PAGE e Western blot para confirmação da expressão. **Resultados:** Foi possível observar uma melhor expressão da proteína ao serem submetidas a expressão em temperatura de 22 °C, por 16 horas. A proteína recombinante estava presente na porção solúvel do lisado bacteriano. Não foi observado melhoramento na expressão nas demais condições testadas. Neste trabalho, a redução da temperatura de indução causou uma melhora direta na obtenção da proteína recombinante. Uma possível explicação seria que a redução da temperatura de indução leva a uma diminuição do metabolismo bacteriano, o que pode ter resultado na expressão mais estável dos epitopos da alfa toxina estudados. **Conclusão:** A alteração da temperatura de indução da proteína recombinante testada foi o principal fator observado para melhora da expressão desta.

Palavras-chave: Clostridium novyi, Expressão gênica, Engenharia genética, Alfa toxina, Epitopos.



O USO DA BIORREMEDIAÇÃO NA LIMPEZA DE FONTES HÍDRICAS CONTAMINADAS COM METAIS PESADOS

JANDSON MARCIONILO TAVARES DOS SANTOS

Introdução: A sociedade pós-moderna tem demonstrado alta capacidade de consumo, todavia isso apresenta graves prejuízos à natureza. Entre os principais desafios de apoio ao meio ambiente, destaca-se a importância da conservação de fontes hídricas que estão sendo bastante poluídas com acúmulo de metais pesados, fator que está se intensificando com o descarte do lixo produzido pelas indústrias além da negligência do ser humano ao jogar resíduos tóxicos – como por exemplo baterias e pilhas – em qualquer lugar. Por isso, a biotecnologia se configura como ferramenta eficaz nesse processo de intervenção. Todavia, para que as pessoas consigam reverter esses desequilíbrios ecológicos precisam de acesso à informação, domínio das técnicas de biorremediação e que projetos sociais nesse sentido sejam mais valorizados pelo governo, a fim de que a participação popular tenha relevância no exercício da cidadania, pois se a sociedade civil não for inserida nessa luta, tampouco haverá mudanças significativas, uma vez que a exclusão da população brasileira nas pautas ambientais gera desinteresse e pensamento equivocado de que todo esse problema depende apenas do trabalho das autoridades políticas para ser resolvido. **Objetivo:** Realizar seminário com estudantes do 1º ano do Ensino Médio para discussão sobre biorremediação, no intuito de que esses jovens atuem em práticas voltadas à proteção dos riachos e outras nascentes de fundamental importância à sua comunidade local. **Metodologia:** O presente trabalho utiliza como metodologia a revisão de literatura a fim de que o levantamento das referências bibliográficas promova esclarecimento sobre técnicas de biotecnologia voltadas para limpeza das águas, tendo baixo custo e fácil execução prática, onde os estudantes realizem um trabalho ecológico de grande valia para a população e para o meio ambiente. **Resultados:** Após conhecimentos teóricos sobre biorremediação, esse trabalho científico permite que a escola realize um projeto social de extensão, beneficiando principalmente a saúde de moradores carentes, sem condições de comprarem água mineral ou sem acesso ao saneamento básico e sem tratamento de água feito pelos sistemas de abastecimento. **Conclusão:** A biotecnologia é uma área essencial para a qualidade de vida, cabe a educação efetivar estes saberes em prol da melhoria humana e ambiental.

Palavras-chave: Purificação das águas, Saúde, Projeto de extensão, Cidadania, Meio ambiente.



O USO DA NANOTECNOLOGIA NO COMBATE AO DESENVOLVIMENTO DO CÂNCER E DIAGNÓSTICO PRECOCE DA DOENÇA

BRUNO DE LUCAS BARROS DA SILVA

Introdução: A nanotecnologia estuda a produção de partículas em escala nanométrica, de 1 a 100 nm, que podem ser aplicadas em várias áreas de estudos, como na indústria tecnológica ou na medicina. De forma análoga, a nanotecnologia tem apresentado uma relevância na área da saúde pelo seu bom desempenho nos ensaios tanto in vivo como in vitro. As nanomoléculas podem ser produzidas a partir de muitos materiais e em variados tamanhos que, dependendo de suas formas, são encontradas em 0D, 1D, 2D ou 3D. Por meio da possibilidade de moldar o seu tamanho e sua forma, essas partículas são de extrema utilidade no tratamento de enfermidades, pela capacidade de carregar drogas, ser sinalizador tumoral e ainda auxiliar no diagnóstico de doenças, como as neoplasias. **Objetivo:** Discorrer sobre a importância do uso da nanotecnologia no tratamento do câncer e diagnóstico da doença. **Metodologia:** Foi realizada uma revisão integrativa qualitativa da literatura nos presentes bancos de dados PubMed e SciELO no ano de 2023, por haver uma crescente demanda das pesquisas sobre o uso da nanoterapia para o diagnóstico e tratamento do câncer. Os descritores utilizados foram: câncer, nanotecnologia, nanopartículas e diagnóstico do câncer. **Resultado:** As nanopartículas são uma alternativa promissora para a manipulação de medicamentos a uma escala extremamente diminuta que possam combater o crescimento do câncer dentro das células, visto que podem ser produzidas a partir de diversos materiais como metais, lipídios, proteínas, lipossomos ou polímeros que são algumas das nanopartículas encontradas hoje nas principais pesquisas no tratamento do câncer. Para o diagnóstico, as nanopartículas concebidas para se ligarem às células cancerígenas tornam os tumores visíveis em exames médicos num estado mais precoce do desenvolvimento da doença. Uma vez que o diagnóstico precoce é vital para a cura do cancro e também para a sobrevivência dos pacientes que sofrem com essa doença. **Conclusão:** A descoberta da nanotecnologia no campo da medicina proporcionou a utilização de terapias anticancerígenas que preliminarmente teriam alto índice de toxicidade para o corpo humano, em razão da possibilidade de redução de efeitos adversos citotóxicos causados pela não especificidade da terapia convencional.

Palavras-chave: Neoplasias, Nanopartículas, Biotecnologia, Tratamento, Nanotecnologia.



PAPEL DA PROTEÍNA DE SUPERFÍCIE A DE PNEUMOCOCO (PSPA) NA AÇÃO DA INDOLICIDINA SOBRE STREPTOCOCCUS PNEUMONIAE

NATALHA TEDESCHI WAZ; BÁRBARA MILANI FROES; SHEILA CAMARGO DE OLIVEIRA; ANDERS P. HAKANSSON; MICHELLE DARRIEUX

Introdução: *Streptococcus pneumoniae* é um importante patógeno humano, responsável por altas taxas de mortalidade em todo o mundo. Um importante fator de virulência no pneumococo é a proteína de superfície de pneumococo A (PspA), uma proteína exposta à superfície que evita a deposição de complemento na bactéria. A PspA é uma candidata amplamente estudada para vacinas pneumocócicas. PspA também pode se ligar à lactoferrina, uma proteína antimicrobiana com efeitos bactericidas e bacteriostáticos contra uma ampla gama de patógenos. Estudos mostram que PspA protege a bactéria da ação bactericida das lactoferrinas – peptídeos catiônicos liberados pela proteólise da lactoferrina, e que a carga negativa da porção exposta da PspA contribui para a sua capacidade de prevenir a morte mediada pela lactoferrina. **Objetivo:** Determinar se a PspA pode prevenir a morte por outro peptídeo catiônico, a indolicidina. **Metodologia:** A ação da indolicidina foi avaliada por meio de ensaio bactericida em pneumococos selvagens e mutantes negativos para PspA e/ou cápsula, bem como os efeitos da remoção química de PspA da bactéria. Também foram avaliados os efeitos da adição de PspA recombinante e anticorpos anti-PspA. **Resultados:** Os pneumococos negativos para PspA foram mais sensíveis à morte induzida pela indolicidina do que as bactérias que expressam PspA, sugerindo que a PspA previne a ação bactericida da indolicidina. Da mesma forma, a remoção de proteínas de ligação à colina aumentou a sensibilidade à indolicidina. A ausência de cápsula e PspA teve efeito aditivo na morte dos pneumococos pelo AMP. Além disso, os anticorpos anti-PspA aumentaram o efeito bactericida da indolicidina sobre os pneumococos, enquanto a adição de fragmentos solúveis de PspA inibiu competitivamente a ação da indolicidina. **Conclusão:** Os dados sugerem que PspA atua sequestrando a indolicidina, e impedindo sua ação na membrana bacteriana. Os resultados obtidos reforçam o potencial vacinal da PspA e sugerem um possível mecanismo de evasão imune inata empregado pelos pneumococos, que envolve a ligação a peptídeos catiônicos e dificultando sua capacidade de danificar as membranas bacterianas.

Palavras-chave: *Streptococcus pneumoniae*, Indolicidina, PspA, Cápsula, Amps.



PERFIL DE SEGURANÇA DO EXTRATO METANÓLICO DA VASSOBIA BREVIFLORA

DIOGO ALVES DA SILVEIRA; NÍCKOLAS PIPPI PERANZONI; JENNYFER MARINI DELIBERALLI; ALINE PIGATTO; ALTEVIR ROSSATO VIANA

Introdução: As plantas medicinais, integrantes de diversas tradições culturais, demandam cautela em sua utilização. O desafio reside no uso indiscriminado, influenciado pela escassez de informações e pela crença popular de que tal prática não acarreta danos. Muitas dessas plantas possuem propriedades tóxicas, especialmente quando combinadas com tratamentos convencionais. A falta de esclarecimento leva pacientes a optarem por alternativas botânicas em substituição às recomendações médicas, exemplificadas pelo noni, babosa, graviola e romã, frequentemente indicadas no tratamento do câncer. Contudo, destaca-se a *Vassobia breviflora*, conhecida como esporão-de-galo, como uma planta que demonstrou eficácia promissora frente à células tumorais. **Objetivos:** Diante desse contexto, este estudo se propôs a analisar o perfil de segurança do extrato metanólico dessa espécie em culturas celulares de queratinócitos humanos (HaCat) e rim de macaco verde (VERO). **Metodologia:** Ambas linhagens foram incubadas por 24 horas em quatro concentrações (30, 100, 300 e 1000 µg/ml) diferentes do tratamento, junto a controles negativo (contendo apenas meio mais células), e positivo (H₂O₂ 100 mM). Em seguida, realizou-se o ensaio de citotoxicidade MTT, no qual foi acrescentando 20 µl do reagente à concentração de 5 mg/ml em cada poço com células. Após 3 horas na incubadora de CO₂, o sobrenadante foi removido e 200 µl de DMSO foram adicionados para diluir os cristais formados pelo metabolismo das enzimas desidrogenases. A leitura foi realizada a 570 nm em um leitor e os resultados foram expressos como porcentagem de viabilidade em relação ao controle. **Resultados:** Os tratamentos apresentaram elevada diminuição na viabilidade celular a partir da concentração de 300µg/ml, em ambas as linhagens. Nota-se um declínio significativo no número de células na maior concentração, similar ao controle positivo. **Conclusão:** Portanto, se demonstra que a utilização de plantas medicinais deve ser realizada com cautela, pois com o aumento da concentração, pode acontecer maior letalidade nas células.

Palavras-chave: Ação antitumoral, Citotoxicidade, *Vassobia breviflora*, Plantas medicinais, Câncer.



POPULARIZAÇÃO DA BIOTECNOLOGIA: RELATO DE EXPERIÊNCIA DA OFICINA “DA NATUREZA À FARMÁCIA” ATRAVÉS DO PROJETO LABORATÓRIO VIVO

JULLY NUNES ERLACHER; MARIA DAS GRAÇAS FERREIRA LOBINO; EDUARDO PONTES
PEREIRA; FLÁVIA DUARTE FERRAZ SAMPAIO

Introdução: Em contraste com a crescente preocupação em levar uma vida saudável, percebe-se a dependência excessiva de medicamentos sintéticos. Nesse contexto, foi desenvolvida a Oficina "Da Natureza à Farmácia". Realizada durante a 7ª Jornada de Integração do IFES, a atividade teve como objetivo popularizar o conhecimento científico e biotecnológico sobre a produção de medicamentos a partir de plantas e a relação entre eles. **Objetivo:** Descrever a experiência da oficina que capacitou alunos do Ensino Fundamental II e Médio a reconhecer as propriedades das plantas medicinais e promover um uso consciente e responsável dos recursos naturais para a saúde. Além disso, buscou-se desmistificar preconceitos e estimular uma visão reflexiva sobre o uso de fitoterápicos. **Relato de Experiência:** Unindo teoria e prática, a atividade relacionou medicamentos sintéticos conhecidos com substâncias extraídas plantas, de modo que os participantes foram guiados a entender a produção de remédios a partir de princípios ativos de origem vegetal. A abordagem crítica questionou os dilemas relacionados à prescrição de fitoterápicos por médicos, abordou a descrença na eficácia das plantas e os perigos da automedicação. Além disso, foi realizada a explicação prática da extração de óleos essenciais da casca de laranja pera pelo método da hidrodestilação/destilação por arraste a vapor, enriquecendo a discussão e o interesse dos presentes. **Discussão:** A oficina foi desenvolvida com base no curso de Formação para Ecoeducadores do projeto Laboratório Vivo, oferecido em formato de oficinas temáticas, especialmente a "Saúde Integral e as PICs" ministrada durante o processo formativo. **Conclusão:** Foi destacada a importância de popularizar a ciência e a biotecnologia, promovendo o aprendizado prático e a conscientização sobre o uso responsável de recursos naturais. O relato reforça a necessidade de maior transversalidade no ensino, alinhando-se aos objetivos de aprendizagem por meio da extensão.

Palavras-chave: Popularizar, Oficina, Biotecnologia, Fitoterápicos, Ciência.



POTENCIAL CITOTÓXICO DO VENENO DA VESPA SOCIAL *PROTOPOLYBIA EXIGUA* (SAUSSURE, 1854) EM CÉLULAS DE CÂNCER LEUCÊMICO

DANIELE SOARDI DOS SANTOS; TANIELEN RAMOS POLONI; AMANDA BUZANARI BARBOSA; MELANYA DA SILVA SANTOS

Introdução: A subfamília Polistinae compreende uma vasta gama de vespas sociais, totalizando mais de 900 espécies, com distribuição cosmopolita, mas abrangendo principalmente o território brasileiro. Estes insetos constroem ninhos seja por enxameagem ou de maneira independente e formam colônias que variam de algumas dezenas a centenas de indivíduos, sendo conhecidos por utilizar o veneno liberado durante uma ferroadada para a defesa da colônia e para captura de presas. Esse veneno é uma complexa mistura de substâncias bioativas, incluindo proteínas, enzimas e peptídeos, que têm potencial para causar danos aos tecidos. **Objetivo:** Diante deste contexto, o presente estudo tem como objetivo avaliar se há ação citotóxica do veneno da vespa social *Protopolybia exigua* em células de leucemia mieloide crônica da linhagem K562 (leucêmica humana). **Material e Métodos:** O efeito do veneno bruto de *P. exigua* foi investigado através da realização do ensaio de viabilidade celular utilizando 3-(4,5dimethylthiazol-2-yl) -2,5-diphenyltetrazolium bromide (MTT). Para realizar este estudo, a linhagem cancerígena K562 (leucêmica humana) foi plaqueada em microplacas de 96 poços e tratada com diferentes concentrações (25µg/ml, 50µg/ml, 100µg/ml e 200µg/ml) de veneno bruto de *P. exigua* por um período de 24 horas. **Resultados:** Os resultados obtidos demonstram que o veneno da vespa social *P. exigua* não apresentou efeito significativo sobre a viabilidade da linhagem celular K562. Pelo contrário, durante o período de 24 horas houve um aumento significativo na proliferação das células cancerígenas quando comparadas ao grupo controle, sugerindo a presença de compostos bioativos que podem estar associados ao crescimento celular. **Conclusão:** Em conclusão, este estudo indica que a ação citotóxica do veneno da vespa *P. exigua*, avaliada pela primeira vez, não possui potencial para fracionamento e isolamento de moléculas que possam intensificar a ação antitumoral.

Palavras-chave: Ação antitumoral, Melanoma, *Protopolybia exigua*, Veneno, Vespa social..



PRECISÃO DO MÉTODO DE CONTAGEM DE BACILLUS CEREUS EM ALIMENTOS: UMA AVALIAÇÃO DA REPETIBILIDADE EM UM LABORATÓRIO DE CONTROLE DE QUALIDADE DE ALIMENTOS

CAMILA DA SILVA QUIDORNE; INGRID DOS SANTOS DA SILVA; MARCUS VINICIUS DE
MELO DA SILVA; JULIANA DOS SANTOS DO CARMO

Introdução: *Bacillus cereus* é uma bactéria comum encontrada no ambiente, especialmente no solo, e também pode contaminar uma variedade de alimentos. Embora nem todas as cepas de *Bacillus cereus* sejam patogênicas, algumas podem produzir toxinas que causam intoxicação alimentar. A vigilância sanitária de alimentos visa garantir que os alimentos comercializados estejam em conformidade com os padrões de segurança alimentar e protegem a saúde pública, reduzindo os riscos associados à contaminação por *Bacillus cereus* e outras bactérias patogênicas. A contagem de *Bacillus cereus* presuntivo se trata de um ensaio normalizado quantitativo descrito na ISO 7932:2004. A validação do método para detecção e contagem de *Bacillus cereus* é um processo fundamental para garantir a confiabilidade e a precisão dos resultados obtidos. Para os métodos quantitativos, os parâmetros avaliados na validação foram repetibilidade e reprodutibilidade. **Objetivo:** Avaliar a capacidade do método de contagem de *Bacillus cereus* presuntivo a partir de alimentos em produzir resultados precisos e consistentes, ou seja, a capacidade de repetir as medições com acurácia. **Materiais e métodos:** O método consiste na contagem de *Bacillus cereus* presuntivo em amostras de alimentos utilizando a técnica de semeadura em superfície, em duplicata, em meio ágar manitol gema de ovo com polimixina (MYP). As amostras foram contaminadas artificialmente com 1 mL da diluição 10⁻¹ de *Bacillus cereus*. Após espalhamento do inóculo no meio, as placas foram incubadas em estufa. Para análise estatística foram utilizados os valores das 10 contagens realizadas em duplicata, pelo mesmo analista, utilizando o mesmo procedimento, nas mesmas condições em curto período. **Resultados:** A maior variação apresentada pelos analistas envolvidos no ensaio apresentou um coeficiente de variação de 4,46% e incerteza de medição de 0,08 UFC/mL. **Conclusão:** O método foi considerado preciso, visto que apresentou uma variabilidade entre os analistas menor que preconiza a norma. Isso inclui a variabilidade causada por fatores como pipetagem, preparação de amostras, medição de volumes, entre outros.

Palavras-chave: Método, Validação, Qualidade, Alimento, Precisão.



PREPARAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE UM NOVO SUPORTE OBTIDO DO EPICARPO DE MACAÚBA PARA A IMOBILIZAÇÃO DE LIPASE MICROBIANA

JOSÉ MIGUEL JÚNIOR; ADRIANO AGUIAR MENDES

Introdução: Os resíduos agroindustriais, em destaque os materiais lignocelulósicos, têm sido considerados materiais de grande potencial para a imobilização e estabilização de enzimas de interesse industrial como lipases. Esta tendência é motivada pelo baixo custo e grande disponibilidade destes resíduos, que na verdade são subaproveitados e causam problemas ambientais. Neste contexto, o desenvolvimento de biocatalisadores industriais de forma sustentável e com baixo custo pode aumentar consideravelmente a aplicação da tecnologia enzimática na indústria de transformação.

Objetivo: Neste estudo, um inédito material obtido a partir de partículas de epicarpo (casca) pré-tratadas de *Acrocomia aculeata* (macaúba), um resíduo de biomassa lignocelulósica, foi preparado para imobilização de uma lipase comercial de baixo custo de *Thermomyces lanuginosus* expressa em *Aspergillus oryzae* (Eversa® Transform 2.0 – ET2.0). **Materiais e Métodos:** Este material foi preparado por etapas sequenciais de pré-tratamento como: extração do epicarpo dos frutos, moagem em moinho de facas, classificação do tamanho de partículas (75 – 120 µm), tratamento termoquímico (solução de HCl a 120°C por 2 h) e extração de extrativos com etanol a 70% m.m⁻¹ (25°C por 15 h). O biocatalisador heterogêneo foi preparado via adsorção física de ET2.0 no suporte pré-tratado em tampão fosfato de sódio 5 mmol L⁻¹ pH 5,0 utilizando uma carga proteica inicial de 40 mg g⁻¹ de suporte. **Resultados:** Análises de espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier (FT-IR) e microscopia eletrônica de varredura (MEV) confirmaram mudanças em sua estrutura química e formação de uma estrutura porosa. Máxima concentração de proteína imobilizada de 25,2 ± 1,3 mg g⁻¹ de suporte, que corresponde a um rendimento de imobilização de 64,8 ± 2,5%, foi alcançada após 15 h de contato a 25°C. Este valor foi 5 vezes maior que a imobilização conduzida no suporte obtido sem prévio tratamento. **Conclusão:** Estes resultados demonstram a importância do pré-tratamento proposto na obtenção de um material poroso que possibilita a preparação de um biocatalisador com elevada capacidade de retenção de atividade catalítica. Este novo estudo mostra a promissora conversão deste resíduo agroindustrial na preparação de um biocatalisador heterogêneo para posterior aplicação em reações de interesse industrial.

Palavras-chave: Imobilização de lipase, Suporte enzimático, Macaúba, Resíduo de biomassa, Pré-tratamento.



PRIMEIRA DESCRIÇÃO DO GENOMA MITOCONDRIAL COMPLETO DO *CRENICICHLA LUGUBRIS* (TELEOSTEI; CICHLIFORMES; CICHLIDAE)

VINÍCIUS GONÇALVES DE MIRANDA; IURI BATISTA DA SILVA; IGOR HENRIQUE RODRIGUES OLIVEIRA; RUBENS PASA; KARINE FREHNER KAVALCO

Introdução: *Crenicichla lugubris* é uma espécie de peixe sul-americano pertencente à ordem dos Cichliformes, conhecido popularmente como peixe sabão devido às suas escamas serem pequenas e lisas. Possui um corpo longo e estreito de formato cilíndrico com coloração cinza escuro que geralmente apresenta detalhes vermelhos no ventre e sob a cabeça. Possui uma mácula escura na região umeral, logo atrás do opérculo. Pode alcançar aproximadamente 25 cm de comprimento. É uma espécie territorialista que defende ativamente sua área de alimentação e reprodução, podendo se alimentar de pequenos peixes e crustáceos. Nos últimos anos, o estudo dos mitogenomas vem se mostrando uma ferramenta cada vez mais eficaz para análises filogenéticas e para a compreensão dos seres vivos devido ao fato desses genomas apresentarem genes codificantes e uma organização conservada nos vertebrados. **Objetivo:** Este estudo teve por objetivo descrever o genoma mitocondrial (mitogenoma) de *Crenicichla lugubris* para que fosse aumentada a compreensão genômica acerca desta espécie. **Materiais e Métodos:** Para isso, o mitogenoma dessa espécie foi montado e anotado através sequências de DNA-Seq obtidas do Sequence Read Archive (código de acesso: ERR10789853). Esses dados foram importados para a plataforma Galaxy Europe, onde foi utilizada a ferramenta NovoPlasty v4.3.1 para montar o genoma mitocondrial, utilizando como semente o gene parcial do citocromo b da própria espécie (código de acesso: GU736933) A montagem foi feita seguindo os seguintes parâmetros: read length = 151, insert size = 300 e k-mer = 23. Posteriormente, a anotação foi realizada utilizando o programa MitoAnnotator, disponível na plataforma MitoFish. **Resultado:** Observamos que o mitogenoma de *Crenicichla lugubris* possui 16.832 pares de base (pb), com um conteúdo de GC de 47%. Identificamos 13 genes codificadores de proteínas (PCGs), dois RNAs ribossômicos (rRNA), 22 RNAs transportadores (tRNA) e uma região não-codificadora (D-loop) com 1.129 pb. **Conclusão:** A composição genômica encontrada está de acordo com o padrão esperado de mitogenoma para peixes. Com isso, conclui-se que este estudo conseguiu descrever o primeiro genoma mitocondrial completo do *Crenicichla lugubris*, o que irá contribuir no aumento da compreensão dessa espécie, assim como poderá servir de referencial para a montagem de outros mitogenomas de espécies do gênero.

Palavras-chave: Cichlidae, Galaxy europe, Mitofish, Mitogenoma, Peixe sabão.



PRINCIPAIS ALIMENTOS TRANSGÊNICOS

TANIELE CARVALHO DE OLIVEIRA; ALTACIS JUNIOR DE OLIVEIRA; CARLOS LUIZ VIEIRA; DANIELA SOARES ALVES CALDEIRA; ISANE VERA KARSBURG

Introdução: A biotecnologia reúne técnicas e ferramentas que possibilitam a manipulação de organismos vivos para fabricar ou modificar produtos. Nesse meio incluem os produtos agrícolas desenvolvidos utilizando organismos e metodologias moleculares. Diversas plantas transgênicas também conhecidos como “organismos geneticamente modificados” (OGM), tiveram o DNA alterado pela inserção de um gene de outro organismo. Algumas dessas espécies são cultivadas em diferentes partes do mundo e utilizadas para produção de alimentos, no Brasil destacam-se a cana-de-açúcar, feijão, milho e soja. Os alimentos considerados transgênicos são aqueles cujos ingredientes contêm matérias-primas que passaram por esse processo de transgenia. **Objetivo:** Descrever os principais alimentos que possuem em sua composição a inserção de OGM. **Metodologia:** Realizou-se uma revisão narrativa de literatura, a partir da busca com o descritor “alimentos transgênicos” no endereço eletrônico Google Acadêmico, selecionando estudos que apresentavam a descrição do método no título e no corpo do texto de forma abrangente, de modo a contribuir com a revisão. **Resultados:** Estima-se que a maioria dos alimentos processados contém pelo menos um ingrediente derivado do processo de transgenia, dando origem a produtos como os óleo de soja, extrato de soja, proteína texturizada de soja, leite de soja, margarina, pães, bolos, biscoitos, molho shoyu, cereal matinal, maionese, molho de tomate, tofu, balas, chicletes, dentre outros. É importante destacar que a maioria destes produtos não são integralmente transgênicos, mas contêm uma certa percentagem de OGM na composição. Além disso, algumas bactérias, leveduras e fungos geneticamente modificados atuam diretamente nos processos de fermentação, preservação e desenvolvimento de sabor e aroma de alguns alimentos. No Brasil, o Decreto 4.680/03 regulamenta a rotulagem de alimentos que contenham mais de 1% de matéria-prima constituída por OGM e devem ser identificados com um T preto, um triângulo amarelo e informações sobre o insumo transgênico. **Conclusão:** A biotecnologia está presente na mesa dos consumidores há muito tempo devido o cultivo de plantas transgênicas. Essa prática viabiliza o aumento da produtividade em um mesmo espaço de cultivo, a melhoria da qualidade nutricional das plantas e a redução dos custos de produção, além de melhorar a qualidade dos alimentos conforme a necessidade nutricional da população.

Palavras-chave: Biotecnologia, Organismos geneticamente modificados, Segurança alimentar, Produção de alimentos, Agricultura.



PRODUÇÃO DE BIOETANOL A PARTIR DO BAGAÇO DE MALTE POR SACCHAROMYCES CEREVISIAE E ZYMOBACTER PALMAE

RENATO ANTONIO DOS ANJOS; PAULA FERNANDA PETRUF RIBEIRO

Introdução: Diante do crescimento da população global e do aumento do consumo de energia elétrica, a busca por fontes alternativas tornou-se crucial. O uso de combustíveis fósseis traz consigo implicações sérias para o meio ambiente devido a liberação de gases do efeito estufa como o dióxido de carbono (CO₂). Com base nisso, o uso de biocombustíveis vem sendo uma alternativa para mitigar as alterações climáticas e suprir a crescente demanda energética. O bagaço de malte representando aproximadamente 85% do total de resíduos gerados durante o processo de produção de cerveja, destaca-se como uma fonte valiosa para produção de bioetanol devido a sua abundância e baixo custo. **Objetivo:** Nesse contexto, este estudo tem como objetivo a produção de bioetanol a partir do bagaço de malte, envolvendo a fermentação do mosto com *Saccharomyces cerevisiae* e *Zymobacter palmae*. **Metodologia:** A produção do bioetanol a partir do bagaço de malte inicia-se pela moagem mecânica do material em pequenos fragmentos. Posteriormente, o material é submetido a um pré-tratamento por explosão a vapor à 120°C catalisado via ácido sulfúrico 10%, seguido da hidrólise enzimática utilizando a enzima celulase. O líquido resultante é filtrado e fermentado por *Saccharomyces cerevisiae* à 25°C durante 72h. A maltose presente no mosto é fermentada por *Zymobacter palmae*, visando um maior rendimento na produção de etanol, visto que bagaço de malte têm mais maltose que glicose em sua composição. **Resultados:** Nos testes iniciais, a utilização de 125 gramas da matéria prima resultaram na obtenção de 1 ml de álcool, evidenciando a viabilidade do processo. Embora o rendimento inicial seja baixo, é importante observar que a quantidade de matéria prima utilizada também é bastante reduzida para a produção efetiva de bioetanol. Além disso, até o presente momento, o isolamento bem sucedido da bactéria *Zymobacter palmae* não foi alcançado, no entanto, métodos alternativos em teste mostraram-se promissores para viabilizar o isolamento. **Conclusão:** Portanto, novos testes e otimizações nos métodos de isolamento da bactéria serão necessários, bem como a utilização de quantidades mais substanciais da amostra. Essas abordagens serão essenciais para avaliar efetivamente a viabilidade e produção do bioetanol a partir do bagaço de malte.

Palavras-chave: Biocombustível, Bagaço de malte, Bioetanol, *Saccharomyces cerevisiae*, *Zymobacter palmae*.



PRODUÇÃO DE BIOTENSOATIVOS POR BACTÉRIAS DIAZOTRÓFICAS UTILIZANDO DIFERENTES FONTES DE NITROGÊNIO

MARCOS ANDRÉ MOURA DIAS; MARCIA NITSCHKE

Introdução: Biotensoativos (BS) são compostos anfifílicos de origem microbiana que exibem uma vasta gama estrutural, sendo derivados de metabólitos de bactérias, fungos e leveduras. A busca por microrganismos capazes de produzir compostos de interesse econômico, incluindo os BS, tem impulsionado o avanço da biotecnologia nas últimas décadas. Existem diversas técnicas que podem ser eficientes na prospecção de microrganismos produtores de compostos tensoativos. Entre as mais empregados está a medida de tensão superficial (TS). **Objetivo:** Este trabalho teve por objetivo avaliar a produção de BS por duas linhagens de rizóbios (J96) e (J88) pertencentes ao gênero *Paraburkholderia diazotrophica*, utilizando nove fontes de nitrogênio distintas. **Material e métodos:** As bactérias foram cultivadas em meio de cultivo contendo: NaCl (0,5 g/L); KH_2PO_4 (0,5 g/L); Na_2HPO_4 (1,0 g/L); Óleo de girassol 10,0 g/L; $(\text{MgSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O})$ (0,5 g/L), acrescido de 4,0 g/L das seguintes fontes de nitrogênio: $\text{CH}_4\text{N}_2\text{O}$, NH_4Cl , NH_4NO_3 , NaNO_3 e $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ (pH = 7). O ensaio foi conduzido a 28°C e 160 rpm, durante 10 dias em incubadora tipo shaker. Após a separação da biomassa (10.000 g/ 20 min. 4°) o sobrenadante livres de células, foi utilizado para medida da tensão superficial, pelo método do anel de Du Noüy. **Resultados:** O Nitrato de amônio (NH_4NO_3) foi a melhor fonte de nitrogênio para ambas as linhagens, sendo o valor da TS do meio reduzida de 69,9 mN/m para 30,2 mN/m, para J96 e 34,3 mN/m para J88. **Conclusão:** Os resultados obtidos nesse trabalho sugerem o potencial biotecnológico dessas bactérias para produção de biotensoativos quando cultivadas em meio mineral suplementado com NH_4NO_3 como fonte de nitrogênio sob condições específicas de crescimento. A investigação futura das propriedades gerais e da natureza química dos BS são etapas importantes afim de ampliar o conhecimento acerca desses biocompostos.

Palavras-chave: Bactérias diazotróficas, Biotensoativos, Tensão superficial, Rizóbios, Nitrogênio.



QUANTIFICAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO NUTRICIONAL DA SOJA COMERCIAL: UMA ABORDAGEM EDUCATIVA E EXPERIMENTAL EM AULA PRÁTICA DE BIOQUÍMICA E BROMATOLOGIA

TARSIANE MARA CARNEIRO BARBOSA; LUIZA DE OLIVEIRA POSSA; DAIANE GUIMARÃES DE OLIVEIRA; JAQUELINE V.P.GOMES

Introdução: A soja, membro das leguminosas, é amplamente utilizada na alimentação e na indústria de óleos comestíveis, sendo rica em nutrientes essenciais como proteínas, minerais e vitaminas, além de conter isoflavonas e fibras dietéticas. Apesar de conter fitatos considerados antinutricionais, estudos recentes destacam seus benefícios antioxidantes e na prevenção de doenças crônicas. **Objetivo:** Visamos realizar a quantificação e caracterização nutricional de grãos de soja, comparando os resultados com o rótulo original do alimento e tabelas padrão de composição química da soja, como uma abordagem educativa e experimental em aulas práticas de bioquímica e bromatologia.

Metodologia: Para determinar o teor de umidade, utilizou-se o método de secagem de estufas. A quantificação de lipídios foi feita por extração com solventes, utilizando o método Soxhlet. A determinação de proteínas totais foi realizada pelo Método Kjeldahl. Os carboidratos foram quantificados pelo Método DNS, enquanto a fibra bruta foi determinada pela digestão ácido-base. Adicionalmente, foram realizadas análises de cinzas sulfatizadas e quantificação de fósforo por espectrofotometria, todas em duplicata. **Resultados:** O teor de umidade foi de 9,0183%, compatível com a Tabela Brasileira de Composição de Alimentos. A quantificação de minerais foi de 3,97%, ligeiramente menor do que a literatura. O teor de fósforo foi satisfatório, alcançando 520,08%, em concordância com os dados da TACO. Em relação aos lipídios totais, obtivemos 21,85%, quatro vezes maior do que o rótulo indicava. A amostra apresentou 35,37% de proteína, três vezes mais do que o valor declarado no rótulo. Quanto aos carboidratos, a amostra apresentou apenas 3,29%, significativamente inferior aos valores da Tabela USDA e da Tabela Brasileira de Composição de Alimentos. Observou-se 21,51% de fibra bruta, oito vezes mais do que o valor declarado no rótulo.

Conclusão: A análise dos grãos de soja ressalta a importância desses procedimentos na determinação precisa dos nutrientes. Houve disparidade entre os resultados e as informações nutricionais do rótulo, destacando a necessidade de precisão nas análises e atualização dos rótulos. A prática dessas análises proporciona uma compreensão mais profunda dos processos envolvidos na avaliação da composição dos alimentos, preparando os estudantes para desafios futuros na área de bioquímica de alimentos e nutrição.

Palavras-chave: Bioquímica de alimentos, Bromatologia, Soja, Aula prática, Ensino de bromatologia.



QUITOSANA ASSOCIADA COM EXTRATOS ORGÂNICOS NO CONTROLE SHELF LIFE PÓS-COLHEITA DE MORANGOS

THAYS APARECIDA GARBIN DE OLIVEIRA; CAMILY EDUARDA BISPO; LUIZ GUSTAVO MARQUES COLOGNESE; YASMIN LOURENÇO DO PRADO; GABRIEL DEQUIGIOVANNI

Introdução: *Shelf life* é o tempo que um alimento permanece seguro para consumo, dependendo das condições de armazenamento. Diversas estratégias são usadas para prolongar a durabilidade de alimentos mais frágeis como os morangos. Biofilmes, desenvolvidos a partir de polissacarídeos, lipídeos, proteínas e derivados, são alternativas eficazes às embalagens convencionais. Neste sentido, a quitosana e a carragena podem oferecer propriedades antimicrobianas. **Objetivo:** Avaliar diferentes composições de Biofilmes formulados com quitosana e carragena para prolongar o prazo de validade e melhorar a qualidade de morangos. **Materiais e Métodos:** Foram adotados 7 tratamentos com 8 repetições. Frutos de morangos em estágio 2 de maturação foram selecionados. As amostras foram lavadas e higienizadas em água e sanitizante em concentração de 200 ppm de cloro ativo. Posteriormente, as amostras de morango foram submetidas aos tratamentos: quitosana a 4%; extrato aquoso de alga 1 a 15%; extrato aquoso de alga 2 a 15%; extrato aquoso de alga 1 a 15% + quitosana a 4%; extrato aquoso de alga 2 a 15% + quitosana a 4%. Os extratos aquosos de algas 1 e 2 diferem em concentração de produto. Os frutos foram mantidos em geladeira e as avaliações realizadas aos 2, 5 e 7 dias, sendo atribuídas notas aos sintomas da podridão e análises físico-químicas de pH e °Brix iniciais e finais. **Resultados:** Ao analisar os parâmetros de pH e °Brix, no estágio inicial das amostras, obteve-se 2,95 e 5, respectivamente. Após os sete dias de incubação, observou-se, em média, os valores de 3,89 e 5,1, em relação ao pH e °Brix das amostras. Ao final do tempo de incubação foi identificada uma baixa presença de fungos superficiais. **Conclusão:** Dois tratamentos (5-B-1 e 4-B-5) demonstraram resultados promissores no aumento de *shelf life*. As análises de pH e °Brix indicaram que esses tratamentos contribuíram para retardar o amadurecimento das frutas. Além disso, os resultados visuais foram consistentemente positivos para essas e outras amostras, sugerindo uma perspectiva favorável. Para uma compreensão mais aprofundada da relação entre as concentrações utilizadas e os efeitos na vida útil dos morangos, mais estudos são necessários.

Palavras-chave: Biofilme, Antimicrobiano, Conservação, Maturação, Aparência.



REPRODUTIBILIDADE DA TERMOESTABILIDADE DA VACINA BCG: CONFIABILIDADE METROLÓGICA EM ENSAIO DE CONTROLE DE QUALIDADE DE IMUNOBIOLÓGICOS

CAMILA DA SILVA QUIDORNE; INGRID DOS SANTOS DA SILVA; MARCUS VINICIUS DE MELO DA SILVA; JULIANA DOS SANTOS DO CARMO; TALITA COELHO DE SOUZA

Introdução: A vacina BCG (*Bacillus Calmette-Guérin*) é uma vacina utilizada para prevenir a tuberculose, uma doença bacteriana contagiosa que afeta principalmente os pulmões. A Vigilância Sanitária desempenha um papel crucial na garantia da qualidade e segurança das vacinas, incluindo a BCG, no Brasil. O controle de qualidade das vacinas, incluindo a BCG, é feito através de testes rigorosos realizados pelas autoridades de saúde. Esses testes têm como objetivo verificar diversos aspectos relacionados à produção, armazenamento e distribuição das vacinas, incluindo a termoestabilidade. Testes de estabilidade são realizados para garantir que a vacina permaneça eficaz e segura mesmo após armazenamento e transporte em diferentes condições ambientais. A reprodutibilidade de um método de análise da vacina refere-se à capacidade de obter resultados consistentes e confiáveis ao repetir o mesmo procedimento em diferentes condições e por diferentes operadores. No contexto das vacinas, a reprodutibilidade dos métodos de análise é fundamental para garantir a consistência dos resultados e a confiabilidade das informações obtidas. **Objetivo:** Avaliar o parâmetro de reprodutibilidade na validação do método analítico de termoestabilidade de Bacilo de Calmette e Guérin (BCG). **Materiais e métodos:** O método analítico consiste no preparo de diluições da amostra de vacina em meio de cultivo líquido Sauton 1:4, inoculação de volumes fixos destas diluições em tubos contendo meio sólido Lowenstein-Jensen e incubação a $37\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ por 3 a 4 semanas, com posterior contagem de colônias características de BCG, sendo o resultado expresso em unidades formadoras de colônias por mililitro (UFC/ml). Os cálculos e avaliações estatísticas foram realizados por meio de planilha eletrônica Excel validada. **Resultados:** O coeficiente de variação da precisão intermediária do ensaio foi 14,65% com uma incerteza de medição de 0,15 UFC/ml. **Conclusão:** Com base nos resultados dos parâmetros de avaliação de desempenho, o método foi considerado adequado para termoestabilidade de BCG em meio de cultura Lowenstein-Jensen nas amostras de vacina analisadas. Em resumo, garantir a reprodutibilidade dos métodos de análise da vacina é essencial para garantir a qualidade e a segurança das vacinas administradas à população.

Palavras-chave: Reprodutibilidade, Vacina, Método, Validação, Termoestabilidade.



SELEÇÃO DE ACTINOBACTÉRIAS DA RIZOSFERA DA LOBEIRA VISANDO À ATIVIDADE ANTIFÚNGICA

BÁRBARA MARIA RODRIGUES WINGLER

Introdução: Actinobactérias são um filo de bactérias que possuem estruturas filamentosas e produzem metabólitos secundários úteis em aplicações biotecnológicas. A rizosfera da planta lobeira é favorável à colonização por actinobactérias. *Cryptococcus neoformans* é uma levedura patogênica que pode causar criptococose em pessoas imunocomprometidas e é altamente letal. **Objetivo:** [BW1] Este estudo explora a capacidade de actinobactérias em produzir compostos que inibam o crescimento e os fatores de virulência do patógeno *Cryptococcus neoformans*. **Metodologia:** Amostras da rizosfera de duas lobeiras e do solo de um formigueiro resultaram na identificação de dois isolados de actinobactérias (LUF e LU1.2). Outros cinco isolados previamente obtidos (FS-8; LAP 11; LDB-2; amarelo/laranja (A/L) e Ha2) foram selecionados para testar a atividade antifúngica contra as linhagens *C. neoformans* var. *grubii* H99 (linhagem de referência) e *C. neoformans hda1Δ* (linhagem mutante perda de função para o gene de histona desacetilase 1). Os extratos aquosos produzidos pelas actinobactérias foram empregados para a determinação da Concentração Inibitória Mínima a partir das concentrações iniciais de 80 mg/mL ou 100 mg/mL. **Resultados:** Não foram encontradas colônias isoladas dos dois isolados (LUF e LU1.2) da lobeira. Os outros cinco isolados de actinobactéria não inibiram o fungo *C. neoformans* H99. Os extratos dos isolados A/L, Ha2 LDB-2 não demonstraram atividade antifúngica para *C. neoformans hda1Δ*, mas LAP 11 e FS-8 inibiram o crescimento desse fungo na concentração de 40 mg/mL. **Conclusão:** Nossos resultados positivos com LAP 11 e FS-8 apontam o potencial de actinobactérias do solo do cerrado como produtoras de compostos antifúngicos e sugerem uma relação entre a regulação epigenética e a suscetibilidade a xenobióticos. [BW1]

Palavras-chave: Atividade antimicrobiana, Actinobactéria, Cerrado, *Cryptococcus neoformans*, Antifúngico.



SIMULAÇÃO DE BIOINFORMÁTICA ENVOLVENDO POLÍMEROS NA FUNCIONALIZAÇÃO DE NANOPARTÍCULAS DE OURO PARA CONJUGAÇÃO COM ANTICORPOS VISANDO SUA APLICAÇÃO EM BIOSSENSORES

BRUNA FERRI SERAFINI; DUANE DA SILVA MORAES; GIOVANA DALPIAZ; PRISCILA SCHMIDT LORA; MARIANA ROST MEIRELES

Introdução: A aplicação de nanopartículas de ouro (AuNPs) funcionalizadas na construção de biossensores contribui para a fixação e orientação dos anticorpos de forma que seu fragmento de ligação ao antígeno esteja livre para interação. Diferentes compostos, contendo grupos tiolados vêm sendo utilizados para a funcionalização das AuNPs, destacando-se o Polietilenoglicol Tiolato Amina (HS-PEG-NH₂) e o 3-(mercaptopropil)trimetoxisilano (MPTS). O estudo sobre a formação dos complexos envolvendo AuNPs funcionalizadas e anticorpos requer elevados recursos temporais e financeiros. Assim, o uso de novas ferramentas de biologia computacional/bioinformática pode direcionar os esforços e colaborar com o entendimento destes complexos. **Objetivo:** Este trabalho visou identificar o melhor agente funcionalizante de AuNPs através de simulação por bioinformática estrutural da interação entre AuNP-funcionalizada-antígeno e anticorpo. **Materiais e Métodos:** A primeira etapa da metodologia foi a obtenção das estruturas tridimensionais a partir do *blastP* seguido de avaliação e modelagem do anticorpo, desenho tridimensional das estruturas químicas e minimização de Energia no *software* Avogadro. A segunda etapa envolveu a utilização destas estruturas em abordagem de *docking* molecular no *software* HDOCK. Os acoplamentos foram avaliados conforme o resultado de *docking score*. Foi necessário restringir a análise do anticorpo para o seu domínio *FAB* e modelar separadamente a cadeia leve e a cadeia pesada, devido à limitação dos *softwares* utilizados. **Resultados:** Os resultados revelaram que o *docking score* para a interação entre AuNP-[HS-PEG-NH₂]-antígeno e a cadeia pesada do anticorpo é de -217,3. Para a mesma interação, porém com a cadeia leve, o valor é de -217,00. No caso da interação entre AuNP-MPTS-antígeno com a cadeia pesada do anticorpo, o valor é de -215,64. Para essa mesma interação com a cadeia leve do anticorpo é de -210,15. Um menor valor de *docking score* indica uma ligação mais forte entre as interações de moléculas. Essa maior afinidade é evidenciada no complexo com HS-PEG-NH₂, o qual apresenta um *docking score* inferior ao do MPTS. **Conclusão:** Conclui-se que a AuNP funcionalizada com HS-PEG-NH₂ demonstrou uma interação de *docking molecular* maior, embora ambas tenham resultados de ancoramento que sugerem interação *in vitro* para sua aplicação em biossensores.

Palavras-chave: 3-(mercaptopropil)trimetoxisilano, Antígeno, Biologia computacional, Docking molecular, Polietilenoglicol tiolato amina.



SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DE HIDROGÉIS PARA APLICAÇÕES EM BIOSENSORES ÓPTICOS PARA DOENÇAS METABÓLICAS

HIGOR JOSÉ DA SILVA; THAIS MEIRA MENEZES

Introdução: Nos últimos anos, o aumento do diagnóstico de doenças metabólicas em todo o mundo tem despertado grande atenção no âmbito global da saúde. Havendo assim, um crescimento significativo em patologias tais como a diabetes, hipotireoidismo, obesidade entre outros. Por este motivo, se faz necessário o desenvolvimento de sensores para o diagnóstico e monitoramento de patologias metabólicas, tendo como alvo molecular biomarcadores específicos de tais enfermidades. Considerando a vasta classe de biossensores, se destaca o uso de materiais biopoliméricos no desenvolvimento de pesquisas relacionadas a este tema. Contudo, a pesquisa e a aplicação de hidrogéis à base de proteínas para a obtenção destes dispositivos são escassas. **Objetivo:** O objetivo deste estudo consiste na síntese e caracterização de hidrogéis injetáveis baseados em proteínas, para posterior teste de viabilidade destes como sensores ópticos de biomarcadores para doenças anteriormente citadas. **Materiais e Métodos:** A síntese dos hidrogéis foi baseada nas referências pesquisadas em artigos recentes com modificações. O método foi baseado na ligação cruzada de biopolímeros, especificamente a albumina sérica bovina (BSA). Foi adicionada à proteína excesso de agente redutor TCEP, submetendo a mistura ao banho ultrassônico durante 10 minutos, produzindo desta forma, o material de interesse. Na caracterização, foram realizados ensaios de MEV, FT-IR e UV-Vis. **Resultados:** Na síntese, foram obtidos resultados satisfatórios, obtendo uma boa gelificação dos produtos. Na etapa de caracterização, as imagens do MEV foram satisfatórias mostrando uma superfície porosa, ideal para o nosso dispositivo. Nas análises de infravermelho e ultravioleta foram observados grupos funcionais condizentes com o esperado e absorção entre (200-400nm) que são característicos para a proteína escolhida. **Conclusão:** Os resultados mostraram-se satisfatórios até o momento, com o método de síntese reprodutível. Além disso, observa-se pelas caracterizações do material que, o objetivo de obter os hidrogéis como biossensores de biomarcadores pode ser alcançado. No entanto, são necessárias a realização de outras análises, tais como, ensaios de estabilidade, seletividade e sensibilidade que possam comprovar a eficácia destes materiais como biossensores.

Palavras-chave: Biossensores, Doenças metabólicas, Biopolímeros, Proteínas, Biomarcadores.



SÍNTESE VERDE DE NANOPARTÍCULAS DE PRATA UTILIZANDO EXTRATO DE FLOR

MICHELE VALQUÍRIA DOS REIS; LUCAS DE AZEVEDO SALES; ANTONIO RODRIGUES DA CUNHA; MARISA TANIGUCHI; LUIS CARLOS DINIZ

Introdução: Nanopartículas de prata (AgNPs) têm sido objeto de estudo devido às suas múltiplas aplicações na agricultura e na biotecnologia, com destaque para sua ação antimicrobiana, estímulo do crescimento vegetal e ação antioxidante. Porém a utilização de rotas de sínteses mais sustentáveis, como a síntese verde dessas nanopartículas, se faz necessário. **Objetivo:** Produzir nanopartículas de Ag através do processo de síntese verde, utilizando flores da planta ornamental *Dahlia pinnata*. **Materiais e Métodos:** Flores de Dálias de coloração roxa no máximo desenvolvimento fisiológico foram utilizadas para produzir o extrato. A síntese verde nanopartículas de prata será realizada pela adição do nitrato de prata (AgNO_3) diluído em água deionizada nas concentrações de 0,01 M e 0,001M para um volume final de 25 ml, sendo que destes, 5 ml é de extrato aquoso de flores. Estas soluções foram submetidas ao banho-maria utilizando mesa aquecedora por 20 minutos a 90° C. Os tubos de ensaio contendo as soluções foram mantidos reservados para atingirem a temperatura ambiente e realizar a caracterização por meio do equipamento Malvern 3000 Zetasizer. Foi determinada a estabilidade e a carga elétrica das nanopartículas por meio do Potencial ZETA. O teste de Potencial ZETA é importante para medir a força de repulsão entre as partículas, uma vez que fornece informações sobre sua dispersão em um solvente. Valores de Potencial ZETA próximos de zero indicam aglomeração e baixa estabilidade, enquanto valores altos e positivos indicam dispersão estável. **Resultados:** Nanopartículas de produzidas com o uso de 0,01M de Nitrato apresentaram melhores características com Zeta Average de 163,4 d.nm e PdI de 0,37133. **Conclusão:** Conclui-se que é possível obter a síntese verde de nanopartículas de prata, com tamanho e estabilidade, utilizando extrato de flores de Dálias.

Palavras-chave: Nanobiotecnologia, Nanosilver, Sustentavel, Ecofriendly, Nanotecnologia.



TESTAGEM DE DILUIÇÃO SERIADA PARA BIOPROSPECÇÃO DE FUNGOS EM EFLUENTES INDUSTRIAIS DO SETOR DE LATICÍNIOS

CAROLLINY SANDY MARIANO LIMA; BIANCA LIRA SARAIVA; ANTONIO DAVID ARAGÃO DE OLIVEIRA; VANESSA COSTA SOUZA; GABRIELA MACEDO ARETAKIS DE ALMEIDA

Introdução: Os resíduos industriais apresentam diferentes composições químicas e biológicas, o que dificulta o estabelecimento de uma metodologia unificada eficiente para bioprospecção. Devido a importância da bioprospecção e isolamento de fungos de interesse industrial, dado o seu potencial biotecnológico nos diferentes setores, estudos que busquem aprimorar etapas metodológicas são bastante relevantes. **Objetivo:** Este trabalho teve como objetivo estabelecer a melhor diluição para a investigação de fungos presentes em efluente proveniente da indústria de laticínios. **Metodologia:** O efluente recolhido de uma indústria de laticínios foi submetido a diluição seriada de 10^{-1} , 10^{-2} e 10^{-3} , com água salina 0,85%. Em seguida, 100ul da solução de cada um destes tratamentos, foram dispensadas em placas de petri contendo meio BDA e amoxicilina a 1% e espalhados com alça de Drigalsk. Após 7 dias de incubação em BOD a 37 °C, foram avaliadas a presença, morfologia e dispersão de colônias fúngicas, que foram isoladas para posterior identificação. **Resultados:** A diluição que apresentou maior presença, crescimento e melhor dispersão de fungos foi 10^{-2} , além de colônias mais bem delimitadas, facilitando o isolamento. O tratamento 10^{-1} , apresentou sobreposição dos fungos, dificultando a retirada dos discos, para posterior isolamento do microrganismo, além de menor número de morfotipos identificados. Já o tratamento 10^{-3} , apresentou apenas um morfotipo. Em todos os tratamentos, houve o crescimento de colônias bacterianas, mesmo com a adição de antibiótico. **Conclusão:** Os estudos metodológicos são uma parte importante da construção de trabalhos científicos. Assim, uma vez que essas metodologias são elucidadas e embasadas, o processo é facilitado diminuindo custo, tempo e materiais. Tendo em vista a importância da bioprospecção de fungos de interesse industrial, esse trabalho auxilia no estabelecimento da melhor diluição, para aplicação em efluentes da indústria do setor de laticínios.

Palavras-chave: Efluente, Métodos, Resíduos sólidos, Microbiologia, Meio de cultivo.



USO DE MICROESFERAS DE LÁTEX PARA DETECÇÃO DE LACTATO DESIDROGENASE DE PLASMODIUM VIVAX UTILIZANDO CITOMETRIA DE FLUXO

JULIANE CORRÊA GLÓRIA; ADÉLIA MARQUES DE FIGUEIREDO; YURY OLIVEIRA CHAVES; CAROLINA BIONI GARCIA TELES; LUIS ANDRÉ MORAIS MARIÚBA

Introdução: A malária é uma doença parasitária de grande relevância na saúde pública mundial. O desenvolvimento de novos métodos de diagnóstico de alto rendimento, sensíveis e específicos continua sendo um desafio para auxiliar na erradicação da doença. **Objetivos:** Neste estudo desenvolvemos um teste de citometria de fluxo baseado em microesferas, visando a detecção do antígeno lactato desidrogenase de *P. vivax* (PvLDH). Todas as análises foram realizadas com o software R versão 4.0.2 e R studio versão 1.1.4 e GraphicPad Prism Versão 9. O ponto de corte (“cut off”) foi calculado com a média dos controles negativos mais duas vezes do seu desvio padrão. O teste de Mann-Whitney foi realizado nos parâmetros de medida com $p < 0,0001$ em ambos. **Materiais e Métodos:** Para execução do imunoensaio foram utilizadas microesferas de látex e anticorpos policlonais obtidos de coelhos e camundongos contra o antígeno PvLDH. Foram processadas 50 amostras de pacientes diagnosticados com malária causada por *P. vivax* e 40 amostras de indivíduos saudáveis. **Resultados:** O ensaio apresentou sensibilidade de 64%, especificidade de 97%, valor preditivo positivo de 97% e o valor preditivo negativo de 57% quando analisado pelo método de porcentagem da marcação de fluorescência. Sob o método de análise pela média de intensidade de fluorescência (MFI), a sensibilidade foi de 53%, especificidade de 89%, valor preditivo positivo de 95% e o valor preditivo negativo de 33%. Em ambos os métodos de análise observamos diferença estatística significativa entre os grupos analisados (valor- $p < 0,0001$). Foi observada uma alta correlação (0,60) entre os dois métodos e uma baixa correlação entre a concentração de PvLDH e a densidade parasitária. **Conclusão:** O teste foi capaz de detectar a proteína PvLDH com alta especificidade, no entanto, a sensibilidade ainda deve ser otimizada. Resultados mais promissores foram observados quando analisados pela porcentagem de marcação de fluorescência. O aprimoramento do ensaio possibilitaria a sua aplicação como teste sorológico para a detecção de pacientes assintomáticos e para validação de testes de diagnóstico rápido.

Palavras-chave: Citometria de fluxo, Microesferas, Anticorpos policlonais, Diagnóstico, Malária.



USO DE NANOPARTÍCULAS CONTENDO BIOATIVOS PARA PREVENÇÃO E/OU TRATAMENTO DA NEUROINFLAMAÇÃO

CAMILLA RAYZA DOS SANTOS BARROS; JULLIA INGRID RODRIGUES MARTINS;
JULIANA VILA VERDE RIBEIRO; KARLA DE ALELUIA BATISTA

Introdução: Nos últimos anos vários estudos estão focando na utilização de nanopartículas com compostos bioativos no tratamento de doenças neurodegenerativas, visto que esses compostos bioativos são capazes de combater os efeitos deletérios da neuroinflamação e do estresse oxidativo. As nanopartículas vêm como alternativa para proteção contra degradação, melhora na biodistribuição, biodisponibilidade e redução da citotoxicidade. **Objetivos:** Este trabalho tem como objetivo realizar uma revisão bibliográfica sobre levantamento de dados e resultados de testes que utilizaram nanopartículas no combate da neuroinflamação. **Metodologia:** Foram utilizados sites de busca, como PUBMED e SCIENCE, através das palavras-chave: resumos, nanopartículas, neuroinflamação e compostos bioativos. **Resultados:** A partir da busca tivemos efeitos promissores das nanopartículas, como os resultados encontrados por Coelho, G e colaboradores (2019), em seus experimentos sobre o efeito da indometacina intercalada em nanopartícula de hidróxido duplo lamelar (HDL) em modelo de neuroinflamação subaguda induzida por lipopolissacarídeo (LPS), foi capaz de recuperar mais rapidamente os efeitos deletérios induzidos pelo LPS. Achados feitos por Nayak e colaboradores (2024) mostraram que nanopartículas com anticorpo direcionado ao receptor de transferrina (anti-TfR), foi capaz de atravessar a barreira hematoencefálica e combater os processos inflamatórios. Buscas feita por Rodrigues, W e colaboradores (2022) encontraram em suas análises morfológicas de intestino, que as nanopartículas contendo peptídeos de feijão teve uma boa absorção, e a nanopartícula conferiu proteção ao peptídeo mantendo assim a sua atividade biológica. **Conclusões:** De acordo com os estudos, observa-se que a utilização de nanopartículas no combate a neuroinflamação é eficaz, pois ela atua de forma específica e recebe poucos danos de ações proteolíticas durante o trajeto até chegar no sistema nervoso. Estes achados contribuem para os avanços da ciência e melhora da saúde pública.

Palavras-chave: Nanobiotecnologias, Nanopartículas, Bioativos, Deletérios, Neuroinflamação.



UTILIZAÇÃO DA VISÃO COMPUTACIONAL PARA DETECÇÃO DO USO DE EPI'S EM LABORATÓRIOS DE ENSINO E PESQUISA

ITALO BRUNO BARROS ARAUJO; LAURA MODESTO LINS GRIZ; JANAINA FERREIRA SANTANA; RUBISTENIA MIRANDA SOARES DE ARAUJO; EZYMAR GOMES CAYANA

Introdução: A biossegurança, emergindo da necessidade de prevenir a propagação de agentes infecciosos em laboratórios devido à falta de procedimentos adequados, tornou o uso de equipamentos de proteção individual indispensável para a segurança dos usuários. A diversidade de produtos químicos e agentes biológicos manipulados em laboratórios de ensino na área de saúde exige cuidados e gestão intensivos para garantir a segurança e integridade física dos profissionais envolvidos. A visão computacional oferece potencial para solucionar problemas ao interpretar e compreender imagens e vídeos, fundamentando-se na estatística e na inteligência artificial. **Objetivo:** Buscar artigos sobre a visão computacional na detecção do uso de EPIs em laboratórios, que visam melhorar a segurança dos frequentadores e a qualidade dos experimentos científicos, abordando conceitos e técnicas para avaliar sua eficácia na detecção de uso inadequado ou ausência de EPIs. **Materiais e Métodos:** Consistiu na busca de artigos que abordam a relevância do uso da visão computacional na detecção de EPIs em laboratórios. Foram pesquisadas publicações que se enquadram nas subdivisões propostas que incluem a identificação e classificação de EPIs, a detecção de uso incorreto ou ausência de EPIs, e o monitoramento em tempo real do seu uso. **Resultados:** A utilização da visão computacional para detectar o uso de EPIs em laboratórios mostra-se promissora, contribuindo para a segurança dos usuários ao identificar, classificar e monitorar o uso correto desses equipamentos. Essa abordagem permite a supervisão instantânea dos gestores, possibilitando ações corretivas imediatas e garantindo uma vigilância contínua. **Conclusão:** Embora a visão computacional ofereça vantagens significativas na detecção de EPIs em laboratórios, a implementação enfrenta desafios como a necessidade de uma infraestrutura adequada e equipe especializada para desenvolvimento e testes de software.

Palavras-chave: Visão computacional, Biossegurança, Epi, Laboratório, Inteligência artificial.



VIA PIK 3/ AKT E SUA AVALIAÇÃO FUNCIONAL NO CÂNCER

MARIA GABRIELA PEREIRA BEZERRA DA SILVA; LUCIANA AMARAL DE MASCENA
COSTA

Introdução: A via oncogênica fosfatidilinositol 3^oquinase (PIK3) / AKT é responsável pela regulação de diferentes processos que ocorrem na célula. **Objetivo:** Descrever a avaliação funcional da via PIK 3/ AKT no câncer. **Materiais e métodos:** Foi realizada uma pesquisa científica no site da revista científica PubMed, onde os descritores utilizados para pesquisa foram PIK 3/ AKT e câncer. Após a pesquisa foi realizada uma revisão literária sobre função do gene PIK3/ AKT no câncer. **Resultados:** Funcionando como uma das vias mais importantes, a via fosfatidilinositol 3^oquinase (PIK3) / AKT regula o processo de metabolismo, diferenciação, crescimento, sobrevivência e proliferação celular. Quando desregulada, favorece o aparecimento de tumores cancerígenos, metástase e ainda confere resistência a fármacos quimioterápicos. A via oncogênica PIK 3/ AKT possui duas isoformas, a isoforma p110 α , β e δ da subunidade catalítica (IA) e a isoforma p110 γ (IB). A isoforma IA são excitadas pelas tirosinas quinases, já a isoforma IB são excitados por receptores que se acoplam à proteína G, possuindo assim expressões e funções diferentes. Encontra-se desregulado em diversos tipos de cânceres, como por exemplo nos linfomas Hodgking e não- Hodgking, linfoma folicular, na leucemia linfocítica crônica (LLC) e em câncer do endométrio e de pulmão. A inibição farmacológica ou genética da via favorece no tratamento do câncer. **Conclusão:** Diante dos estudos realizados sobre a atividade da via oncogênica fosfatidilinositol 3^oquinase (PIK3) / AKT no câncer, conclui-se que a via pode funcionar como um biomarcador na detecção precoce do câncer, tendo em vista que sua desregulação auxilia na tumorigênese. Sendo assim, a supressão da via favorece no tratamento e na criação de novas estratégias terapêuticas.

Palavras-chave: Desregulação celular, Oncogênese, Resistência quimioterápica, Isoformas, Tirosina quinase.



ADEQUAÇÃO DE PROTOCOLO DE EXTRAÇÃO DE DNA GENÔMICO DE *DIPTERYX ALATA* VOG

THALIA DOS REIS AZEVEDO; MARIANA LAURA SOUZA DE ALMEIDA;
IZABELLY SIQUEIRA DE ALMEIDA; LUCIANA COELHO DE MOURA; PAULO
CESAR FLÔRES JÚNIOR

RESUMO

Introdução: *Dipteryx alata* Vog. é uma importante espécie nativa de ampla ocorrência ao longo do Cerrado brasileiro e elevado potencial econômico. A forte pressão das ações antrópicas sob o ecossistema em que está inserida e intensa atividade extrativista, ameaçam a diversidade da espécie. Além disso, a ausência de genótipos selecionados com características de interesse comercial, e de protocolos para a sua multiplicação são alguns dos principais obstáculos para a domesticação da espécie e o estabelecimento de cultivos comerciais. Desta forma se faz necessária a realização de pesquisas que venham de encontro com a conservação e identificação de genótipos promissores. **Objetivo:** Avaliar e adequar diferentes protocolos de extração de DNA a partir de folhas jovens e frescas de baru via seminal. **Materiais e métodos:** Tendo como base o protocolo padrão de Doyle e Doyle, foram realizadas modificações com diferentes momentos de suspensão em Thermo Shaker e testados diferentes quantidades de material genético para extração de DNA. **Resultados:** Com a utilização do Thermo Shaker não foi possível obter uma amostra homogênea para prosseguir o processo de extração. Demonstrando que o vórtex foi mais efetivo. **Conclusão:** Até o momento, o protocolo 1 apresentou resultados promissores na formação do *pellet* em quantidade satisfatória com modificação em momentos e aparelho de suspensão. O protocolo 1 produziu uma concentração média de DNA nas concentrações de 400 mg, o que é uma quantidade suficiente para a maioria das aplicações moleculares. E a utilização de material seminal, tempos e equipamentos está já adequada para estudos genéticos com essa espécie.

Palavras-chave: Baru.; Cerrado; Método CTAB;

1 INTRODUÇÃO

O bioma Cerrado é composto por um mosaico de formações vegetais que se alternam desde densas formações florestais a áreas campestres, ocupando cerca de 25% do território brasileiro (DURIGAN; RATTER, 2016). Abrigando uma grande variabilidade de espécies, das quais muitas são endêmicas, é considerado um dos *hotspots* mundiais de diversidade, e um dos ecossistemas que mais tem sofrido modificação antrópica no Brasil (FERNANDES E PESSÔA, 2018). Segundo Klink (2013), mais da metade do bioma já foi desmatado cedendo lugar para pastagem e áreas de cultivo. Muitas espécies vegetais do Cerrado possuem elevado potencial para aproveitamento econômico (ALMEIDA et al. 1998), servindo como fonte de renda para famílias regionais através de diferentes segmentos, dentre eles uso medicinal, madeireiro e alimentício (SOUSA et al., 2018). Portanto, é imprescindível a criação de estratégias que auxiliem na conservação da biodiversidade remanescente do Cerrado.

Dipteryx alata Vog., pertencente à família Fabaceae, conhecida por diversos nomes como cumbarú, baru ou cumaru, é uma espécie perenifólia a levemente caducifólia, com copas

densas e arredondadas podendo atingir mais de 25 metros de altura (MOTA, 2013). Apesar de nativo, o baru não é endêmico do Brasil, ocorrendo também em países como Paraguai, Peru e Bolívia. Ainda assim, possui uma ampla ocorrência ao longo do Cerrado brasileiro compreendendo várias regiões do país como o Centro-Oeste, Nordeste, Norte e Sudeste. O tronco é liso com casca de cor cinza-claro, as folhas são alternas, pecioladas sem estípulas, com número de folíolos variando de 7 a 12. O fruto é do tipo drupa, ovoide e levemente achatado de coloração marrom, o endocarpo lenhoso contendo uma única semente por fruto (VIEIRA et al., 2010). Sua madeira possui alta densidade, durabilidade, compacta e resistente ao ataque de fungos e cupins (SANO, 2016). A maturação de seus frutos ocorre no período da seca, entre os meses de julho a outubro, sendo bastante consumidos *in natura*, utilizados na culinária e cosméticos, servindo ainda como fonte de alimento para animais silvestres e bovinos (GARCIA, 2020). Essa espécie desempenha um importante papel socioeconômico na geração de renda de diversas famílias extrativistas devido à multiplicidade de seus usos. Embora haja um interesse crescente na domesticação e cultivo do baru, o extrativismo ainda é uma prática comum que pode gerar desafios à sustentabilidade da espécie. Consequentemente, torna-se crucial estudos acerca da diversidade genética que auxiliem na criação de estratégias e ferramentas para conservação e uso sustentável da mesma (PIRES, 2012).

O estudo da variabilidade genética através dos marcadores moleculares requer a obtenção de DNA puro e em quantidades reproduzíveis para o sequenciamento e amplificação por meio de PCR – Reação em Cadeia da Polimerase (YAMAMOTO et al., 2013). A grande presença de metabólitos secundários, polissacarídeos, fenóis e taninos na maior parte das espécies vegetais do Cerrado, compreendem a principal dificuldade na extração e purificação do DNA vegetal, uma vez que esses contaminantes interferem na atividade da enzima Taq DNA polimerase (OLIVEIRA et al., 2010).

São vários os protocolos de extração de DNA vegetal descritos na literatura. Comumente, os métodos mais tradicionais são baseados no protocolo descrito por Doyle e Doyle (1987), pelo uso do detergente CTAB (brometo de cetiltrimetilamônio), responsável pela lise da membrana celular e precipitação do material genético, trazendo adaptações para diferentes espécies. Portanto, é fundamental a aprimoração de protocolos de extração de DNA com vistas ao desenvolvimento de métodos eficazes, rápidos, econômicos e seguros em estudos envolvendo espécies vegetais do Cerrado (ZANETTI et al., 2019).

Diante do exposto, este trabalho visa testar diferentes protocolos de extração de DNA vegetal baseados no método CTAB descrito por Doyle e Doyle (1987), com adaptações do protocolo padrão utilizado e com isso buscando avaliar e melhorar a eficiência na extração do DNA vegetal de *Dipteryx alata* Vog.

2 MATERIAIS E MÉTODOS

O trabalho tem sido desenvolvido no Laboratório de Biotecnologia Florestal da Universidade Federal de Mato Grosso (UFMT), campus Cuiabá. Neste trabalho, estão sendo avaliadas três diferentes populações, para as quais objetiva-se compreender a diversidade genética e estimar parâmetros a partir de ferramentas biométricas que permitem a quantificação de caracteres morfológicos, e por meio de marcadores moleculares após extração de DNA genômico. A primeira população é constituída por um lote de sementes de 31 matrizes georreferenciadas no município de Cáceres – MT. A segunda população é formada por 8 matrizes das quais foram realizadas coletas dos frutos na área da Fazenda Experimental UFMT, localizada no município de Santo Antônio do Leverger a 35 Km de Cuiabá. Por fim, a terceira população possui 27 matrizes localizadas no campus da universidade.

Após a coleta dos frutos deu-se início ao beneficiamento para obtenção da castanha, concomitantemente, foram realizadas medições biométricas em fruto, endocarpo e semente para posteriores análises. Os frutos foram mantidos imersos em água durante 24 horas para

facilitar o despolpamento por meio de facas e canivetes até o surgimento do endocarpo duro e lenhoso. Seguida remoção da polpa, os endocarpos foram dispostos sobre a bancada garantindo assim o dessecamento e facilitando seu rompimento pelo uso de morsa mecânica. Logo, as sementes foram identificadas e acondicionadas em refrigerador.

Para obtenção de folhas jovens e frescas, foram conduzidas a germinação da população Cáceres em BOD com fotoperíodo de 12 horas. Selecionou-se 20 sementes por matriz, separadas em duas caixas gerbox. Para superação de dormência utilizou-se escarificação mecânica do lado oposto do eixo embrionário com lixa de grão 100. A desinfestação foi feita utilizando solução de hipoclorito de sódio a 3% durante 5 minutos, e o substrato empregue foi “entre” vermiculita, formando duas camadas de modo que as sementes ficassem no meio. Após 7 dias, pode-se observar sucesso parcial na germinação e ao final de duas semanas atingiu sua completude.

Sequencialmente, preparou-se as seguintes soluções necessárias para extração de DNA baseadas no protocolo padrão CTAB descrito por Ferreira e Gratapaglia (1995): CTAB 2x, CIA (24:1), EDTA 0,5 M pH 8,0 e TRIS HCl 1 M pH 8,0.

Para obtenção de quantidade satisfatória de *pellet*, testou-se três diferentes quantidades de material genético: 200 mg, 300 mg e 400mg, dos quais foram realizadas 9 repetições para cada matriz.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A literatura descreve vários protocolos de extração de DNA para tecido fresco e também com tecido armazenado. Primeiramente, foram realizados protocolos que utilizam tecidos frescos para o processo de extração de DNA genômico. Na primeira etapa da pesquisa, seguiu-se o protocolo padrão descrito por Doyle e Doyle (1987). É importante ressaltar que não foi efetivo na primeira avaliação laboratorial devido à formação apenas de duas fases líquidas, sendo assim, sem a formação do *pellet* de DNA. Após essa primeira avaliação, foi necessário testar cada tempo do processo de extração de DNA de *D. alata* para verificar a especificidade que a técnica deve ter para esta espécie.

Figura 1: Formação de duas fases líquidas, sem *pellet* de DNA.



Fonte: Autoral.

Primeiramente, avaliou-se as quantidades de DNA necessárias para melhor otimização

de utilização do DNA. Utilizou-se três quantidades diferentes de material fresco a fim de encontrarmos, já na primeira fase do protocolo, a quantidade ideal.

Outro aspecto importante no procedimento de extração foi a fase de homogeneização da amostra com agitação. Utilizou-se os agitadores vórtex e Thermo Shaker. Os microtubos foram suspensos em Thermo Shaker sob três diferentes tempos: 5', 10' e 1 hora com velocidade de 14000 rpm. Em vórtex, os microtubos foram suspensos durante 5' conforme protocolo descrito por Ferreira e Gratapaglia (1995). Com a utilização do Thermo Shaker não foi possível obter uma amostra homogênea para prosseguirmos o processo de extração. Demonstrando que o vórtex foi mais efetivo.

Foi possível a visualização de DNA em todas as quantidades de material genético testados no protocolo 1. Porém, as amostras com 200 e 300 mg não apresentaram uma mínima quantidade de DNA para ser reproduzível quando comparada à de 400 mg.

Através da utilização de uma amostra de 400 mg de tecido vegetal fresco e com utilização de vórtex foi possível obter amostra de DNA formada em um *pellet* depositada ao fundo do microtubo.

Figura 2: Formação do *pellet* de DNA genômico de *D. alata* Vog. ao fundo do microtubo.



Fonte: Autor.

A pesquisa para adequação de protocolo encontra-se ainda em andamento e demonstra resultados satisfatórios para essa proposição inicial. Os próximos passos serão avaliar amostras de material vegetal congelado por 60 dias e adaptações em relação as concentrações dos componentes do protocolo para material seminal e material de indivíduos adultos.

4 CONCLUSÃO

O nosso protocolo produziu uma concentração média de DNA nas concentrações de 400 mg, o que é uma quantidade suficiente para a maioria das aplicações moleculares. E a utilização de material seminal, tempos e equipamentos está já adequada para estudos genéticos com essa espécie.

AGRADECIMENTOS

Agradecimentos ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPQ), pelo apoio financeiro ao Projeto 421539/2023-2.

REFERÊNCIAS

ALMEIDA, S. P.; PROENÇA, C. E. B.; SANO, S. M.; RIBEIRO, J. F. **Cerrado: espécies vegetais úteis**. 1. ed. Planaltina: EMBRAPA-CPAC, 1998. 464 p. ISBN 85-86764-02-7.

DURIGAN, G.; A. RATTER, J. The need for a consistent fire policy for Cerrado conservation. **Journal of Applied Ecology**, [s. l.], v. 53, n. 1, p. 11-15, 2016.

FERNANDES, P. A.; PESSÔA, V. L. S. O cerrado e suas atividades impactantes: uma leitura sobre o garimpo, a mineração e a agricultura mecanizada. **Observorium: Revista Eletrônica de Geografia**, [S. l.], v. 3, n. 7, 2018.

GARCIA, DCF; CUNHA, JUGF; BRANDÃO, M.M.; JÚNIOR, A. B. C. Análise da Diversidade Genética do Baru utilizando Marcadores Moleculares ISSR. **Revista Brasileira de Desenvolvimento**, [S. l.], v. 6, n. 7, p. 48949–48960, 2020.

KLINK, C.A. Policy intervention in the Cerrado savannas of Brazil: changes in landuse and effects on conservation. In: CONSORTE-MCCREA, A.G.; SANTOS, E.F. (Eds.). **Ecology and conservation of the maned wolf: multidisciplinary perspectives**. Boca Raton: CRC Press Taylor & Francis Group, p. 293-308, 2013.

MOTA, E. E. S. **Caracterização fenotípica e variação genética quantitativa em *Dipteryx alata* vog. (barueiro) do Cerrado**. 2013. 84 p. Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento de Plantas.) - Curso de Agronomia, Universidade Federal De Goiás, Goiânia, 2013.

OLIVEIRA, L. V. R. *et al.* Genetic Analysis of Species in the Genus *Catasetum* (Orchidaceae) using RAPD Markers. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, Curitiba – PR, v.53, n. 2, p.375 – 387, mar. 2010.

PIRES, M. V. V. **Diversidade genética de coleções de trabalho de fruteiras nativas do cerrado com base em características morfológicas e análises do DNA**. 2012. 70 p. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Universidade de Brasília, Brasília, 2012.

SANO, S. M.; BRITO, A. M.; RIBEIRO, J. F. Alimentícias: *Dipteryx alata* - Baru. Plantas para o Futuro: Região Centro-Oeste. In: VIEIRA, F. R.; CAMILLO, J.; CORADIN, L. **Espécies Nativas da Flora Brasileira de Valor Econômico Atual ou Potencial**. Brasília – DF, (MMA), 2016. cap. 5, p. 203-215.

SOUSA, F. F. *et al.* Exigências Nutricionais de Mudas de *Dipteryx alata* sob Limitação Nutricional. **Ciência Florestal**, Santa Maria, v. 28, n. 1, p. 102-114, jan. 2018. ISSN: 1980-5098.

VIEIRA, R. F.; AGOSTINI-COSTA, T. S.; SILVA, D. B.; SANO, S. M.; FERREIRA, F. R. (Ed.). **Frutas nativas da região Centro-Oeste do Brasil**. 1. ed. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2010. cap. 5, 76-99 p. ISBN: 978-85-7383-482-6.

YAMAMOTO, E. L. M.; *et al.* Otimização de Protocolo para Extração de DNA em Umbu-Cajazeira. *In: CONGRESSO NACIONAL DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS, 2., 2013, Recife. Resumo expandido* [...]. Recife: Nupeea Livraria e Editora, 2013.

ZANETTI, G.T. *et al.* Protocolo para Extração de DNA Genômico de *Ochroma pyramidale*. *Journal of Agronomic Sciences*, Umuarama, v. 8, n. 1, p. 73-84, 2019. ISSN: 2316-1809.



A IMPORTÂNCIA DO SISTEMA-TESTE BIOENSAIO *ALLIUM CEPHA* COMO FERRAMENTA PARA AVALIAÇÃO DA SEGURABILIDADE DO USO DE PLANTAS MEDICINAIS DA AMAZÔNIA

RAFAEL ASSUNÇÃO PEREIRA

RESUMO

INTRODUÇÃO: O uso de plantas medicinais é frequentemente difundido no Brasil devido às suas capacidades terapêuticas. Sua utilização como chás por infusão é muito utilizada no tratamento de diversas doenças como câncer, analgésicos, tratamento de feridas ou até como calmante. A Amazônia brasileira conta com uma grande biodiversidade de fauna e flora, no qual as populações locais que detêm desse conhecimento acabam por consumir esses chás regularmente, seja pela falta de condições da obtenção de medicamentos farmacológicos, seja pela transmissão de geração em geração desses saberes tradicionais. No entanto, nota-se que há um desconhecimento acerca do potencial toxicológico dessas plantas e ao se ingerir o seu chá pode-se gerar reações adversas dentro do organismo humano. Assim, essas plantas possuem em suas composições substâncias químicas que podem gerar respostas negativas no corpo humano. O sistema-teste bioensaio *Allium Cepa* se mostra uma ferramenta eficaz nas análises da toxicologia de diferentes plantas medicinais. **OBJETIVO:** identificar a importância das pesquisas que utilizam esse sistema-teste para avaliação do potencial genotóxicos das plantas da Amazônia brasileira. **METODOLOGIA:** A metodologia se realizou a partir de uma revisão bibliográfica nos anos de 2000 a 2024. A pesquisa foi realizada nos seguintes bancos de dados: Revista Brasileira de Plantas Medicinais, Pesquisa, Sociedade e Desenvolvimento, Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences, Biblioteca Virtual em Saúde: BVS (BIREME) - Portal Regional e Revista Brasileira de Desenvolvimento. Utilizou-se as plataformas da SciELO, Portal de periódicos da Capes e Google Acadêmico. Aplicando as palavras-chave: Plantas medicinais, bioensaio, *Allium Cepa*, genotoxicidade e Amazônia nas bases de dados da SciELO, Google Acadêmico e Portal de Periódicos da Capes. **RESULTADOS:** Evidenciou-se que o bioensaio *A. Cepa* é considerado muito promissor quando comparado a outros sistemas-testes devido a sua eficácia, seu curto período de análise e baixo custo de recursos. Além disso, verificou-se a necessidade de se analisar cada vez mais as plantas existentes dessa região para inibir as enfermidades do uso inadequado ao serem consumidas. **CONCLUSÃO:** Esse sistema teste se mostra eficaz no diagnóstico inicial da mutagenicidade das propriedades existentes nas plantas, mas que necessita abranger toda a biodiversidade da Amazônia e do mundo.

Palavras-chave: Genotoxicidade-Segurança-Amazônia-*Allium cepa*-Avaliação

1 INTRODUÇÃO

Historicamente a antiguidade humana passou a utilizar alimentos e produtos de origem vegetal como ervas para consumo próprio, na qual transmitiu-se esses conhecimentos populares de geração em geração que são presentes até a contemporaneidade (Silva, Silva, Pires, 2020). A constatação da eficácia do uso dessas plantas e vegetais levaram as populações tradicionais construir um rico acervo de conhecimento populares acerca dos

benefícios advindos de seu uso, originando o que conhecemos de medicina tradicional, no qual há um alto índice de praticantes e disseminadores dessas informações. Ao corroborar com isso, a Organização Mundial da Saúde (OMS) afirmou que 80% da população utiliza essas plantas para fins terapêuticos como tratamentos primários como em casos de cefaleia, ferimentos e resfriados (Carmo e colaboradores, 2022).

A Amazônia brasileira é uma região de grande intensidade de ecossistemas do planeta, proporcionando a existência de uma imensa biodiversidade, na qual abriga umas das floras com a maior diversidade de plantas com propriedades terapêuticas, embora haja também espécies que ainda são desconhecidas quanto ao seu potencial medicinal e princípios ativos Vasconcelos e colaboradores (2009).

Souza e colaboradores (2008) ainda destacam que para além de costumes tradicionais esse elevado uso de plantas medicinais foram e são muito utilizados atualmente devido a alguns fatores, entre eles: o alto custo de medicamento farmacêuticos, o acesso precário das famílias de regiões afastadas à hospitais e medicamentos, além da própria sabedoria sobre os efeitos benéficos do uso dessas plantas.

Dessa forma, é necessário levar em consideração algumas das principais plantas utilizados na Amazônia como tratamentos terapêuticos que são vistos como seguro pela população. Carmo e colaboradores (2022) realizaram um levantamento em uma área da Amazônia na qual as pessoas utilizam as plantas medicinais entre algumas delas encontra-se: *Dysphania ambrosioides* (L.) conhecido como o mastruz e trata a pneumonia e a tuberculose, *Aloe vera* (L.) usadas para queimaduras e queda de cabelo, *Gymnanthemum amygdalinum* conhecido como boldo, seu chá é responsável pelo tratamento do fígado e dor de cabeça, a *Boehmeria caudata* Sw, é usado para artrite e anti-inflamatório. O efeito dessas plantas, até então, é benéfico para a população que utiliza delas como alternativas para o tratamento para diversas doenças e sintomas.

Nesse sentido, as espécies vegetais dentro da Amazônia brasileira estão cada vez mais sendo estudadas por pesquisadores da área, mas as informações sobre as espécies que apresentam um potencial toxicológico ainda não são muito difundidas entre a população local Vasconcelos e colaboradores (2009).

Campos e colaboradores (2016) destacam que há uma percepção enraizada acerca do conhecimento em relação ao uso dessas plantas serem seguros, eficazes e natural utilizadas muitas vezes em associação a doenças crônicas, mas podem ocorrer intoxicações com espécies vegetais provocando de alergias simples a graves acidentes.

Dessa forma, a genética toxicológica visa realizar estudos que objetivam avaliar, detectar e compreender os efeitos dessas toxinas, denominadas genotoxinas nos organismos vivos, principalmente ao considerar o ácido nucleico DNA (Silva e Silva, 2023).

Bagatini, Silva e Tedesco (2007) enfatizam que os seres vivos intensamente estão ingeridos substâncias tóxicas e mutagênicas provenientes de plantas que são capazes gerar danos ao DNA das células, esses danos advêm de componentes químicos, físicos ou biológicos que influenciam em processos vitais importantes no corpo humano como a transcrição e replicação do material genético, e ao causar danos e lesões nesse material genético esse processo é denominado como genotóxico.

Santos e colaboradores (2014) indicam o Sistema Teste *Allium Cepa* (teste de cebola) como uma ferramenta muito eficaz para análise do potencial genotóxico e citotóxico de plantas medicinais através do contato com as células meristemáticas da raiz da cebola.

Esses métodos citogenéticos de avaliação são bem aceitos nessas análises de citotoxicidade devido a sua eficácia, uma vez que as raízes de cebolas ficam em contato direto com a substância testada, assim a presença de mutagênicos na composição de alguma planta podem evidenciar alterações nos núcleos eucarióticos advindos de compostos químicos, ambientais ou radioativos. Como resultado desse agente mutagênico no núcleo das células,

alguns parâmetros servem de avaliação para serem analisados entre eles: a inibição do ciclo celular, interrupção em metáfases, indução de alterações cromossômicas numéricas e estruturais e trocas de cromátides irmãs (Bagatini e colaboradores, 2007).

O objetivo desse estudo, portanto, é analisar a importância das pesquisas que utilizam o sistema-teste *A. cepa* como ferramenta de análise do potencial citogenotóxicos nas plantas medicinais da Amazônia brasileira.

2 MATERIAIS E MÉTODOS

O tipo de pesquisa utilizada nesse trabalho é uma revisão bibliográfica do tipo exploratória que para Malhotra (2001), a pesquisa exploratória “é um tipo de pesquisa que tem como principal objetivo o fornecimento de critérios sobre a situação-problema enfrentada pelo pesquisador e sua compreensão”. A natureza da pesquisa é qualitativa e teve como coleta de dados uma revisão da literatura entre os períodos de 2000 a 2024. A pesquisa foi realizada nos seguintes bancos de dados: Revista Brasileira de Plantas Medicinais, Pesquisa, Sociedade e Desenvolvimento, Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences, Biblioteca Virtual em Saúde: BVS (BIREME) - Portal Regional e Revista Brasileira de Desenvolvimento. Utilizou-se as plataformas da SciELO, Portal de periódicos da Capes e Google Acadêmico, ao se destacar, para este estudo, a escolha de artigos científicos e monografias. Aplicando as palavras-chave: Plantas medicinais, bioensaio, *Allium Cepa*, genotoxicidade.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

No Brasil há um alto consumo as plantas e vegetais pela população nativa, seja por conhecimentos passados culturalmente ou até mesmo pelas baixas condições de pagar por medicamentos que são receitados por médicos.

A avaliação toxicológica de substâncias como já abordado neste trabalho analisa as propriedades químicas das plantas em relação aos seus aspectos físicos e biológicas dos organismos humanos, assim, para a utilização dessas plantas de forma segura, é necessário estudos genocitotóxicos como o bioensaio *Allium cepa*, que analisa os efeitos dessas toxinas no material genético do grupo em estudo, neste estudo, a raiz meristemáticas da cebola com as diversas plantas medicinais com efeitos químicos e biológicos.

Quanto à questão da eficácia dos efeitos comparativos das plantas e sua relação com organismos humanos, Bagatini e colaboradores (2007) apresentam alguns trabalhos que comprovam a efetividade do sistema teste *A. Cepa*. A comparação das raízes das cebolas com as das células de ratos teve efeitos similares, os efeitos dos extratos de *Psidium guajava* L. (Goibeira), foram avaliados em três sistemas testes: *Allium cepa*, linfócitos humanos, e medula óssea de ratos em todos houve os mesmos resultados, evidenciando que os três sistemas-testes são eficazes quanto a avaliação da toxicidade, indicando também a não segurabilidade de seu uso dessa planta.

É importante reafirmar que a região da Amazônia brasileira detém de uma biodiversidade extremamente abundante de forma que a sua flora, de acordo com o Instituto, Sociedade, População e Comunidade (ISPC), conta com a existência de mais de 30 mil espécies de plantas, e muita delas tem o seu potencial toxicológico desconhecido pela maioria de seus usuários.

Nesse sentido, destacou-se neste estudo alguns testes quanto à análise de mutagenicidade dessas plantas consumidas pelo seu efeito. A romã *Punica granatum* pelo tratamento de câncer foi submetida ao teste e como resultado não apresentaram efeitos genotóxicos (Kuhn e colaboradores 2015). A *Aloe vera* muito utilizada como tratamento de feridas, trato gastrointestinal, e dores em geral também não apresentou mutágenos na concentração de 40ml/L e 400 ml/L trituradas com água mineral (Sturbelle e colaboradores, 2010).

A citotoxicidade do barbatimão verdadeiro (*Stryphnodendron adstringens* (Mart) Coville) foi estudada por Silva e colaboradores (2021) a planta medicinal faz parte dos fitoterápicos pelo Sistema Unificado de Saúde SUS e foi submetida ao bioensaio com diferentes concentrações e todas apresentaram citotoxicidades a partir das verificações de telófases com cromossomos isolados indicando o seu uso como sendo não seguro.

A erva cidreira *Lippia alba* é uma planta que possui grandes propriedades terapêuticas já comprovadas cientificamente e seu chá é utilizado como calmante, dor de cabeça e pressão alta. No entanto a planta medicinal apresenta antioxidantes que mesmo com testes farmacológicos ainda pode ocorrer efeitos adversos no organismo humano. Quando submetidas ao bioensaio com as concentrações de 280mg/ml, C2: 70mg/ml e C3: 17,5mg/ml a planta não apresentou alterações mitóticas e nucleares. (Santos, 2022).

A grande maioria da população brasileira usa as plantas medicinais para fins terapêuticos, de modo que o Brasil abriga a maior biodiversidade do mundo, e ao considerar a Amazônia como sendo o maior bioma do mundo, nota-se que estudos toxicológicos de toda essa flora ainda são insuficientes, sendo evidenciados, neste trabalho, pelas pesquisas feitas no banco de dados que não apresentam muitas informações quando os bioensaios estão associados às palavras Amazônia e plantas medicinais sobre a sua toxicologia.

Como destaca Lessa e colaboradores (2017) O sistema teste *A. cepa* possibilita um primeiro screening para avaliar o grau de citogenotoxicidade de plantas medicinais, haja vista o seu grau de eficácia em um curto período de tempo, contribuindo para pesquisas iniciais dessas toxicidades, essas pesquisas também são importantes para a disseminação de informações para a comunidade, visando atenuar as enfermidades acometidas pela ingestão da população ao acreditar que essas espécies de plantas e vegetais são seguras.

Os bioensaios utilizando o teste *A. Cepa* são ferramentas eficazes para análises do potencial genotóxicos de plantas, pois utilizam materiais de baixo custo, curta duração e uma reprodutividade com outros sistemas, ao considerar que os vegetais possuem um metabolismo celular semelhante às células dos mamíferos, o qual irá servir de análise para o potencial genotóxico de diferentes propriedades químicas que compõe as espécies das plantas medicinais.

4 CONCLUSÃO

Este trabalho, inicialmente, objetivou analisar a importância do bioensaio *Allium cepa* para análises do potencial genotóxico de plantas medicinais da Amazônia. Nota-se que esse sistema-teste pode contribuir para diversas análises da flora brasileira amazônica, responsável por grande parte da biodiversidade. As populações de saberes tradicionais usufruem do potencial terapêutico das plantas medicinais para o tratamento dos mais diversos tipos de doenças e sintomas, muitas das vezes sem o seu devido conhecimento, adotando como estilo de vida o fato de tudo que vem da natureza sempre será seguro. No entanto, a partir das pesquisas feitas com o bioensaio constatou-se a mutagenicidade e genotoxicidade, ou seja, alterações do material genético (DNA) quando essas diferentes plantas entram em contato com a sua composição química. É necessário, por fim, mais pesquisas com toda a diversidade de plantas medicinais da Amazônia e do mundo para evitar acidentes e proporcionar uma maior segurança no uso dessas vegetações.

REFERÊNCIAS

CAMPOS, S. C. et al. Toxicidade de espécies vegetais. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 18, n. 1, p. 373–382, 2016.

CARMO, AD do.; ROSÁRIO, KDS do.; MARQUES, WPG.; SANTOS-FONSECA, DJ dos.;

MENDES, JCR. Plantas medicinais utilizadas pelas comunidades do Distrito de Carapajó, Cametá-PA, Amazonas, Brasil. **Pesquisa, Sociedade e Desenvolvimento**, [S. l.], v. 17, pág. e87111737453, 2022. DOI: 10.33448/rsd-v11i17.37453. Disponível em: <https://rsdjournal.org/index.php/rsd/article/view/37453>. Acesso em: 1 mar. 2024.

DA SILVA, B. C. G.; DA SILVA, A. P. R.; KARSBURG, I. V.; DE CASTRO, J. C.; BARROS, G. da S.; LUCCA, C. Z. A citotoxicidade do barbatimão (*Stryphnodendron adstringens* (Mart) Coville)) com o uso dos sistemas *Allium cepa* e *Pisum sativum* / The cytotoxicity of barbatimão *Stryphnodendron adstringens* (Mart) Coville)) with the use of the systems *Allium cepa* and *Pisum sativum*. **Brazilian Journal of Development**, [S. l.], v. 7, n. 3, p. 31230–31241, 2021. DOI: 10.34117/bjdv7n3-716. Disponível em: <https://ojs.brazilianjournals.com.br/ojs/index.php/BRJD/article/view/27141>. Acesso em: 3 mar. 2024.

DOS SANTOS, Patrícia Nunes et al. Análise do potencial citotóxico, genotóxico e mutagênico do extrato hidroalcolico das folhas da *Morus nigra* L. Através do bioensaio *Allium cepa*. **Research, Society and Development**, v. 9, n. 4, p. e132942968–e132942968, 2020.

KUHN, Andrielle Wouters et al. Chromatographic analysis and antiproliferative potential of aqueous extracts of *Punica granatum* fruit peels using the *Allium cepa* test. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 51, p. 241-248, 2015.

LESSA, Luciana Rodrigues; SILVA, M. C. C.; CARIELLO, F. D. M. R. Fundamentos e aplicações do *Allium cepa* como bioindicador de mutagenicidade e citotoxicidade de plantas medicinais. **Revista Intertox De Toxicologia, Risco Ambiental E Sociedade**, v. 10, n. 3, 2017.

MALHOTRA, Naresh K. **Pesquisa de marketing: uma orientação aplicada**. 3 .ed.Porto Alegre: Bookman, 2001.

SANTOS, Milena Araújo. Avaliação do efeito Citotóxico e Genotóxico do chá da Erva Cidreira (*Lippia Alba*): uma comparação no uso de diferentes partes da planta. 2022.

SILVA, Dacilene Cruz da; SILVA, Maria Zulmira Barbosa da. Avaliação da Citotoxicidade e Mutagenicidade de *Annona glabra* utilizando o Sistema Teste *Allium Cepa*. 2023.

SOUZA, Cordeiro; LOBATO, Samara Lutyelle Xavier; DE OLIVEIRA MENEZES, Rubens Alex. Conhecimento tradicional de plantas medicinais na comunidade ribeirinha do Igarapé Banha no Município de Mazagão-Amapá, Amazônia brasileira. **Estação Científica (UNIFAP)**, v. 9, n. 1, p. 51-62, 2019.

STURBELLE, Régis T. et al. Avaliação da atividade mutagênica e antimutagênica da *Aloe vera* em teste de *Allium cepa* e teste de micronúcleo em linfócitos humanos binucleados. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 20, p. 409-415, 2010.

VASCONCELOS, J. et al. Plantas tóxicas: conhecer para prevenir. **Revista Científica da UFPA**, 2009.



ATIVIDADE ANTILEISHMANIA DO ÉTER *N*-BUTIL DILAPIOL DE *PIPER ADUNCUM* L. (PIPERACEAE)

MIRLEN LIMA DE ALMEIDA; ANGELA MARIA COMAPA BARROS; EMERSON SILVA LIMA; ANA CRISTINA DA SILVA PINTO; ANTONIA MARIA RAMOS FRANCO

RESUMO

Introdução: a Leishmaniose é um problema de saúde pública e exemplo de doença negligenciada. Os medicamentos utilizados atualmente apresentam graves efeitos tóxicos. **Objetivo:** estudar a atividade antileishmania e citotóxica do éter *n*-butil dilapiol (EBD) obtido por semissíntese. **Materiais e métodos:** o EBD foi obtido por semissíntese. Para o experimento foi utilizada a espécie de *L. amazonensis*, nas formas promastigotas, numa concentração de 10^6 parasitos. mL⁻¹, expostos a concentrações de 0,2812 a 18 µM do EBD, por 24, 48 e 72 h. As células mononucleares do sangue periférico (CMSP) humano foram obtidas de indivíduos saudáveis, isoladas e cultivadas em meio RPMI suplementado a 20% de SFBi a 37 °C a 5% CO₂, ajustada em câmara de Neubauer para 10^6 céls. mL⁻¹ e expostas ao EBD em concentrações de 7,8 a 500 µM por 48 h. Os controles positivos foram a Pentacarinat[®] e Glucantime[®] e o negativo, o DMSO a 0,2%. Quanto a taxa de infecção, utilizou-se uma concentração de 36 µM das substâncias já citadas. **Resultados:** O EBD apresentou uma concentração citotóxica 50% (CC50) de 350 µM, a Pentacarinat[®] de 188,2 µM. Já o Glucantime[®] e o Dilapiol não foi possível obter a CC50. A cerca da inibição da *L. amazonensis*, o EBD inibiu os parasitas viáveis, numa concentração inibitória 50% (CI50) de 3,0; 3,2 e 3,0 µM e a Pentacarinat[®] com uma CI50 de 3,4; 3,0 e 2,9 respectivamente, conforme o tempo. Em relação a eficácia do EBD nas formas intracelulares por 24 h, o EBD mostrou uma atividade similar aos farmacoterapia padrão, apresentando um P<0,0001, quando comparado com DMSO 0,2%. Já em 48 h, o EBD inibiu os amastigotas em 65.5%, similar ao Glucantime[®] (61%). **Conclusão:** o EBD mostrou atividade contra as formas promastigotas e amastigotas de *L. amazonensis*. Mas, há a necessidade de investigar em testes *in vivo*, no intuito de desenvolver uma formulação para farmacoterapia da LTA.

Palavras-chave: Semissíntese; Biotecnologia; *Leishmania*.

1 INTRODUÇÃO

A Leishmaniose é um problema de saúde pública e considerada negligenciada, devida a falta de interesse por parte do governo e a indústria farmacêutica em investir em novas farmacoterapias (BRASIL, 2017). Causada por diferentes espécies de protozoários do gênero *Leishmania*, pertencente à família Trypanosomatidae, que acomete pele e mucosas (OMS, 2013).

A Leishmaniose Tegumentar Americana (LTA) está distribuída em 88 países, que abrange os cinco continentes (Américas, Europa, África, Ásia e Oceania) (Alvar, *et al.*, 2012). Segundo a OPAS/OMS (2017), foram notificados 843.931mil novos casos de *Leishmania*

cutânea nas Américas, no período de 2001 a 2015, distribuídos em 17 dos 18 países endêmicos. No Brasil, a incidência da LTA apresenta um registro anualmente de 0,7 a 1,3 milhão de casos (OMS, 2017), e sua ocorrência está praticamente em todos os estados da federação (BRASIL, 2017). Apesar dos esforços e investimentos aplicados na pesquisa para o desenvolvimento de novas farmacoterapia para as leishmanioses nos últimos anos, ainda está restrito a poucas opções, além de apresentar elevada toxicidade (OMS, 2013).

Uma das alternativas de obtenção de bioativos, seria por meio das plantas, pois elas já eram utilizadas para fins medicinais pelos povos mais antigos para a cura de várias doenças (Lopes et al. 2018). Atualmente têm-se investido em moléculas provenientes de plantas, já que delas pode-se obter uma diversidade de bioativos metabólicos secundários. Pode-se citar diversos exemplos, como: *Piper strigosum* e *P. pseudoarboreum* considerados fontes potenciais de compostos leishmanicidas (Vasquez-Ocmín et al. 2021), assim como, *Piper aduncum*, rico em dilapiol, um fenilpropanóide com propriedades anti-helmíntica, inseticida e antimicrobiana (Menezes, 2018). Ademais, estudo de Parise-Filho et al. (2012) demonstraram que o dilapiol e dois de seus derivados (di-hidro dilapiol e isodilapiol) apresentaram atividade antileishmania em promastigotas das espécies *Leishmania (L.) amazonensis* e *Leishmania (V.) brasiliensis*. Já no estudo de Barros (2018) demonstrou a atividade antileishmania de um novo derivado do dilapiol (EBD) contra à *L. (L.) amazonensis*.

Sendo assim, o presente estudo teve como objetivo avaliar a atividade citotóxica em células mononucleadas do sangue periférico (CMSP) humano e a atividade antileishmania do éter *n*-butil dilapiol, obtido a partir do dilapiol extraído de *P. aduncum* L. com perspectivas de desenvolver uma formulação para ser aplicada em uma farmacoterapia para leishmaniose tegumentar *in vivo*.

2 MATERIAIS E MÉTODOS

Informações Éticas

O presente estudo teve colaborador o projeto de doutorado, cujo título “Estudo Experimental *in vitro* com células mononucleares do sangue periférico (CMSP) de pacientes portadores de Leishmaniose cutânea antes e após tratamentos alternativos” do Laboratório de Leishmaniose e doença de Chagas, foi submetido e aprovado pelo comitê de ética humano (CEP/UFAM) CAAE: Nº 29406319.2.0000.5020.

Obtenção do derivado (EBD)

A obtenção da semissíntese do EBD foi realizada com a colaboração da Dra. Ana Cristina da Silva Pinto. O EBD foi obtido utilizando duas reações, sendo que, a primeira, em um balão volumétrico foi adicionado o dilapiol, juntamente com THF, Hg (ACO)₂ e *n*-butanol em banho de gelo por 72 h, sendo monitorado por CCD até o reconhecimento da estrutura da molécula. Após a confirmação se iniciou a segunda reação, que através de filtração com os reagentes NaBH₄ e KOH, obteve o derivado EBD, seguiu conforme protocolo de Barros (2018).

Citotoxicidade em células mononucleares do sangue periférico (CMSP)

Para o ensaio com CMSP foi coletado 10 mL sangue periférico de voluntários sadios, utilizando tubo contendo EDTA, logo foi diluído em um tubo cônico (50 mL) com PBS 1X (1:1) onde foi homogeneizado e, seguiu o protocolo adaptado de Junior (2013). Após 24 horas, as células foram tratadas com o EBD em triplicata nas concentrações de 7,8 a 500 µM por 48 horas. No bioensaio usou-se como controles positivos (Pentacarinat[®] e Glucantime[®]) e como controle negativo (DMSO a 0,2%). A citotoxicidade seguiu o protocolo com alterações de Nakayama et al. (1997).

Obtenção e manutenção de promastigotas de *Leishmania*

Foi utilizada a espécie de *Leishmania (L.) amazonensis* (MHOM/BR/2009/IM 5584) e mantidas criopreservadas no Laboratório de Leishmaniose e Doença de Chagas, INPA. Foram cultivadas em meio RPMI 1640, suplementado com 10% de soro fetal bovino inativado (SFBi), em estufa à 25 °C.

Determinação da atividade antileishmania da concentração inibitória 50% (CI50) do EBD nas formas promastigotas

A atividade antileishmania do EBD foi avaliada pela inibição do crescimento e mortalidade das formas promastigotas de *L. amazonensis* nos períodos de 24, 48 e 72 h a 25 °C. Os parasitos foram centrifugados a 4.400 rpm/15 minutos, diluídos e ajustados em câmara de Neubauer para a concentração de 10^6 parasitos mL⁻¹. Os controles positivos do teste foram (Pentacarinat[®] e Glucantime[®]) e como controle negativo (DMSO a 0,2%), seguiu com modificações a partir do protocolo de Nakayama et al. (1997).

Determinação da taxa de infecção em CMSP infectadas com *L. (L.) amazonensis*

Após a coleta do sangue de voluntários sadios, as CMSP foram isoladas e mantidas sobre lamínulas de vidro estéril posicionadas dentro das placas de 24 poços, incubadas em estufa com 5% de CO₂ a 37 °C, por 24 h. Posteriormente, as células foram infectadas as formas promastigotas, e após 2 horas foram lavadas. Em seguida, ocorreu os tratamentos com o EBD, Pentacarinat[®], Glucantime[®] e o Dilapiol, na concentração de 36 µM, por 24 e 48 h em replicata, seguiu o protocolo de Macedo (2015). Ao final do bioensaio, as lamínulas foram retiradas e coradas por kit panóptico, e analisadas em microscópio ótico (1000x).

Determinação do índice de seletividade em CMSP

Com o objetivo de determinar a seletividade das concentrações com atividade antileishmania, usou-se o índice de seletividade (IS) delas, expresso pela seguinte fórmula = CC50 em células (citotoxicidade)/CI50 contra *Leishmania*.

Análise Estatística

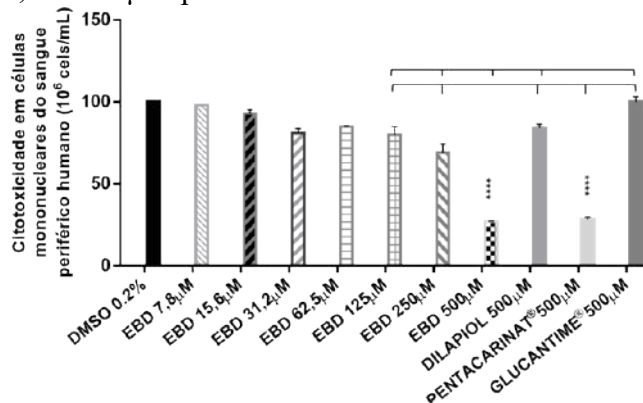
Os dados obtidos das análises *in vitro* foram inseridos em um banco de dados previamente elaborado no programa GraphPad Prism 6.0, e em seguida, analisados estatisticamente através dos testes de Análise de Variância (ANOVA) e Tukey, utilizou limite de 95% de confiança.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Avaliação da atividade citotóxica do Éter *n*-butil dilapiol (EBD) em CMSP

A partir dos testes de citotoxicidade em CMSP, o EBD mostrou uma CC50 de $350 \pm 0,4$ µM, enquanto, que a Pentacarinat[®] de $188,2 \pm 1,8$ µM, demonstrando que o EBD apresentou um perfil menos tóxico do que a Pentacarinat[®] por 48 h, corroborando com estudo de Barros (2018) que mostrou em macrófagos peritoneais exposto ao EBD um perfil tóxico seguro. Ambas as substâncias apresentaram um P<0,0001 de toxicidade maior do que as demais substâncias testadas no estudo, conforme a figura abaixo.

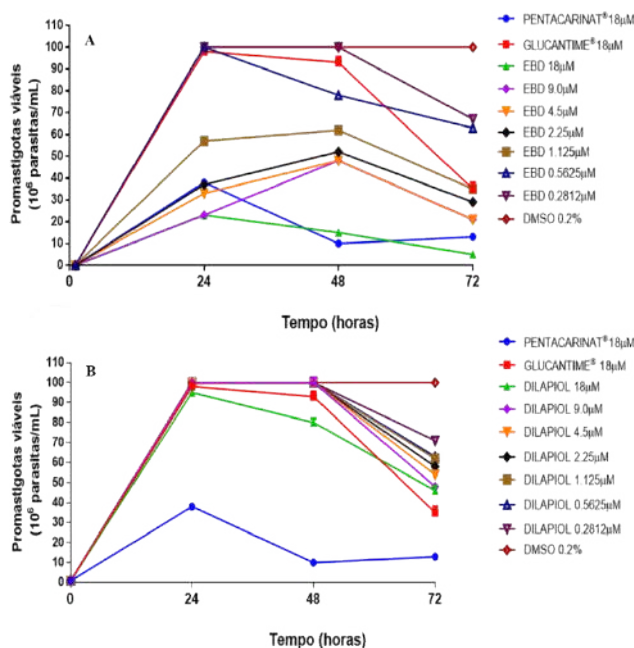
Figura 1. Efeito das substâncias: Pentacarinat[®], Glucantime[®], EBD e o Dilapiol, utilizados nas concentrações de 7,8 a 500 µM por 48 horas.



Avaliação da atividade inibitória do EBD contra as formas promastigotas de *Leishmania (L.) amazonensis*

Os resultados obtidos do EBD contra *L. (L.) amazonensis*, nas diferentes concentrações (0,2812 a 18 µM) demonstrou uma redução na concentração dos parasitas viáveis às formas promastigotas, apresentou uma concentração inibitória de 50% (CI50) de 3,0; 3,2 e 3,0 µM, a Pentacarinat[®] de 3,4; 3,0 e 2,9 µM por 24, 48 e 72 h respectivamente, quando comparados com o DMSO a 0.2%, conforme figura 2. Resultados similares vistos no estudo de Farah et al. (2010) demonstraram atividade antileishmania através do derivado isodilapiol, utilizando uma concentração de 50 µg/mL em promastigotas de *L. chagasi*, por 72 h, inibindo 96% dos parasitas viáveis. No estudo de Barros (2018) demonstrou atividade contra promastigotas e amastigotas de *L. amazonensis* com uma CI50 de 1,6 µM do éter *n*-butil dilapiol por 72 h.

Figura 2. Avaliação da atividade do EBD (A) contra as formas de promastigotas de *Leishmania (L.) amazonensis* – quantificação das formas viáveis dos parasitos por 24, 48 e 72 h, além da Pentacarinat[®], Glucantime[®] e Dilapiol (B). Os resultados foram obtidos através da análise por ANOVA (two-way) e Bonferroni's com 95% de confiança através do programa GraphPad prism 6[®].



Determinação do Índice de Seletividade (IS)

Os resultados estão dispostos na Tabela 1. Observou-se que o IS do EBD foi de 109,4 μM , e da Pentacarinat[®] de 62,7 μM , determinando que o EBD nesse tempo apresentou menos tóxico do que a Pentacarinat[®]. Em relação ao Dilapiol e Glucantime[®] não foi possível obter o IS, devido a não obtenção da CI50 as formas promastigotas e a CC50 em macrófagos. No estudo de Barros (2018) mostrou um IS 76.5, demonstrando que a substância EBD teve mais afinidade tóxica para a *L. amazonensis* do que para os macrófagos peritoneais por 48 h. Com isso, justifica nossos achados. Já que para um protótipo ser considerado promissor a virar um fármaco, tem que apresentar um IS igual ou maior que 10 (Chiaradia *et al.*, 2007).

Tabela 1. Valores de CI50 em promastigotas de *Leishmania (L.) amazonensis* e CC50 em

	CI ₅₀ (μM)	CC ₅₀ (μM)	IS
	<i>L. amazonensis</i>	<i>L. amazonensis</i>	<i>L. amazonensis</i>
	IM 5584	CMSP	IM 5584
	48h	48h	48h
Dilapiol	ND	ND	ND
EBD	3.2 \pm 1	350.0 \pm 0.4	109.4
Glucantime [®]	ND	ND	ND
Pentacarinat [®]	3.0 \pm 3	188,2 \pm 1.8	62.7

CMSP e seus respectivos Índices de Seletividade (IS) por 48 horas.

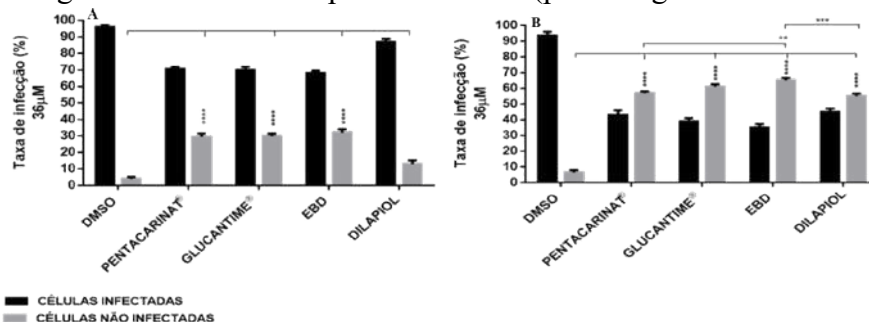
CI50 = Concentração inibitória 50%

CC50 = Concentração citotóxica para 50% ND = Não determinado

Determinação da taxa de infecção em CMSP infectados com *Leishmania (L.) amazonensis*

A figura 3 mostra a eficácia das substâncias (EBD, Pentacarinat[®], Glucantime[®] e dilapiol) na concentração de 36 μM , quando em contato com as CMSP infectadas com *L. amazonensis* em relação ao tempo. Em 24 h (gráfico A), o EBD mostrou uma atividade similar aos medicamentos padrão, apresentou um $P < 0,0001$, quando comparado com DMSO 0,2%. Já em 48 h (gráfico B), o EBD inibiu as formas intracelular em 65,5% em relação a Pentacarinat[®] e teve um resultado similar ao Glucantime[®] (61%). Estudo de Barros (2018) mostrou que o éter *n*-butil dilapiol inibiu as formas amastigotas em torno de 88% numa concentração de 4.5 μM , em macrófagos peritoneais por 48 h. Resultados semelhantes ao do nosso estudo, indicando que o EBD é promissor para atividade antileishmania.

Figura 3. Avaliação da taxa de infecção do EBD, Dilapiol, Pentacarinat[®], Glucantime[®] (36 μM) contra as formas amastigotas de *Leishmania (L.) amazonensis* por 24 e 48 h. Os resultados foram obtidos através da análise por ANOVA (two-way) e Bonferroni's com 95% de confiança, através do programa GraphPad prisma6[®]. As percentagens foram calculadas pelas percentagens das médias comparado a % CN (percentagem do controle negativo).



4 CONCLUSÃO

Por meio dos testes realizados *in vitro* com o éter *n*-butil dilapiol, observou-se que o análogo mostra um perfil não tóxico em CMSP. Além de mostrar atividade antileishmania similar aos medicamentos padrão, para as formas promastigotas e amastigotas de *L. amazonensis*, mostrando ser uma molécula promissora, mas requer mais estudos, no *in vivo* para saber o seu comportamento em uma formulação para tratar a Leishmaniose tegumentar.

REFERÊNCIAS

ALVAR, J.; VE´LEZ, I. D.; BERN, C.; HERRERO, M.; DESJEUX, P. Leishmaniasis Worldwide and Global Estimates of Its Incidence. **PLoS ONE**, v. 7, n. 5, e35671, 2012.

BARROS, A. M. C. 2018. **Atividade antileishmania de um derivado do dilapiol obtido a partir de *Piper aduncum* L. (Piperaceae)**. Dissertação de Mestrado, Universidade Federal do Amazonas, Manaus, Amazonas. 106p. 2018.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Secretaria de Vigilância em Saúde**. 2017. Manual de vigilância da leishmaniose tegumentar. 2ad ed. Brasil. 191p.

CHIARADIA, L. D.; DOS SANTOS, R.; VITOR, C. E.; VIEIRA, A. A.; LEAL, P. C.; NUNES, R. J.; CALIXTO, J. B.; YUNES, R. A. Synthesis and Pharmacological Activity of Chalcones Derived from 2,4,6-trimethoxyacetophenone in RAW 264.7 Cells Stimulated by LPS: Quantitative Structure-activity Relationships. **Bio. Med. Chem.**: v. 16, p. 658-667, 2007.

FARAH, D; PARISE-FILHO, R.; MAGRI, F.; BONARDO, V.;1, P FIORINO, P.; V FARAH, V.; M FONTELES, M.; DELORENZI, J. Anti-promastigote activity of dillapiole and isodillapiole against *Leishmania chagasi*. **Planta Med.**, v. 76, p. 480. 2010.

JUNIOR, I. A. S. 2013. **Avaliação da metaciclologênese *in vitro* de *Leishmania (V.) braziliensis* e *Leishmania (L.) amazonensis***. Originalmente apresentado como dissertação de mestrado, Universidade Federal de Goiás, 2013.

LOPES, C. M. C.; LAZZARINI, J. R.; SOARES JÚNIOR, J. M.; BARACAT, E. C. Phytotherapy: yesterday, today, and Forever. **Revista da Associação Médica Brasileira**, v. 64, p. 765-768, 2018. MACEDO, M. N. 2015. **Avaliação do papel de monócitos/macrófagos na leishmaniose disseminada causada por *L. braziliensis***. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal da Bahia, Salvador, Bahia. 168 pp.2015.

MENEZES, G. N de. 2018. Desenvolvimento e avaliação de sistemas emulsionados contendo óleo essencial de *Piper aduncum* em relação à penetração cutânea de dilapiol. Dissertação de Mestrado, Universidade Federal de Brasília, Brasília. 90p. 2018.

NAKAYAMA, G, R.; CATON, M.C.; NOVA, M. P.; PARANDOSSH, Z. Assessment of the Alamar Blue assay for cellular growth and viability *in vitro*. **Journal of Immunological Methods**, v. 204, p. 205-208, 1997.

OMS 2013. Control of the leishmaniasis: report of a meeting of the WHO Expert Committee on the Control of Leishmaniases, Geneva, 22-26 March 2013. World Health Organization. OMS 2017. Control of the leishmaniasis: report of a meeting of the WHO Expert Committee

on the Control of Leishmaniase. Organización Panamericana de La Salud. Leishmaniasis en las Américas: recomendaciones para el tratamiento. Washington, D.C.: OPS, 2017.

PARISE-FILHO, R.; PASQUALOTO, K. F. M.; MAGRI, F. M. M; FERREIRA, A. K.; SILVA, B. A. V. G DA.; DAMIÃO, M. C. F. C. B. et al. Dillapiole as antileishmanial agent: discovery, cytotoxic activity and preliminary SAR studies of dillapiole analogues. **Archiv der Pharmazie**, v. 345, p. 934- 944, 2012.

TOMAR, S. S.; MAHESHWARI M. L.; MUKERJEE, S. K. syntheses and synergistic activity of some pyrethrum synergists from dillapiole. **Agricultural and Biological Chemistry**, v. 43, p.1479-1483, 1979. VASQUEZ-OCMÍN, P.G.; GADEA, A.; COJEAN, S., MARTI, G.; POMEL, S.; VAN BAELEN, A. C.; RUIZ-VASQUEZ, L.; MESI, A. W. R.; DE FIGADÈRE, B.; MESIA, L. R.; MACIUK, A. Metabolomic approach of the antiprotozoal activity of medicinal Piper species used in Peruvian Amazon. **J Ethnopharmacol**, v. 264, p. 2021.



ATUANDO NA TEMÁTICA DE UMA AGRICULTURA SUSTENTÁVEL: DESVENDANDO OS IMPACTOS DA HETEROSE SOBRE A FOTOSÍNTESE EM GENÓTIPOS DE MILHO-PIPOCA INOCULADOS COM BACTÉRIAS PROMOTORAS DO CRESCIMENTO *BACILLUS SP.* EM CONDIÇÕES DE ESTRESSE HÍDRICO

MONIQUE DE SOUZA SANTOS; UÉLITON ALVES DE OLIVEIRA; TALLES DE OLIVEIRA SANTOS; VALTER JÁRIO DE LIMA; ANTÔNIO TEIXEIRA DO AMARAL JÚNIOR

Introdução: O milho-pipoca possui elevada sensibilidade às restrições hídricas causada pela seca, com diversos impactos sobre sua produtividade. Nesse contexto, a exploração da heterose e a interação simbiótica com *Bacillus sp.* é necessária para melhorar características secundárias de elevado interesse agrônomico. **Objetivos:** Analisar a resposta fotossintética e heterótica de genótipos de milho-pipoca em interação com a rizobactéria *Bacillus sp.* sob duas condições hídricas. **Metodologia:** A avaliação ocorreu em casa de vegetação com duas condições hídricas (CH): i) déficit hídrico, impondo-o 24 dias após emergência até atingir 50% da capacidade de campo (CC); e ii) irrigação normal, mantendo 100% da CC. Foram avaliadas duas linhagens (L61 e L76) e seu híbrido (WS01). O delineamento experimental foi blocos completos casualizados em fatorial triplo (CH déficit hídrico e irrigação normal), genótipos (L61, L76 e WS01) e inoculação (com e sem bactéria), com três repetições. Substratos em tubos de PVC eram 70% basaplant e 30% perlita. Aplicou-se 1 mL do inóculo com a bactéria LMS 71 em sementes de WSI e WWI, enquanto WSC e WWC receberam 1 mL de meio branco. Avaliaram-se com o IRGA a fotossíntese (A), condutância estomática (gs), concentração interna de CO₂ (Ci), relação Ci/Ca e taxa de transpiração (E). **Resultados:** Heterose e heterobeliose, respectivamente das características: A: WSC (19,37 e 30,29), WSI (32,55 e 39,97), WWC (36,23 e 42,93), WWI (7,78 e 9,01); gs: WSC (44,16 e 79,17), WSI (91,77 e 123,73), WWC (1,20 e 27,27), WWI (-25,59 e -11,30); Ci: WSC (69,22 e 93,48), WSI (87,22 e 114,60), WWC (-19,98 e -7,76), WWI (-37,11 e -33,63); Ci/Ca: WSC (66,99 e 74,37), WSI (91,77 e 120,91), WWC (-26,18 e -24,66), WWI (-30,92 e -27,46); E: WSC (14,87 e 33,74), WSI (27,66 e 41,73), WWC (-8,06 e 7,90), WWI (-4,83 e 7,54). Para todas as características e tratamentos a heterobeliose apresentou-se mais elevada, evidenciando o efeito de sobredominância. **Conclusão:** Este estudo reforça ser promissora, em condições de déficit hídrico, a associação entre genótipos de milho-pipoca e a inoculação com a rizobactéria *Bacillus sp.*, além de demonstrar ser mais viável explorar a heterobeliose em programas de melhoramento.

Palavras-chave: Seca, Déficit hídrico, Zea mays var. everta, Heterose, Rizobactérias.



AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DE RAMNOLIPÍDIO CONTRA CUTIBACTERIUM ACNES (PROPIONIBACTERIUM ACNES)

LUCAS PRADO LEITE; JONAS CONTIERO

RESUMO

O debate e a preocupação ambiental aceleraram a necessidade de desenvolver produtos que substituam os derivados da indústria petroquímica, a fim de diminuir a poluição e a contaminação ambiental. Dentro do mercado de cosméticos, ainda se utiliza de matéria prima derivada do petróleo para confecção de produtos de higiene. Contudo, tais produtos têm causado reações alérgicas aos consumidores e, produtos destinados à saúde da pele não se mostram tão eficientes como antigamente. Nesse cenário, o ramnolipídio, um biossurfactante produzido pela bactéria *Pseudomonas aeruginosa*, pode ser utilizado tanto para formulações de cosméticos em geral, quanto para cuidados com a pele. Esse composto apresenta biodegradabilidade, biocompatibilidade e atividade antimicrobiana contra algumas espécies, tornando-o um interessante substituto aos surfactantes químicos. Dessa forma, essa pesquisa visou analisar a atividade antimicrobiana do ramnolipídio contra a bactéria *Cutibacterium acnes*, causadora da acne. A concentração inibitória mínima do biossurfactante foi determinada a partir de ensaios *in vitro*, assim como os efeitos do mesmo na membrana celular da bactéria através de teste de hidrofobicidade com hexadecano. A concentração inibitória e bactericida mínima foi determinada sendo 100 mg/L e 400 mg/L, respectivamente, e apresentando alterações significativas na hidrofobicidade celular e na permeabilidade da membrana. Por fim, o estudo demonstra que, apesar da boa atividade antimicrobiana e seus efeitos, mais análises devem ser feitas para averiguar todos seus efeitos na célula bacteriana e sugere-se que sejam feitas teste com outros compostos visando um sinergismo que potencialize seus efeitos e diminua a concentração de composto necessária para obter os efeitos antimicrobianos do composto.

Palavras-chave: Biossurfactante; Ramnolipídio; Acne; Cutibacterium acnes; Antimicrobiano

1 INTRODUÇÃO

A pele humana é o maior órgão do corpo e apresenta uma microbiota complexa que a habita provendo sua homeostase e funcionamento. Suas principais funções são atuar como uma barreira contra bactérias e evitar a perda de fluídos, assim como a entrada de toxinas. Contudo, a pele nem sempre é capaz de evitar a presença de patógenos, resultando na manifestação de algumas doenças, como a acne. (ADU et al., 2020). A acne é uma doença de pele causada pela bactéria *Cutibacterium acnes*, que age como um patógeno oportunista, inflamando e acumulando sebo em diversas regiões do corpo, principalmente aquelas que possuem muitas glândulas sebáceas (MOHIUDDIN, 2019). Manifestando-se principalmente entre adolescentes, a acne deixa cicatrizes na pele que podem durar a vida toda afetando tanto a saúde da pele, quanto a autoestima dos pacientes com graus severos da doença. Observou-se, em 2013 em média, uma procura anual de 3,5 milhões de pessoas em busca de tratamento para esse problema (DAWNSON; DELLAVALLE, 2013). Os ramnolipídios(glicolipídios) são biossurfactantes, que apresentam cadeia de ácido graxo na região apolar e açúcar na

região polar. São utilizados na indústria cosmética para formulação de soluções como cremes, shampoos e desodorantes devido a sua capacidade de misturar fases, reduzir tensão superficial, apresentar atividade antimicrobiana e bactericida e ainda possuírem compatibilidade com a pele, evitando reações alérgicas (MOLDES, et al., 2020). O ramnolipídio é produzido principalmente pela bactéria *Pseudomonas aeruginosa*, e já consta na literatura sua atividade antimicrobiana contra bactérias Gram-positivas. Supõe-se que essa propriedade está atrelada a sua natureza anfipática, capaz de ligar-se à camada lipídica da membrana celular alterando sua fluidez e permeabilidade ou, até mesmo, danificando sua estrutura causando dano celular (ELSHIKH et al., 2017). Nesse contexto, esse projeto visa avaliar a propriedade antimicrobiana do biosurfactante ramnolipídios contra *Cutibacterium acnes*. Objetivos: Estudar a atividade antimicrobiana do ramnolipídio contra a bactéria *Cutibacterium acnes*.

2 MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 Cultivo de *Cutibacterium acnes*

2.1.1 Reativação da Bactéria Liofilizada

A cepa de *Cutibacterium acnes* foi reativada em meio líquido RCM e armazenada em jarra de anaerobiose a 37°C por 72 horas.

2.1.2 Meio de Cultura

A bactéria *Cutibacterium acnes* foi inoculada em placa de Petri contendo meio sólido RCM, cuja formulação consiste em (g/L): extrato de carne- 10, extrato de levedura- 3,0, tripton- 10, glicose- 10, cloreto de sódio 5,0, cisteína (cloridrato)- 0,50, amido solúvel 1,0, acetato de sódio 3,0, ágar bacteriológico- 0,5. O pH foi ajustado para 7,1 a 25°C. As placas foram armazenadas em jarras de anaerobiose a 37°C por 7 dias (BORREL, et al. 2019).

2.1.3 Avaliação da suscetibilidade da bactéria ao Ramnolipídio

Foram realizados testes para determinar a concentração inibitória mínima (CIM) do ramnolipídio frente a cultura de bactéria Gram-positiva *Cutibacterium acnes*. Para as amostras em que foram encontradas a CIM, também foi medida a concentração bactericida mínima (CBM). Primeiramente foram preparadas 8 placas com meio RCM com adição de ramnolipídio nas concentrações: 5,10,20,30,40,50,100,250,500 µg/mL, além de uma placa controle (sem adição de biosurfactante). Em seguida, uma alíquota de 10 µL da cultura de bactéria reativada foi transferida para as placas, as quais foram armazenadas em jarras de anaerobiose a 37°C por 72 horas. Passado o tempo de armazenamento, foi realizada uma avaliação visual para constatar se houve crescimento. Foram realizados testes para determinação da CBM nas placas que apresentaram inibição de crescimento microbiano. A CBM foi determinada como a menor concentração utilizada em que não houve crescimento bacteriano.

2.2 Avaliação do Impacto do Ramnolipídio na Membrana Celular

O microrganismo foi cultivado em tubos de vidro contendo meio líquido RCM a 37°C até atingir a densidade óptica (D.O) de 0,5 a 600 nm. A suspensão foi então tratada com RL na CBM por 1 hora, 150 rpm a 37°C. Um tubo foi mantido sem adição do tensoativo para ser usado como controle. Os testes foram realizados em triplicata. (CERESA et al., 2021).

2.3 Teste de Hidrofobicidade Celular

Para avaliação da aderência celular ao hexadecano as células bacterianas foram

centrifugadas (4000 rpm por 15 minutos), lavadas e ressuspensas em uma solução tampão PUM (pH 7.1, cuja composição consiste em (g/L): K₂HPO₄ 3H₂O 22,2; KH₂PO₄ 7,2; uréia 1,8; MgSO₄ 7H₂O 0,2. Houve transferência de 4 mL da suspensão para tubos contendo 1 mL de hexadecano. Os tubos foram agitados por 2 minutos em vórtex. Após a agitação, quando as fases foram separadas, coletou-se a fase aquosa, para mensuração da D.O a 550nm. (ROSENBERG et al, 1980; ALLEGRONE et al., 2021). A hidrofobicidade celular foi determinada de acordo com a Equação 1, segundo Ceresa et al. (2021):

$$1 - \frac{D.O \text{ fase aquosa}}{D.O. \text{ Suspensão celular inicial}} \times 100$$

2.4 Teste de Permeabilidade da Membrana Celular

A permeabilidade da membrana foi avaliada através da penetração de cristais violetas. As células foram centrifugadas a 4000 rpm por 15 minutos e ressuspensas em solução PBS (Phosphate Buffer Saline) contendo cristal violeta a 10 µg/mL para obtenção da absorvância em espectrofotômetro. Depois foram incubadas a 37°C, 150 rpm por 20 minutos. Após esse tempo, as células serão coletadas por centrifugação 4000 rpm por 15 minutos e sua absorvância foi medida a 590nm. (CERESA et al., 2021). A permeabilidade da membrana foi calculada de acordo com a equação:

$$\% \text{cristal violeta} = D.O. \frac{\text{Amostra final}}{\text{Solução de cristal violeta}} \times 100$$

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Determinação da concentração inibitória mínima (CIM) e concentração bactericida mínima (CBM)

A concentração inibitória mínima determinada foi 100 µg/mL, concentração esta que apresentou uma redução de 50% no crescimento da colônia, já concentrações inferiores a esta 18 não apresentaram efeito significativo. A concentração bactericida mínima foi de 400 µg/mL, onde cessou completamente o aparecimento de colônias comparado com o padrão. Com o resultado obtido e, baseando-se na literatura, especula-se que tanto a redução do número de colônias quanto a inibição completa aconteçam em função da propriedade anfipática dos ramnolipídios. A presença de uma porção polar e outra apolar torna capaz de se ligar à membrana celular das bactérias e causando alteração da fluidez da membrana, prejudicando sua seletividade de componente, ou causando uma lesão na membrana celular, levando a morte da bactéria. A elucidação das ações do ramnolipídio sobre a membrana celular foram analisadas nos testes posteriores à determinação da CIM e CBM.

3.2 Teste de Hidrofobicidade Celular

Após determinar a CIM e CBM, foram analisados os efeitos das mesmas sobre a bactéria. O teste de hidrofobicidade permitiu analisar o quanto o ramnolipídio reduziu a hidrofobicidade da membrana celular na concentração bactericida mínima, através da interação da célula com o hexadecano, um componente hidrofóbico. A densidade ótica da suspensão celular inicial foi, para ambos, grupo controle e grupo tratado com ramnolipídio 400 mg/L, com uma absorvância de 0,3. Com a adição da fase aquosa, a densidade ótica foi novamente medida, resultando em uma absorvância de 0,007 e 0,109 para grupo controle e com ramnolipídio, respectivamente. Foi constatada uma aderência ao hexadecano de 98% no grupo controle, enquanto no grupo tratado com ramnolipídio 400 mg/L, a aderência foi de 63%. Com esse resultado, é notável uma grande alteração nas propriedades na membrana celular após a adição de ramnolipídio na CBM. A redução na aderência ao hexadecano mostra que a capacidade hidrofóbica da membrana celular foi afetada. Esse efeito acarreta alterações

bioquímicas que comprometem a bactéria e seu funcionamento comum, podendo-se explicar tanto a redução de colônias formadas e eventualmente, com o aumento da concentração de ramnolipídio presente, a morte total da bactéria.

3.3 Teste de Permeabilidade da Membrana Celular

Utilizando a CBM, determinada previamente, foi avaliado se houve aumento na permeabilidade da membrana, após o tratamento com ramnolipídio 400 mg/L. O teste foi realizado em triplicata, com um grupo controle e um na presença do ramnolipídio. O grupo controle apresentou pequenas variações na D.O, tendo com D.O inicial, os seguintes resultados: 0,713; 0,784 e 1,0. Passado o tempo de interação com o cristal violeta, foi 20 novamente medido e os resultados foram: 0,14; 0,147 e 0,2. O grupo ramnolipídio apresentou uma D.O inicial de: 0,780; 0,813 e 1,20. e a D.O final de: 0,304; 0,324 e 0,493. Dessa maneira, foi calculada a permeabilidade da membrana de ambos os grupos, mostrando um aumento de 18% de permeabilidade no grupo controle para 40% no grupo com ramnolipídio 400 mg/L. Esse resultado, mostra outra grande alteração nas propriedades funcionais da célula, podendo responder a causa da inibição do crescimento da mesma, por aumentar a permeabilidade da membrana e impedir que suas funções de barreira seletiva funcionem normalmente, prejudicando completamente suas funções metabólicas ao permitir a entrada de diversos compostos que não compõe seu metabolismo natural.

4 CONCLUSÃO

Ao final, através de testagens por placa de Petri, a CIM e CBM da bactéria *Cutibacterium acnes* foram determinadas sendo, 100 mg/L e 400 mg/L, respectivamente. A presença de ramnolipídio mostrou não funcionar como um princípio ativo que diminui e cessa o crescimento da bactéria, mas como um composto que altera as propriedades hidrofóbicas e de permeabilidade da membrana, de forma considerável, através de interações moleculares do ramnolipídio com a membrana celular bacteriana, que levam a ineficiência do funcionamento pleno da célula, impedindo o microrganismo de se sustentar e desenvolver. A partir disso, a expectativa é de usar o ramnolipídio não como um composto principal para atividade antimicrobiana, mas em adjunto com outros fármacos, auxiliando na eficiência e diminuindo as quantidades necessárias para um uso eficiente contra bactérias.

REFERÊNCIAS

ABIHPEC. Vendas de HPPC Crescem em 4,7% em 2020 e totalizam R\$ 122, 4 Bilhões. Abihipec.org.br. 27 maio 2021.

ADU, S. A., NAUGHTON, P. J., MARCHANT, R., & BANAT, I. M. Microbial biosurfactants in cosmetic and personal skincare pharmaceutical formulations. *Pharmaceutics*, 12(11), 1099, 2020.

AK, M. A. comprehensive review of acne vulgaris. *J. Clin. Pharm*, 1(1), 17-45, 2019.

ALLEGRONE, G., CERESA, C., RINALDI, M., & FRACCHIA, L. Diverse Effects of Natural and Synthetic Surfactants on the Inhibition of *Staphylococcus aureus* Biofilm. *Pharmaceutics*, 13(8), 1172, 2021.

BNDES (**Banco Nacional de Desenvolvimento Econômico e Social**) 2011, https://www.bndes.gov.br/arquivos/chamada_publica_FEPprospec0311_Quimicos_Rela_t4_ten_soativos.pdf. Acesso em: 20/04/2022

BORREL, V., THOMAS, P., CATOVIC, C., RACINE, P. J., KONTO-GHIORGHI, Y., LEFEUVRE, L., ... & FEUILLOLEY, M. G. Acne and stress: impact of catecholamines on *Cutibacterium acnes*. **Frontiers in medicine**, 155, 2019.

CERESA, C., RINALDI, M., TESSAROLO, F., MANIGLIO, D., FEDELI, E., TAMBONE, E. & Fracchia, L. Inhibitory effects of lipopeptides and glycolipids on *C. albicans*–*Staphylococcus* spp. Dual-Species Biofilms. **Frontiers in microbiology**, 11, 3516, 2021.

DAWSON, A.L., & DELLAVALLE, R. P. Acne vulgaris. **Bmj**, 346, 2013.

DRÉNO, B., PÉCASTAINGS, S., CORVEC, S., VERALDI, S., KHAMMARI, A., & ROQUES, C. *Cutibacterium acnes* (*Propionibacterium acnes*) and acne vulgaris: a brief look at the latest updates. **Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology**, 32, 5-14, 2018.

ELSHIKH, M., MOYA-RAMÍREZ, I., MOENS, H., ROELANTS, S. L. K. W., SOETAERT, W., MARCHANT, R., & BANAT, I. M. Rhamnolipids and lactonic sophorolipids: natural antimicrobial surfactants for oral hygiene. **Journal of applied microbiology**, 123(5), 1111-1123, 2017.

GASPERI, Elaine neves de. Cosmetologia I. **UNIASSELVI**. 2015

HABA, E., PINAZO, A., JAUREGUI, O., ESPUNY, M. J., INFANTE, M. R., & MANRESA, A. Physicochemical characterization and antimicrobial properties of rhamnolipids produced by *Pseudomonas aeruginosa* 47T2 NCBI 40044. **Biotechnology and bioengineering**, 81(3), 316-322, 2003.

MARKETS AND MARKETS. Biosurfactants market by type (glycolipids (sophorolipids, rhamnolipids), lipopeptides, phospholipids, polymeric biosurfactants), application (detergents, personal care, agricultural chemicals, food processing), and region—**Global forecast to 2022**, 2017.

MOLDES, A., VECINO, X., RODRÍGUEZ-LÓPEZ, L., RINCÓN-FONTÁN, M., & CRUZ, J. M. Biosurfactants: The use of biomolecules in cosmetics and detergents. In *New and Future Developments in Microbial Biotechnology and Bioengineering* (pp. 163-185). **Elsevier**, 2020.

MÜLLER, M. M. et al. *Pseudomonas aeruginosa* PAO1 as a model for rhamnolipid production in bioreactor systems. **Applied Microbiology And Biotechnology**, [s.l.], v. 87, n. 1, p. 167-174, 9 mar. 2010. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s00253-010-2513-7>.

NITSCHKE, M., & PASTORE, G. M. Biosurfactantes: propriedades e aplicações. **Química nova**, 25(5), 772-776, 2002.

PLATSIDAKI, E., & DESSINIOTI, C. Recent advances in understanding *Propionibacterium acnes* (*Cutibacterium acnes*) in acne. **F1000Research**, 7, 2018. Renata Pachione. Cosméticos-Consumo de itens de alto valor irá aumentar. 2021. Disponível em: <https://www.quimica.com.br/cosmeticos-consumo-de-itens-de-alto-valor-aumentara/>. Acesso em 21 de agosto. 2021.

ROSENBERG, M., GUTNICK, D., & ROSENBERG, E. Adherence of bacteria to hydrocarbons: a simple method for measuring cell-surface hydrophobicity. *FEMS microbiology letters*, 9(1), 29-33, 1980. ROY, A. Review on the biosurfactants: properties, types and its applications. **J. Fundam. Renew. Energy Appl**, 8, 1-14, 2017.

SINGH, P., PATIL, Y., & RALE, V. Biosurfactant production: emerging trends and promising strategies. **Journal of applied microbiology**, 126(1), 2-13, 2019.

YOSHIMURA, I; SALAZAR-BRYAN, A; M; Faria, A; LEITE, L;LOVAGLIO, R and CONTIERO,J. Guava Seed Oil: Potential Waste for the Rhamnolipids Production. **Fermentation** 2022, 8, 379. <https://doi.org/10.3390/fermentation8080379>



BIOPROCESSOS: PROCESSOS FERMENTATIVOS PARA PRODUÇÃO DE ENZIMAS E IMOBILIZAÇÃO PARA APLICAÇÃO INDUSTRIAL

LETÍCIA OLIVEIRA SANTANA; JESSICA FERREIRA DE ALMEIDA; RAYNNE OLIVEIRA ALVES; NAYÁRA BEZERRA CARVALHO; ALEX FERNANDO DE ALMEIDA

RESUMO

É crescente a busca de alternativas sustentáveis no meio industrial alinhados aos critérios estabelecidos pela química verde. Diante disso, na tecnologia enzimática emerge destaca-se os microrganismos para a produção de enzimas por meio de processos fermentativos, enfatizando os avanços tecnológicos e as estratégias de otimização desse método. Além disso, a importância da imobilização de enzimas como uma abordagem promissora para aumentar a estabilidade térmica e química, possibilidade de reutilização dessas biomoléculas, facilidade de separação, controle de velocidade da reação, melhoria da seletividade, aplicação em reatores contínuos e compatibilidade em diferentes meios reacionais, promovendo então processos de catálise seguros, seletivos e sustentáveis, culminando em resultados industriais notáveis. Neste contexto, o presente trabalho objetivou realizar uma revisão bibliográfica abrangente sobre a aplicação de enzimas como biocatalisadores, abordando os microrganismos na produção de enzimas por fermentação, a imobilização de enzimas por diferentes técnicas e a aplicação industrial de enzimas imobilizadas. O estudo qualitativo buscou meios de fundamentação teórica nas renomadas revistas acadêmicas científicas disponíveis on-line a partir do ano de 2018, realizando a coleta, análise, interpretação, comparação, síntese e apresentação dos dados encontrados nas fontes consultadas. Conclui-se, com uma análise crítica dos avanços recentes, a importância de oferecer insights constantes sobre futuras tendências na área, destacando perspectivas promissoras para a evolução tecnológica e aplicações inovadoras no campo da biotecnologia enzimática.

Palavras-chave: biotecnologia; biocatálise; fermentação; indústria de alimentos.

1 INTRODUÇÃO

Durante muito tempo, a fermentação foi simplificada definida; no entanto, à medida que o entendimento dessa prática evoluiu, tornou-se evidente que o processo fermentativo não se limita apenas a um mecanismo anaeróbio de produção. Em vez disso, revelou-se como a utilização estratégica de microrganismos capazes de se reproduzir a partir de fontes de nutrientes específicas, resultando na produção de substratos, incluindo a notável produção de enzimas. Os bioprocessos fermentativos, por sua vez, representam a ação intrínseca de microrganismos, destacando-se bactérias, leveduras, fungos e outros agentes, na conversão de substratos ou bioprodutos. Essa abordagem tem se destacado como uma técnica amplamente empregada na fabricação de uma variedade de produtos, englobando desde produtos químicos até alimentos e medicamentos (MARTIN e LINDNER, 2022).

As enzimas são responsáveis pela vida celular, sendo o pilar dos processos fermentativos, tendo algumas origens, como animal, vegetal e microbiano. Usualmente,

para obter uma produção de larga escala em um curto período de tempo, as de origem microbiana são as mais utilizadas, já que possuem um alto crescimento e apresentam vantagens aos vegetais e animais, como custos baixos de produção. Ademais, o processo enzimático mais utilizado da história da sociedade humana é a fermentação (SILVA, et al, 2020). A imobilização de enzimas surgiu como alternativa à utilização de enzimas na forma livre, está em constante evolução aplicada à indústria de alimentos e se faz necessário o desenvolvimento gradual para a utilização de enzimas em novos processos com novas metodologias a fim de uma melhor compreensão das técnicas atuais (SANTIAGO *et. al.*, 2021).

O emprego de enzimas na indústria alimentícia vai além, proporcionando melhorias na qualidade, textura, sabor, cor e otimização de tempo, resultando em processos de fabricação mais rápidos e alimentos de maior durabilidade. Além disso, a característica de reutilização dessas moléculas permite que permaneçam intactas após a reação, catalisando múltiplos reagentes antes de sua degradação, resultando em economia de reagentes, tempo e energia - aspectos cruciais na eficiência industrial (RODRÍGUEZ *et al.*, 2021).

Neste contexto, o trabalho tem como objetivo compactar, transmitir e comparar informações acerca do tema produção e imobilização de enzimas para a indústria de alimentos, identificando as especialidades atuais ao comparar informações de diferentes fontes da literatura.

2 MATERIAIS E MÉTODOS

O presente estudo é uma revisão da literatura, realizada no período de novembro à dezembro de 2023, englobando estudos que abordam enzimas, processos fermentativos, imobilização de enzimas, e aplicação na indústria de alimentos, que foram publicados entre 2018 e 2023. Para tanto, trabalhos acadêmicos e científicos pesquisados estão divulgados nas bases de dados SciELO, Scopus, Science Direct, Redalyc, Periódico Capes e Google Acadêmico. Foram aplicados os indexadores em português e inglês (microrganismos; bactérias; leveduras; fungos; enzima; enzimas; produção de enzima, fermentação; produção de enzimas por fermentação; imobilização de enzimas; adsorção física; ligação covalente; encapsulamento; aplicação industrial de enzimas; biocatalisadores imobilizados; produção de biocatalisadores). Após a identificação do material que continha os descritores acima relacionados, seguindo um método rigoroso de busca e seleção de pesquisas, prosseguiu-se para avaliação da relevância e validade das pesquisas encontradas, coleta, síntese e interpretação dos dados oriundos dos trabalhos, a fim de se tecer algumas considerações acerca do objeto de estudo desta pesquisa.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Das referências que abordavam o tema em questão, 56 foram analisadas, das quais, 33 foram excluídas através das leituras seletiva e analítica por não se adequarem ao objetivo do presente estudo. Dos 23 artigos selecionados (1 publicado em 2018, 2 em 2019, 2 em 2020, 7 em 2021, 5 em 2022 e 6 em 2023) foi realizada a apresentação abaixo como resultados, os que tem sido divulgado na literatura referente ao subtema da área de estudo como os tópicos: microrganismos na produção de enzimas; produção de enzimas por fermentação; imobilização de enzimas; aplicação industrial de enzimas.

Microrganismos na Produção de Enzimas: As principais fontes de fabricação de enzimas são os microrganismos, incluindo bactérias, leveduras e fungos. A partir destes são produzidas enzimas como as proteases, amilases e lipases (SOARES, 2021). Segundo Silva *et al* (2020), as fontes microbianas são as mais utilizadas, e baseando-se no uso recorrente dos microrganismos para produção de enzimas se encontram bactérias do

gênero *Bacillus*. No âmbito da produção de enzimas, a escolha dos microrganismos seguros se torna crucial, já que conter alta capacidade de síntese e resistência a condições de temperaturas diversas é um diferencial. A seleção de microrganismos na produção de enzimas envolve a sua identificação, onde podem ser encontrados a partir de fontes como o solo, água e plantas, ou na transformação de resíduos e subprodutos (RIGO *et al.*, 2021).

A produção se inicia no isolamento do microrganismo, com base nas propriedades de sintetizar e excretar a enzima desejada, e em sua capacidade de crescer e se reproduzir em ambientes de cultivo controlado com meios de cultura apropriados fornecendo os nutrientes necessários, além de condições como temperatura e pH, para otimizar a produção das enzimas (RIGO *et al.*, 2021). Após o microrganismo produzir as enzimas, é feita a purificação que pode possuir várias etapas, como filtração, precipitação e cromatografia, dependendo do tipo de enzima e do meio de cultura utilizado. Ademais, este processo requer a otimização das condições de crescimento e produção, como meios de cultura apropriados, temperatura, pH, entre outros fatores. A fase da otimização dos parâmetros experimentais desempenha um papel fundamental em empreendimentos científicos e tecnológicos, sendo uma prática essencial logo no início da pesquisa.

Produção de Enzimas por Fermentação: Existem dois processos fermentativos que são comumente utilizados para produção de enzimas, em estado sólido (FES) e submerso (FS). A FES é um processo de crescimento microbiano em um substrato sólido e de baixo custo, utilizando pouca água e algumas vezes nenhuma água (NEMA *et al.*, 2019). A FS é mais utilizada pela possibilidade de utilização em escala industrial (HUSSEN *et al.*, 2018).

De acordo com o estudo sobre a produção de lipase por *Aspergillus niger* em (FES), realizado por NEMA *et al.* (2019). Foi investigado o efeito de diferentes variáveis, como substrato pH, temperatura, aeração e concentração de esporos. Concluiu-se que o substrato, que consistia em uma mistura de casca de arroz, semente de algodão e casca de grama vermelha, foi o mais adequado. Além disso foi observado uma temperatura ideal de 40°C, pH ideal de 6,0, concentração de esporos de 5,4 milhões por mL e a aeração não possuiu efeito significativo na produção das lipases.

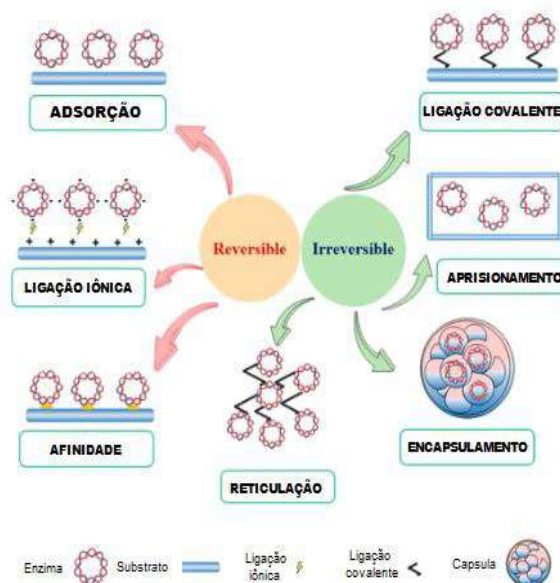
Já o estudo realizado por HUSSEIN *et al.* (2018). Foi feita a produção de enzimas hemicelulolíticas através seis fungos isolados diferentes empregando a (FS), que consistiu na utilização de xilana de sabugo de milho como fonte de carbono e na estimulação da produção enzimática em diferentes períodos da incubação. Foram analisados fatores como fonte de carbonos e nitrogênio, concentração de nutrientes, pH, temperatura, agitação e o tamanho do inóculo. Obteve-se os resultados de 150 rpm e temperatura de 30°C como parâmetros para a produção da enzima xilanase. Também foi observado que a escolha da (FS) pode permitir um maior rendimento, porém existe o risco de contaminação pois envolve a reposição do meio nutriente e a análise em intervalos regulares.

Imobilização de Enzimas: A imobilização enzimática é um processo que envolve a fixação de enzimas em um suporte, onde permite que as enzimas imobilizadas, também conhecidas como biocatalisadores, sejam recuperadas facilmente e reutilizadas. Essas apresentam maior resistência às mudanças das condições dos processos em comparação às enzimas livres (BADGUJAR *et al.*, 2022). As indústrias têm apresentado um notável interesse no desenvolvimento de novas abordagens eficientes para imobilizar enzimas, com foco no melhoramento da eficiência catalítica e reutilização. É uma estratégia com intuito de reduzir a perda das enzimas livres, solucionando os problemas com o alto custo e atendendo à alta demanda por enzimas em diversos processos industriais através da sua reutilização (BHARDWAJ *et al.*, 2023).

As técnicas mais utilizadas para imobilizar enzimas se diferenciam em físicos (encapsulamento e adsorção) e químicos (ligação covalente e reticulação). Os métodos

também podem ser divididos em reversíveis que incluem adsorção, ligação iônica e ligação por afinidade, e irreversíveis que incluem ligação covalente, aprisionamento e reticulação, como esquematizado na Figura 1 (NUNES *et al.*, 2021; MAGHRABY *et al.*, 2023). Existem diferentes técnicas e tipos de suporte para a imobilização de enzimas, que variam de acordo com o método e o processo (BHARATI *et al.*, 2023). O tipo de material utilizado nos suportes pode ser dividido em orgânicos, como a agarose e a quitosana, e inorgânicos, como o sílico, o metacrilato e o poliestireno. Também é possível aumentar a eficiência do suporte utilizando ativadores, como o glutaraldeído, a divinil sulfona, os líquidos iônicos e a epícloridrina (NUNES *et al.*, 2021; BENÍTEZ-MATEOS e CONTENTE, 2021; PINHEIRO *et al.*, 2019).

Figura 1. Diagrama ilustrando os principais métodos de imobilização enzimática.



Fonte: MAGHRABY *et al.*, 2023.

Com isso, os biocatalisadores apresentam grande vantagem por serem reutilizáveis, assim como podem ser obtidos através de uma ampla gama de espécies apresentam vantagens no âmbito social e ambiental, por apresentarem maior sustentabilidade, economia de custos e não afetarem o meio ambiente (KUO *et al.*, 2022). No entanto, ainda são necessárias melhorias no processo de imobilização, mais pesquisas em busca de novos materiais viáveis, econômicos, com alta capacidade e de fácil preparação, assim como também devem ser sustentáveis (BHARDWAJ *et al.*, 2023).

Aplicações de Biocatalisadores Imobilizados na Indústria de Alimentos: As enzimas imobilizadas apresentam uma ampla gama de aplicações industriais, em especial nas indústrias alimentícias, de detergentes, têxtil e farmacêutica, assim como em estações de tratamento de água (MAGHRABY *et al.*, 2023). Nas últimas décadas houveram avanços na engenharia genética e nas configurações dos biorreatores, o que contribuiu para a utilização das enzimas imobilizadas em diversas áreas industriais (PARREÑAS, 2022). Processos com enzimas imobilizadas em biorreatores permitem uma rápida recuperação dos produtos e das enzimas, onde elas podem ser reutilizadas nos processos enzimáticos contínuos e uma gama mais ampla de designs. Os biorreatores apresentam um papel crucial na produção industrial, por permitirem o cultivo controlado de microrganismos ou de células geneticamente modificadas (BORNFEHLT, 2023).

A preservação da atividade enzimática é de suma importância para a operação eficaz do reator, especialmente quando as enzimas são suscetíveis à instabilidade. A

imobilização não apenas pode aumentar a eficiência, mas também simplifica significativamente a recuperação das enzimas, permitindo seu reuso contínuo. Além disso, ao utilizar enzimas imobilizadas, o projeto do biorreator ganha em versatilidade, possibilitando a realização de diversas otimizações no processo. Esse método flexível oferece oportunidades para melhorias contínuas (SENSHARMA *et al.*, 2023).

No trabalho de Benucci *et al.* (2020) a protease alcalina foi imobilizada por reticulação com quitosana e foi utilizada para eliminar o glúten da cerveja. A imobilização aumentou a eficácia da enzima na redução do teor de glúten da cerveja original, após 10 horas de tratamento, de 65 mg/kg para 15 mg/kg. Na pesquisa de Guan *et al.* (2021), observaram que nanotubos feitos de α -lactalbumina foram utilizados como veículos para as lipases, permitindo a liberação de quantidades substancialmente maiores (cerca de 1,5 vezes mais) de ácidos graxos livres em comparação com as enzimas livres, ou seja, nos queijos com baixo teor de gordura, os nanotubos contendo lipase demonstraram uma liberação de ácidos graxos livres duas vezes maior em comparação com os queijos comuns de baixo teor de gordura. Isso resultou em produtos finais com teor de gordura semelhante ao do leite, proporcionando um queijo com reduzido teor de gordura e ao mesmo tempo, apresentando um sabor aprimorado.

Avanços Tecnológicos e Futuras Tendências: Avanços tecnológicos têm impulsionado consideravelmente o uso de enzimas imobilizadas na indústria de alimentos, proporcionando melhorias substanciais na eficiência, qualidade e segurança dos produtos. Essas inovações abrem portas para possíveis aplicações futuras, transformando a forma como os alimentos são processados e oferecendo soluções para desafios específicos do setor.

Uma das tendências emergentes é a microencapsulação de enzimas. Essa técnica envolve a incorporação das enzimas em materiais de revestimento, garantindo proteção adicional durante o armazenamento e processamento dos alimentos. A microencapsulação pode viabilizar o desenvolvimento de alimentos funcionais e nutracêuticos, oferecendo benefícios adicionais à saúde dos consumidores (MAGHRABY *et al.*, 2023).

Outro avanço promissor reside na aplicação da nanotecnologia na imobilização de enzimas. Nanomateriais como nanotubos, nanopartículas e nanofibras proporcionam uma área de superfície maior, permitindo maior eficiência na imobilização e controle preciso das propriedades dos suportes enzimáticos. Isso pode resultar em reações enzimáticas otimizadas e aprimoramento significativo na produção de alimentos. Essas tecnologias têm potencial para aplicações específicas em processos alimentares. A imobilização de enzimas pode ser direcionada para reduzir o teor de gordura, melhorar a textura, eliminar alérgenos ou desenvolver alimentos saudáveis de maneira mais eficiente (GUAN *et al.*, 2021).

Essas aplicações têm o objetivo de atender às crescentes demandas dos consumidores por produtos alimentícios mais saudáveis e de alta qualidade. No entanto, alguns desafios precisam ser superados para a plena integração dessas tecnologias na indústria de alimentos. A estabilidade e a preservação da atividade enzimática durante longos períodos são questões críticas, assim como questões relacionadas ao custo também é importante, pois materiais de suporte de baixo custo são fundamentais para a viabilidade econômica dessas tecnologias. Encontrar métodos de imobilização que mantenham a atividade da enzima, especialmente em condições adversas de processamento, é essencial. Estabelecer normas e regulamentos para garantir a segurança e qualidade dos alimentos produzidos com enzimas imobilizadas é essencial para sua ampla adoção.

Em resumo, as perspectivas futuras para o uso de enzimas imobilizadas na indústria alimentícia são promissoras, mas superar desafios relacionados à estabilidade,

escalabilidade de produção e aceitação regulatória e do consumidor é fundamental para sua integração efetiva e bem-sucedida no setor.

4 CONCLUSÃO

A realização deste trabalho torna-se de grande importância para os profissionais da área de biotecnologia. A pesquisa também contribui para a comunidade acadêmica em geral, para que mais pesquisas sejam desenvolvidas acerca de aplicação de biocatalisadores na indústria de alimentos, visando um processo ambientalmente amigável. Os benefícios da pesquisa ainda ampliam os conhecimentos de novos processos de fermentação e imobilização de enzimas destacados na literatura atual.

REFERÊNCIAS

BADGUJAR, K. C.; BADGUJAR, V. C.; BHANAGE, B. M. Recent update on use of ionic liquids for enzyme immobilization, activation, and catalysis: A partnership for sustainability. **Current Opinion in Green and Sustainable Chemistry**, v. 36, 2022.

BENÍTEZ-MATEOS, A. I. E CONTENTE, M. L. Agarose vs. Methacrylate as Material Supports for Enzyme Immobilization and Continuous Processing. **Catalysts**, v. 11, iss 7, pp. 814, 2021.

BENUCCI, I.; CASO, M. C.; BAVARO, T.; MASCI, S.; KERSIENE, M.; ESTI, M. ProlylEndopeptidase from *Aspergillus Niger* Immobilized on a Food-Grade Carrier for the Production of GlutenReduced Beer. **Food Control**, v. 110. 2020.

BHARATI, A.; TRUNOV, D. N.; SEDLÁŘOVÁ, I.; BELLUATI, A.; SOOS, M. Effective lipase immobilization on crosslinked functional porous polypyrrole aggregates, **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v. 667, pp. 131362-131362, 2023.

BHARDWAJ, N.; AGRAWAL, K.; VERMA, P. Enzyme Immobilization. **Genomics Approach to Bioremediation: Principles, Tools, and Emerging Technologies**, v. 5, pp. 35-51, 2023.

BORNFELT, P. O. A Dynamic Defect Generation Strategy for Efficient Enzyme Immobilization in Robust Metal-Organic Frameworks for Catalytic Hydrolysis and Chiral Resolution. **Angewandte Chemie**, v. 135, n. 20, 2023.

GUAN, T.; LIU, B.; WANG, R.; HUANG, Y.; LUO, J.; LI, Y. The enhanced fatty acids flavor release for low-fat cheeses by carrier immobilized lipases on O/W pickering emulsions. **Food Hydrocoll**, v. 116, 2021.

HUSSEIN M. M.; KHEIRALLA Z. H.; AHMED H. A.; EL-GENDY N. S. Enhanced production of xylanase enzyme by *Fusariummoniliforme* using submerged fermentation **Journal of Scientific Research in Science**, v. 35, pp. 227-236, 2018.

KUO, C. H.; HUANG, C. Y.; SHIEH, C. J.; DONG, C. D. Enzymes and Biocatalysis. **Catalysts**, v. 12, Iss: 9, pp. 993-993, 2022.

MAGHRABY, Y. R.; EL-SHABASY, R. M.; IBRAHIM, A. H.; AZZAZY H. Enzyme

Immobilization Technologies na Industrial Applications. **ACS omega**, v. 8, n. 6, pp. 5184- 5196, 2023.

MARTIN, J. G. P.; LINDNER, J. D. D. Microbiologia de alimentos fermentados. 1. ed. São Paulo: **Blucher**, 2022. v. 1.

NEMA, A.; PATNALA, S. H.; MANDARI, V; KOTHA, S.; DEVARAI, S. K. Production and optimization of lipase using *Aspergillus niger* MTCC 872 by solid-state fermentation. **Bulletin of the National Research Centre**, v. 43, n. 1, 2019.

NUNES, Y. L.; MENEZES, F. L.; SOUSA, I. G.; CAVALCANTE, A. L. G.; CAVALCANTE, F. T.; MOREIRA, K. S.; OLIVEIRA, A. L. B.; MOTA, G. F.; SOUZA, F. R. S.; FALCÃO, I. T. A.; ROCHA, T. G.; VALÉRIO, R. B. S.; FECHINE, P. B. A.; SOUZA, M. C. M.; SANTOS, J. C. S. Chemical and physical Chitosan modification for designing enzymatic industrial biocatalysts: How to choose the best strategy?. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 181, pp. 1124-1170, 2021.

PARRENÃS, R. S. Industrial applications of immobilizes enzymes: Food and other areas. **Biocatalyst immobilization**, pp. 365-401, 2022.

PINHEIRO, B.; RIOS, N. S.; AGUADO, E. R.; FERNANDEZ-LAFUENTE, R.; FREIRE, T. M.; FECHINE, P. B. A.; DOS SANTOS, J. C. S.; GONÇALVES, L. R. B. Chitosan activated with divinyl sulfone: a new heterofunctional support for enzyme immobilization. Application in the immobilization of lipase B from *Candida antarctica*. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 130, pp. 798-809, 2019.

RODRIGUEZ, K.; BERNAL, C.; MARTINEZ, R. Immobilized Biocatalyst Engineering: High throughput enzyme immobilization for the integration of biocatalyst improvement strategies. **International Journal of Biological Macromolecules**, v.170, pp. 61-70, 2021.

RIGO, D., GAYESKI, L., TRES, G. A., CAMERA, F. D., ZENI, J., VALDUGA, E., CANSIAN, R. L., & BACKES, G. T. Produção Microbiológica de Enzimas: uma Revisão/Microbiological Production of Enzymes: a Review. **Brazilian Journal of Development**, v. 7, pp. 9232–9254, 2021.

SANTIAGO, P. A. L.; DA SILVA SANTIAGO, S. R. S.; DOS SANTOS GOMES, A. M.; PEREIRA, K. D. D. E.; DA COSTA BARROSO, J.; LIMA, Y. V. V.; DE OLIVEIRA, E. C. A. Avaliação enzimática e morfológica de fungos associados a um basidiomiceto da região Amazônica. **Brazilian Journal of Development**, v. 7, n. 1, p. 9831-9850, 2021.

SENSHARMA, S.; KUMAR, G.; SARKAR, A. Immobilized enzyme reactors for bioremediation. **Metagenomics to Bioremediation**, pp. 641-657, 2023.

SILVA, L. S.; MARTINS, A. C.; KUPSKI, L.; RUIZ, J. B. Fermentação Em Estado Sólido E Submerso Para Produção De Celulase: Revisão Bibliográfica. **CIAGRO**, 2020.

ZHANG, H.; JIANG, Z.; XIA, Q.; ZHOU, D. Progress and perspective of enzyme immobilization on zeolite crystal materials. **Biochemical Engineering Journal** 172,

2021.



BIORREMEDIAÇÃO DE ÓLEO LUBRIFICANTE USADO E CONTAMINADO UTILIZANDO LIPASES DE RESÍDUOS DE LARANJA E COMERCIAL

MURILO SPROCATI SOUBHIA, MARCEL RODRIGUES FERREIRA, MILENE STEFANI PEREIRA, LUCIANA FRANCISCO FLEURI

RESUMO

No Brasil mais da metade dos óleos lubrificantes comercializados e usados não são devidamente coletados e tratados, representando um grande problema ambiental e de saúde pública. O óleo lubrificante usado e contaminado (OLUC) é um resíduo tóxico, portanto, precisa ser coletado e receber processamento, sendo a biorremediação por lipases uma alternativa. O objetivo principal do presente trabalho foi o estudo da biorremediação do OLUC a partir da aplicação de lipases obtidas de resíduos de laranja, bem como de lipases comerciais, com o intuito de se estabelecer uma comparação. Foi realizada análise de atividade enzimática das diferentes lipases por método titulométrico, utilizando emulsão de goma arábica e azeite de oliva como substrato; biorremediação do OLUC, inferida pela atividade enzimática das diferentes lipases por método titulométrico, utilizando emulsão de goma arábica e OLUC como substrato; bem como análises dos componentes reacionais, em especial dos produtos, quanto à atividade antioxidante (determinada pelo método DPPH) e de influência no metabolismo celular de fibroblastos (determinada pelo método MTT). Como principais achados foram observadas biorremediação do OLUC por ambas as lipases, com atividades estatisticamente iguais. As atividades antioxidantes dos produtos reacionais das lipases na hidrólise do OLUC também foram estatisticamente iguais. Além disso, pela análise de PCA, constatou-se que OLUC antes da hidrólise enzimática comprometeu o metabolismo celular de fibroblastos, e, após a reação com lipase vegetal, possibilitou um aumento significativo do metabolismo das células. Dessa forma, este estudo inicial indica a utilização de lipases, em especial a de resíduos de laranja, para a biorremediação do OLUC.

Palavras-chaves: enzimas; *frit*; hidrólise; resíduos; óleo tóxico.

1 INTRODUÇÃO

Biorremediação é o processo em que um microrganismo ou uma biomolécula são utilizados para o tratamento de algum resíduo indesejado, metabolizando-o até gerar um produto menos tóxico. Sendo assim, o microrganismo ou biomolécula utilizados nesse método não podem demonstrar riscos significativos ao ambiente onde serão expostos. Dentro deste processo, podemos citar uma vertente mais específica chamada de biorremediação enzimática. Esta, por sua vez, terá o mesmo objetivo da biorremediação, porém haverá necessariamente o uso de uma enzima como meio para o tratamento do resíduo desejado (VIDALI, 2001).

Um tipo de enzima utilizada neste processo são as lipases, as quais são específicas à catálise da hidrólise de triglicerídeos. Esta reação ocorre em meio aquoso, mas esta mesma enzima em condições de baixa quantidade de água, é capaz de realizar reações inversas (FREIRE e CASTILHO, 2008). Quando comparadas em relação a métodos convencionais de biorremediação de resíduos oleosos, as lipases apresentam vantagens como especificidade com o substrato, atuação em condições brandas e na presença de poluentes, bem como a geração de

subprodutos atóxicos e maior rendimento do processo (OKINO-DELGADO et al., 2017).

No Brasil, pode-se considerar que o mercado de lubrificantes é dependente do mercado externo, uma vez que, entre os lubrificantes comercializados no país cerca de 55% em volume tem óleos básicos de origem nacional, tanto de primeiro refino como de rerrefino, sendo estes produtos muitas vezes de baixa qualidade (ANP, 2016). O principal componente do óleo lubrificante acabado é o chamado óleo básico, representando geralmente 90% de seu volume (PETROBRÁS, 2019), podendo ser de origem mineral (derivado do refino do petróleo), sintético (derivado de reações químicas), ou vegetal. Os óleos básicos minerais são classificados de acordo com a natureza dos principais hidrocarbonetos de sua composição, o que lhes conferem diferentes características, tais como índice de viscosidade, ponto de fluidez, volatilidade, resistência à oxidação (QUELHAS et al., 2011) e diversas aplicações (ANP, 2016). No entanto, esse óleo pode se tornar inadequado devido ao uso convencional e à presença de contaminantes, quando isso ocorre, ele é denominado de óleo lubrificante usado e contaminado (OLUC) (ANP, 2009; DUARTE, 1981). O OLUC é um resíduo perigoso e deve ser reciclado através dos processos de reprocessamento, regeneração, incineração ou rerrefino (ANP, 2016).

Assim, a partir do exposto, o presente trabalho visou a obtenção de lipases vegetais a partir de resíduos agroindustriais de laranjas; análise das atividades enzimáticas; estudo da biorremediação enzimática do OLUC com as lipases de resíduos de laranja e comercial; e análise dos componentes reacionais quanto às atividades antioxidante e de influência no metabolismo celular de fibroblastos.

2 MATERIAIS E MÉTODOS

Para este trabalho foram utilizadas lipases vegetais obtidas a partir de resíduos de laranjas (*Citrus sinensis*), variedade Pera, cultivadas e processadas pela empresa parceira *JBT Food Tech* (Araraquara-SP). Essas enzimas foram obtidas a partir da fração *frit*, a qual foi processada segundo o método realizado por Okino-Delgado e Fleuri (2014). A título de comparação, também foi utilizada a lipase comercial de pâncreas suíno.

A atividade lipolítica das enzimas foi determinada pelo método titulométrico descrito por Macedo, Park e Pastore (1997) modificado por Okino-Delgado e Fleuri (2014), utilizando uma emulsão de goma arábica com azeite de oliva como fonte de triglicerídeos. Uma atividade de lipase (U/g) foi definida como a quantidade de lipase necessária para liberar 1 μmol de ácido graxo por minuto, nas condições de ensaio.

A biorremediação do OLUC pelas lipases foi determinada em sistema reacional contendo emulsão de goma arábica e OLUC a 15,5% (v/v) e 0,5g de lipase de resíduo de laranja liofilizada ou de lipase comercial, por 30 minutos a 40°C (MACEDO, PARK e PASTORE, 1997), seguindo escopo descrito por Okino-Delgado et al. (2017). A biorremediação do óleo foi inferida pela atividade enzimática das diferentes lipases por método titulométrico, sendo calculada em termos de unidades de atividade enzimática, como descrito acima. O OLUC utilizado neste estudo foi obtido de uma doação feita pela Auto Mecânica Inter-Rios (Campinas-SP), proveniente da troca de óleo lubrificante de veículo popular.

As atividades antioxidante [determinada pelo método de redução do DPPH e calculada em % de redução do radical (ZHU et al., 2002)] e de influência no metabolismo de fibroblastos [determinada pelo método do MTT (BRACKETT et al., 2012; FARQUHARSON et al., 1993)] foram determinadas nos componentes reacionais, em especial nos produtos resultantes e seus respectivos controles (sistema reacional sem ação enzimática) após a atividade enzimática e na biorremediação por lipases.

Todas as análises foram realizadas em sextuplicatas, tendo seus dados avaliados pelo *software* Minitab 18, submetidos à análise de variância (ANOVA) e as médias comparadas pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$). Além disso, os componentes reacionais quanto à análise de influência

no metabolismo de fibroblastos, foram analisados, via SAS, por PCA (Análise dos Componentes Principais).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram obtidas atividade de lipase de *frit* de laranja e da lipase comercial utilizando emulsão de goma arábica e azeite de oliva de, respectivamente, 42,32 U/g e 664,5 U/g (Tabela 1), sendo a atividade da comercial cerca de 15 vezes maior em relação à de laranja. Essas atividades são superiores à descrita por Okino-Delgado e Fleuri (2014) que descreveu 22,95 U/g de lipase obtidas de resíduos da mesma fração e variedade de laranja. No entanto, a lipase de laranja, no presente estudo, apresentou atividade inferior em relação às de semente de maracujá e girassol, utilizando goma arábica e azeite de oliva como substrato, sendo, respectivamente, 77,9 e 77,1 U/g (SANTOS, 2013).

A biorremediação da emulsão de goma arábica e OLUC pela lipase de *frit* de laranja e pela lipase comercial implicaram, respectivamente, em atividades de lipase de 39,63 U/g e 52,02 U/g, as quais foram estatisticamente iguais (Tabela 1).

Tabela 1: Atividade enzimática de lipase utilizando lipase de *frit* de laranja (LF) e lipase comercial (LC), biorremediação do OLUC mensurada pela determinação de atividade de lipase utilizando lipase de *frit* de laranja (LFO) e lipase comercial (LCO) e determinação das atividades antioxidante dos produtos reacionais.

	Atividade Enzimática (U/g)	Atividade Antioxidante (% DPPH reduzido)
LF	42,32 ± 0,64 B	34,29 ± 2,45 A
LC	664,5 ± 31,1 A	17,60 ± 1,98 B
LFO	39,63 ± 3,12 B	20,78 ± 2,15 B
LCO	52,02 ± 13,43 B	19,16 ± 0,75 B

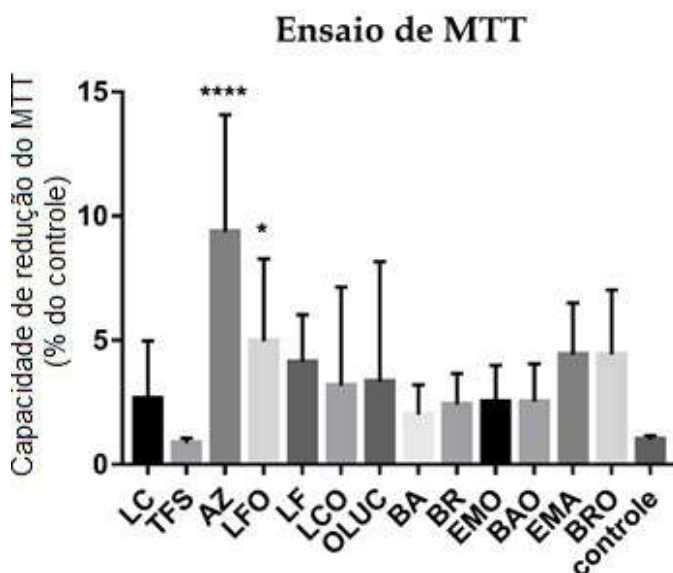
Médias seguidas de letra maiúscula verticalmente iguais não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$) e \pm Desvio padrão.

Comparando os resultados das atividades antioxidantes entre todas as combinações reacionais (Tabela 1) observa-se que os produtos de LC, LFO e LCO foram estatisticamente iguais, com destaque para o LF que apresentou a maior atividade antioxidante. Este resultado evidencia uma capacidade de biorremediação do OLUC independente da atividade enzimática, porém associada à atividade antioxidante a partir de uma lipase vegetal obtida pelo grupo de pesquisa. Pereira (2017) analisando a fração *frit* da laranja Pera obteve uma atividade antioxidante correspondente a aproximadamente 70% de redução do DPPH, a maior dentre as frações e variedades analisadas, sendo classificada como um extrato de fruta com forte capacidade antioxidante, segundo Melo et al. (2008). O resultado obtido no estudo relatado foi superior ao encontrado neste trabalho. Utilizando a mesma metodologia, o estudo de Francisco et al. (2019) obteve uma capacidade de redução do radical DPPH do produto reacional do azeite de oliva hidrolisado com *frit* de 69,5%, resultado também superior quando comparado ao deste trabalho.

Quanto à sua influência dos produtos reacionais no metabolismo celular dos fibroblastos, ilustrada na Figura 1, pode-se dizer que o azeite de oliva apresentou aumento do

metabolismo citado com maior significância. Já o produto reacional da atividade de lipase de *frit* utilizando OLUC como substrato de reação também apresentou um aumento do metabolismo celular, de menor significância quando comparado ao controle. Nenhuma outra amostra apresentou um estímulo ou inibição celular significativa quando comparados estatisticamente ao controle.

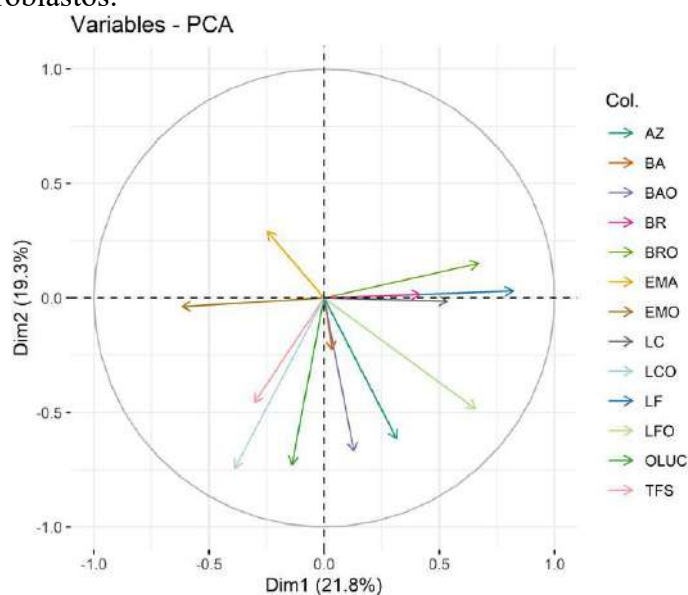
Figura 1: Influência dos componentes e produtos reacionais no metabolismo de fibroblastos pelo método do MTT.



Legenda: AZ Azeite; EMA Emulsão (goma arábica + azeite); EMO Emulsão OLUC (goma arábica + OLUC); BA Branco amostra sem reação (emulsão azeite + tampão + frit); BAO Branco amostra OLUC sem reação, (emulsão OLUC + tampão + frit); BR Branco reagentes com reação (emulsão azeite + tampão); BRO Branco reagentes OLUC com reação (emulsão OLUC + tampão); LC Atividade de Lipase Comercial utilizando azeite como substrato de reação; LCO Atividade Lipase Comercial utilizando OLUC como substrato de reação; LF Atividade de Lipase do Frit utilizando azeite como substrato de reação; LFO Atividade de Lipase de frit utilizando OLUC como substrato de reação; OLUC óleo lubrificante usado e/ou contaminado; TFS Tampão Fosfato de Sódio (pH 7 a 0,1M).

A Análise de Componentes Principais (PCA) dos resultados obtidos no ensaio de influência no metabolismo celular de fibroblastos expressou 41,4% da variância nos dois primeiros componentes principais, sendo PCA1 (Dim 1) responsável por descrever 21,8% e PCA2 (Dim 2) 19,3% da variância total (Figura 2). Os dados fornecidos pelo PCA permitiram correlacionar, positivamente e negativamente, as amostras utilizadas. A correlação positiva entre as amostras de azeite de oliva (AZ), atividade de lipase de *frit* utilizando OLUC como substrato (LFO), branco de amostra OLUC sem reação (BAO) e o branco de amostra sem reação (BA) indica que tais brancos reacionais também apresentaram um aumento do metabolismo celular. Já a emulsão de azeite de oliva (EMA), que apresentou correlação negativa com este agrupamento, demonstra um menor aumento ou comprometimento do crescimento celular. O tampão (TFS), atividade de lipase comercial utilizando OLUC como substrato (LCO) e OLUC puro (OLUC) representam outro agrupamento que apresentaram correlação positiva entre si, o que indica que o produto reacional da LCO e do OLUC não apresentaram aumento quanto ao metabolismo celular, uma vez que o TFS teve o resultado mais próximo do controle. Tais interpretações demonstram resultados de biorremediação, uma vez que o OLUC antes da hidrólise enzimática comprometeu o metabolismo celular, e, após a reação, possibilitou um aumento significativo deste.

Figura 2: Análise de componentes principais dos componentes e produtos reacionais no metabolismo de fibroblastos.



4 CONCLUSÃO

O presente trabalho, realizado de forma inédita na literatura até o momento, mostrou que lipases de resíduos de laranja apresentam grande potencial na biorremediação de resíduos petroquímicos, uma vez que apresentaram a mesma performance de lipase comercial, atividade antioxidante dos produtos reacionais e um aumento significativo do metabolismo celular de fibroblastos após a hidrólise do OLuc, quando este antes era citotóxico para a célula testada.

REFERÊNCIAS

ANP – Agência Nacional do Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis. Panorama dos Óleos Básicos no Brasil: relatório técnico, Distrito Federal, 2016.

ANP – Agência Nacional do Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis. Resolução ANP nº 19 de 18 de junho de 2009. Disponível em <<http://nxt.anp.gov.br/NXT/gateway.dll?f=templates&fn=default.htm&vid=anp:10.1048/enu>>. Acesso em: 24 de agosto de 2020.

ANP – Agência Nacional do Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis. Resolução ANP nº 20 de 18 de junho de 2009. Disponível em <<http://nxt.anp.gov.br/NXT/gateway.dll?f=templates&fn=default.htm&vid=anp:10.1048/enu>>. Acesso em: 24 de agosto de 2020.

Brackett, M. G., Lewis, J. B., Kious, A. R., Messer, R. L., Lockwood, P. E., Brackett, W. W., & Wataha, J. C. (2012). Cytotoxicity of endodontic sealers after one year of aging in vitro. *Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials*, 100(7), 1729- 1735.

Duarte, V. L. P. (1981). Atualidades Conselho Nacional do Petróleo. Farquharson, C., Whitehead, C. C., Rennie, J. S., & Loveridge, N. (1993). In vivo effect of 1, 25-dihydroxycholecalciferol on the proliferation and differentiation of avian chondrocytes. *Journal of Bone and Mineral Research*, 8(9), 1081-1088.

Francisco, V. C. B., Okino-Delgado, C. H., Zanutto Elgui, M. R., Fernandes, C. J. D. C., Facanali, R., da Silva, R. A., Zambuzzi, W. F., Marques, M. O. M., & Fleuri, L. F. (2019). Plant oil bioconversion into increase biological activity through lipases derived from wastes. *International Journal of Food Science & Technology*, 54(4), 1089-1099.

Freire, G. D. M., & Castilho, F. L. (2008). Lipases em biocatálise. *Enzimas em Biotecnologia. Produção, Aplicações e Mercado*, 1, 369-385.

Macedo, G. A., Park, Y. K., & Pastore, G. M. (1997). Partial purification and characterization of an extracellular lipase from a newly isolated strain of *Geotrichum* sp.

Melo, E. D. A., Maciel, M. I. S., Lima, V. L. A. G. D., & Nascimento, R. J. D. (2008). Capacidade antioxidante de frutas. *Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas*, 44(2), 193-201.

Okino-Delgado, C. H. (2014). Obtenção, caracterização e aplicação de lipases vegetais – Utilizando subprodutos do processamento de laranja e manga para suco. 89f. Dissertação de Mestrado em Botânica - Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Instituto de Biociências de Botucatu.

Okino-Delgado, C. H., Prado, D. Z. D., Facanali, R., Marques, M. M. O., Nascimento, A. S., Fernandes, C. J. D. C., Zambuzzi, W. F., & Fleuri, L. F. (2017). Bioremediation of cooking oil waste using lipases from wastes. *PLoS One*, 12(10), e0186246.

Pereira, M. S. (2017). Resíduos de laranja como fonte de enzimas e compostos bioativos.

Petróleo Brasileiro S.A.. Óleos Básicos Lubrificantes: Informações Técnicas de Dezembro de 2019. Disponível em <<http://sites.petrobras.com.br/minisite/assistenciatecnica/default.asp>>. Acesso em: 24 de agosto de 2020.

Quelhas, A. D., Passos, C. N., LAGE, D., Abadie, E., Sousa, E. C. M., Cordeiro, F. G., & Pinto, P. R. C. (2011). Processamento de petróleo e gás. Rio de Janeiro. LTC, cap, 8, 118-121.

Santos, K. C., Cassimiro, D. M., Avelar, M. H., Hirata, D. B., de Castro, H. F., Fernández-Lafuente, R., & Mendes, A. A. (2013). Characterization of the catalytic properties of lipases from plant seeds for the production of concentrated fatty acids from different vegetable oils. *Industrial crops and products*, 49, 462-470.

Vidali, M. (2001). Bioremediation. an overview. *Pure and applied chemistry*, 73(7), 1163-1172.

Zhu, Q. Y., Hackman, R. M., Ensunsa, J. L., Holt, R. R., & Keen, C. L. (2002). Antioxidative activities of oolong tea. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(23), 6929-6934.



BIOSSENSORES NANOESTRUTURADOS PARA DIAGNÓSTICO RÁPIDO DO INFARTO AGUDO DO MIOCÁRDIO COM A QUANTIFICAÇÃO DO H-FABP

VINÍCIUS PANTOJA DE SOUZA; ISABELLA MACHADO DIAS; NAYARA DA SILVA MELO; JOSÉ MATHEUS VILELA FONSECA; ROSA AMALIA FIREMAN DUTRA

RESUMO

INTRODUÇÃO: As doenças cardiovasculares, incluindo o infarto agudo do miocárdio (IAM), representam um dos problemas de saúde mais prevalentes, sendo as principais causas de morte em todo o mundo. A testagem *point-of-care* (POCT), ou seja, exames executados no local de atendimento, como farmácias e clínicas volantes, tornaram-se excelentes estratégias para minimizar as complicações do IAM por possibilitarem um diagnóstico rápido, agilizando o acesso ao tratamento e, por consequência, aumentando as chances de sobrevivência dos pacientes. Recentemente, em consonância com os avanços nas tecnologias voltadas ao POCT, a proteína de ligação a ácidos graxos do tipo cardíaco (H-FABP) foi considerada um biomarcador de rápida resposta ao IAM precedendo às troponinas cardíacas. Em caso de lesão coronária, a concentração do H-FABP é aumentada na corrente sanguínea dentro de 20 a 30 minutos e está diretamente relacionada com a extensão das lesões provocadas pelo IAM, tornando-se um biomarcador específico para ensaios em emergências. Biossensores *point-of-care* são dispositivos analíticos que detectam e quantificam o analito alvo valendo-se de biomoléculas acopladas a transdutores que interagem de forma específica com o analito. Eles surgiram como excelentes estratégias para auxiliar no diagnóstico de IAM, por possuírem resposta rápida e quantitativa. **OBJETIVOS:** Revisar a literatura científica quanto a utilização de biossensores para quantificação do H-FABP, analisando o impacto dos nanomateriais em sua performance analítica. **MÉTODO:** Utilizou-se o banco de dados do *Google Scholar* com datas de publicação a partir de 2019, focando nos dados de Limite de Detecção, Faixa de Linearidade, classe de método analítico e os materiais utilizados dos biossensores obtidos pelas palavras chaves: Biossensor H-FABP. **RESULTADOS:** Utilização de nanomateriais em 94.1% dos trabalhos, nanopartícula de ouro em 41.2%, quantificação multiplexada em 23.4% e transdução óptica em 75% dos biossensores para quantificação de H-FABP. **CONCLUSÃO:** Os biossensores possuem um grande potencial analítico graças a utilização da nanotecnologia e são uma ferramenta vantajosa frente à outras tecnologias *point-of-care*, unido capacidade analítica e detecção multiplexada adequadas para o diagnóstico do IAM.

Palavras-chave: Biossensor, Infarto Agudo do Miocárdio, Nanotecnologia, H-FABP

1 INTRODUÇÃO

O Infarto Agudo do Miocárdio (IAM) é um grave problema de saúde e representa a principal causa de morte em todo o mundo, com aproximadamente 17,9 milhões de óbitos anuais e, só no Brasil, é responsável por 31% de todos os óbitos em território nacional, com a maioria das mortes ocorrendo nas primeiras horas após o início dos sintomas (SANTOS et al., 2018; WHO, 2021). Para a emergência, um dos grandes desafios é diferenciar a dor torácica aguda provocada por IAM ou decorrente de outras condições, tendo em vista que, nos últimos anos, a utilização do Eletrocardiograma (ECG) tem sido o principal método para estabelecer o

diagnóstico e apenas 57% dos pacientes acometidos apresentam alterações, tornando as avaliações clínicas combinadas com seu uso insuficientes para o diagnóstico na maioria dos pacientes com síndrome coronariana aguda (SCA) (TWERENBOLD; BOEDDINGHAUS; MUELLER, 2018; BOEDDINGHAUS et al, 2020).

Por essa razão, é recomendado pela Organização mundial da saúde, a avaliação de três principais fatores para o diagnóstico de IAM: dor torácica, alterações no ECG e aumento da concentração de biomarcadores sanguíneos relacionados com IAM (IBANEZ et al., 2018). Os biomarcadores mais utilizados atualmente são as troponinas cardíacas, Creatina Quinase (CK-MB) e Mioglobina. Todavia, a proteína ligadora de ácidos graxos cardíaca (H-FABP) vem se destacando frente aos demais biomarcadores para diagnóstico de IAM por haverem alterações significativas em por volta de 30 minutos após o início dos sintomas e 85% das lesões teciduais causadas ocorrem nas primeiras duas horas (REYES-RETANA; DUQUE-OSSA, 2021).

O H-FABP é uma molécula de baixo peso molecular, por essa razão, seu conteúdo nas células cardíacas é liberado rapidamente nas fases iniciais do IAM. O nível sérico do biomarcador fisiológica é usualmente bastante baixo, em que concentrações de por volta de 5-10 ng/ml já podem indicar um risco elevado para IAM. Tal aspecto evidencia a necessidade de tecnologias analíticas que possuam alta sensibilidade para sua quantificação (JAISWAL et al., 2020).

Dessa forma, é imperativo pesquisas focadas em analisar alterações de biomarcadores que proporcionem o diagnóstico precoce, como p H-FABP, bem como o aprimoramento dos métodos de dosagem, aumentando a sensibilidade analítica e proporcionando testes mais acessíveis, portáteis e de fácil utilização. As tecnologias utilizadas atualmente com a proposta point-of-care são majoritariamente imunoensaios de fluxo lateral, biossensores e demais imunoensaios, como os já largamente utilizados imunoensaio enzimático (ELISA) de acordo com o relatório “*Point of Care Testing Market Report, 2024-2032*” publicado pelo *Global Market Insights Inc.* Os imunoensaios de fluxo lateral frequentemente apenas proporcionam a detecção e os ELISAs necessitam de um protocolo complexo, necessitando de uma estrutura laboratorial robusta, demonstrando a necessidade de novos dispositivos que consigam ser de simples utilização e quantitativos.

Nesse contexto, os biossensores vêm sendo cada vez mais visados devido a sua capacidade de quantificação do analito e versatilidade, podendo ser desenvolvidos valendo-se dos mais diversos tipos de nanomateriais para melhorar sua capacidade analítica, chegando a Limites de Detecção (LODs) na ordem de ng/ml até fg/ml (ZHANG, Zixuan et al., 2023; LI, Fang et al., 2022). Além disso, demonstram grande potencial de miniaturização e utilização de um baixo volume de amostra biológica, promovendo portabilidade que é explorada para o desenvolvimento de testagem point-of-care, ou seja, testes de fácil utilização que podem ser utilizados em farmácias, postos de saúde, clínicas volantes, sem que seja necessária uma estrutura elaborada, promovendo o diagnóstico descentralizado (SAMUEL; RAO, 2022). Outra vantagem possível é a possibilidades da quantificação multiplexada, ou seja, de mais de um analito simultaneamente, melhorando a sensibilidade e especificidade diagnóstica, indispensável para uma abordagem otimizada para o diagnóstico rápido do IAM (HU et al., 2020; LI et al., 2020; LI, Fang et al., 2020).

2 MATERIAIS E MÉTODOS

O trabalho utilizou abordagem qualitativa e quantitativa, analisando Limite de Detecção e Limite de Quantificação ou Faixa de Linearidade, bem como as classificações dos biossensores quanto às metodologias analíticas utilizadas, objetivando reunir os trabalhos publicados sobre o assunto e seu desempenho analítico, além de analisar os diversos nanomateriais utilizados nos trabalhos. A busca da literatura foi realizada no Google Scholar.

Foram selecionados os trabalhos experimentais publicados a partir de 2019.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram encontrados na pesquisa 17 artigos que visam detectar o H-FABP, destes trabalhos, 94.1% utilizam algum tipo de nanomaterial na plataforma biossensora e as clássicas nanopartículas de ouro participam significativamente na área, em aproximadamente 41.2% dos artigos em contraponto com os nanomateriais carbonáceos em apenas 11.7%.

Cabe salientar que parte dessas plataformas biossensoras se mostraram também eficientes para a detecção de outros biomarcadores cardíacos, com 23.4% dos trabalhos, demonstrando esforços para o desenvolvimento de plataformas multiplexadas, com detecção simultânea de mais de um biomarcador.

Vê-se também que as metodologias que se valem de transdução eletroquímica foram bastante minoritárias frente às de transdução óptica com 70.5%, excetuando dessas duas metodologias, apenas um artigo com uma transdução inovadora, valendo-se de transdução térmica. Dos ópticos, destacaram-se os ensaios fotoeletroquímicos e os quimioluminescentes, cada um com 33.3% da produção, podendo ainda salientar que 25% dos biossensores ópticos são para detecção de mais de um biomarcador cardíaco, demonstrando uma boa adequabilidade dessas tecnologias à detecção multiplexada.

Método Analítico	Materiais	Linearidade	LOD	Amostra	Trabalho
Fotoeletroquímico	complexo de nanoesferas (Fe ₃ O ₄ @Carbon@MnO ₂)	50 fg/mL até 100 ng/mL	0.013 pg/mL	Soro Humano	ZHU, Lihang et al., 2023
Eletroquímico	nano/microilhas de ouro (NMIs) e polímeros molecularmente impressos (MIPs)	10 pg/mL até 100 ng/mL	4.86 pg/ml	Soro humano enriquecido	SANATI, A. et al., 2021
Fotoeletroquímico	Heterojunção de Nanofolhas ZnInS (ZIS NSs) com SnS ₂ e ZIS NSs/SnS ₂ e óxido de estanho dopado com flúor (FTO)	0.1 pg/mL até 1000 pg/mL	55 fg/mL	Soro humano enriquecido	GAO, Yuan et al. 2022
Baseado em SERS	Au@Ag (nanopartícula de ouro revestida de prata)	0.01ng/mL até 100 ng/mL	0.6396 ng/mL	Soro humano	HU, Cunming et al., 2020
Fotoeletroquímico	ITO/BiOI e CsPbBr ₃ @COF-V (nanoesferas)	0.0005 ng/mL até 150 ng/mL	0.19 pg/mL.	Soro humano enriquecido	LENG, Dongquan et al.,

				do	2023
Eletroquímico	Azul de metileno (MB), nanotubos de carbono (CNT) e filme polimérico politionina (PTh)	3.0 to 25.0 ng·mL ⁻¹	1.47 ng·mL ⁻¹	Soro humano	PRADO, Cecília Maciel et al., 2023
Eletroquímico	nanodendritos de ouro / ferroceno acoplado a quitosana (Au NDs / Chit-g-Fc) e nanocristais AuPt absorvidos por tionina / polidopamina / esferas ocas de carbono de poros abertos (Thi / AuPt / PDA / OHCSs)	0.001–200.0 mL ⁻¹	0.53 ng mL ⁻¹	Soro humano	FENG, Yi-Ge et al., 2021
Eletroquímio-luminescente	Ni-TCPP (Fe)-PEI-Lum e poli(ácido indol-5-carboxílico) (PICA)	00 fg mL ⁻¹ to 100 ng mL ⁻¹	44.5 fg mL ⁻¹	Soro humano	GAN, Xiufeng et al., 2021
Eletroquímico	Ni-TCPP(Fe)@PSS-Gr and Ag@Au/Pt	ng/mL to 100 ng/mL	5.75 fg/mL	Soro humano	ZHANG, Zixuan et al., 2023
Fotoeletroquímico	Au NPs-alkaline phosphatase (ALP)	1 × 10 ⁻¹³ g/mL to 1 × 10 ⁻⁸ g/mL (correção por logaritmo)	3.23 × 10 ⁻¹⁴ g/mL	Soro Humano e em tampão PBS	SHI, Zhuonan et al. 2022
Químio-luminescente	Co(II)-Ab2-luminol-GNPs	pg/mL to 1 µg/mL	0.06 pg/mL	Soro humano	LI, Fang et al., 2020
Químio-luminescente	Magnosphere™ MS300/Tosyl beads (microesferas magnéticas)	0.01–128 µg/L	0.01 µg/L	Soro Humano	ZHENG, Jiao et al., 2023
Químio-luminescente	quitosana (CS), Co ²⁺ , luminol e nanopartículas de ouro (AuNPs) (CS-Co ²⁺ -Lu-Au), e outra composta por CS, Co ²⁺ , luminol, fluoresceína e AuNPs (CS-Co ²⁺ -Lu-FL-Au)	1.0 × 10 ⁻¹¹ g/mL até 1.0 × 10 ⁻⁵ g/mL	1.61 pg/mL	Soro Humano	LI, Fang et al., 2022
Eletroquímio-luminescente	nanopartículas de sílica mesoporosa carregadas com Ru (bpy) ₃ ²⁺	1 ng/mL até 100 ng/mL	0.72 ng/mL	Soro Humano	ZHU, Lihang et al., 2023

Detecção Térmica	Prova de conceito				
SERS	Au-4MBA@Ag, anopartícula de ouro revestida de prata)	0.0-200.0 ng/mL	1.4490 ng/mL	Matriz pura de soro de bezerro	MA, Li et al., 2020
Químio-luminescente	Compósito de carbono magnético funcionalizado com Co ²⁺ /N-(aminobutil)-N-(etilisoluminol) (ABEI) (Co ²⁺ -ABEI-Fe ₃ O ₄ @vazio@C) em quitosana (CS) conjunto com nanopartículas de ouro	1 - 1000 pg/mL (correção por logaritmo)	0.32 pg/mL	Soro Humano	YANG, Rui et al., 2019

4 CONCLUSÃO

Foi observada a vasta utilização de nanomateriais, evidenciando a íntima relação entre os biossensores e a nanotecnologia. Os biossensores ópticos com o propósito de detecção de biomarcadores cardíacos apresentados para H-FABP demonstraram grande potencial para detecção multiplexada. Foram obtidos LODs bastante sensíveis, e faixas de linearidades bem amplas, evidenciando uma capacidade analítica proeminente e sua aplicação adequada para o diagnóstico do IAM.

REFERÊNCIAS

BOEDDINGHAUS, Jasper et al. **Early diagnosis of myocardial infarction with point-of-care high-sensitivity cardiac troponin I.** Journal of the American college of cardiology, v. 75, n. 10, p. 1111-1124, 2020.

CRAPNELL, R. et al. **Thermal detection of cardiac biomarkers h-fabp and st2 using a molecularly imprinted nanoparticle-based multiplex sensor platform.** ACS sensors, v. 4, p. 2838-2845, 2019.

FENG, Yi-Ge et al. **AuPt nanocrystals/polydopamine supported on open-pored hollow carbon nanospheres for a dual-signaling electrochemical ratiometric immunosensor towards h-FABP detection.** Sensors and Actuators B: Chemical, v. 346, p. 130501, 2021.

GAN, Xiufeng et al. **A highly sensitive electrochemiluminescence immunosensor for h-FABP determination based on self-enhanced luminophore coupled with ultrathin 2D nickel metal-organic framework nanosheets.** Biosensors and Bioelectronics, v. 171, p. 112735, 2021.

GAO, Yuan et al. **Liposome-mediated in situ formation of type-I heterojunction for amplified photoelectrochemical immunoassay.** Analytical Chemistry, v. 94, n. 11, p. 4859-4865, 2022.

Global Market Insights Inc. **Point of Care Testing Market Report, 2024-2032.** Acesso em 3 de março de 2024. Disponível em: <https://www.gminsights.com/industry-analysis/point-of-care-testing-market>

HU, Cunming et al. **SERS-based magnetic immunoassay for simultaneous detection of cTnI and H-FABP using core-shell nanotags**. *Analytical Methods*, v. 12, n. 45, p. 5442-5449, 2020.

IBANEZ, B. et al. **Guidelines for the management of acute myocardial infarction in patients presenting with ST-segment elevation**. *European Heart Journal*, v. 39, n. 2, p. 119-177, 2018.

JAISWAL, Anoop et al. **H-FABP as a diagnostic marker for early detection of young myocardial infarction among Indians**. *Bioinformatics*, v. 18, n. 6, p. 506, 2022.

LENG, Dongquan et al. **A self-powered photoelectrochemical biosensing platform for H-FABP monitoring mediated by CsPbBr₃@ COF-V**. *Biosensors and Bioelectronics*, v. 241, p. 115710, 2023.

LI, Fang et al. **Multifunctionalized hydrogel beads for label-free chemiluminescence imaging immunoassay of acute myocardial infarction biomarkers**. *Analytical Chemistry*, v. 94, n. 5, p. 2665-2675, 2022.

LI, Fang et al. **Multiplexed chemiluminescence determination of three acute myocardial infarction biomarkers based on microfluidic paper-based immunodevice dual amplified by multifunctionalized gold nanoparticles**. *Talanta*, v. 207, p. 120346, 2020.

MA, Li et al. **Detection of H-FABPA by novel SERS combined with magnetic reaction**. *Nanotechnology*, v. 31, n. 9, p. 095103, 2019.

PRADO, Cecília Maciel et al. **A Methylene Blue-Enhanced Nanostructured Electrochemical Immunosensor for H-FABP Myocardial Injury Biomarker**. *Biosensors*, v. 13, n. 9, p. 873, 2023.

REYES-RETANA, J. A.; DUQUE-OSSA, L. C. **Acute myocardial infarction biosensor: a review from bottom up**. *Current problems in cardiology*, v. 46, n. 3, p. 100739, 2021.

SAMUEL, Vimala Rani; RAO, K. Jagajjanani. **A review on label free biosensors**. *Biosensors and Bioelectronics: X*, p. 100216, 2022.

SANATI, A. et al. **Detection of heart-fatty acid binding protein in human serum using gold nano/micro-islands and molecularly imprinted polymers**. In: 2021 IEEE 21st International Conference on Nanotechnology (NANO). IEEE, 2021. p. 397-399.

SANTOS, J. dos. et al. **Mortalidade por infarto agudo do miocárdio no Brasil e suas regiões geográficas: análise do efeito da idade-período-coorte**. *Ciência & Saúde Coletiva*, v. 23, n. 5, p. 1621-1634, 2018.

SHI, Zhuonan et al. **Ascorbic acid-mediated organic photoelectrochemical transistor sensing strategy for highly sensitive detection of heart-type fatty acid binding protein**. *Biosensors and Bioelectronics*, v. 201, p. 113958, 2022.

TWERENBOLD, Raphael et al. **Optimising the early rule-out and rule-in of myocardial**

infarction using biomarkers. Cardiovascular Medicine, v. 22, n. 01, 2019.
TWERENBOLD, Raphael; BOEDDINGHAUS, Jasper; MUELLER, Christian. **Update on high-sensitivity cardiac troponin in patients with suspected myocardial infarction.** European Heart Journal Supplements, v. 20, n. suppl_G, p. G2-G10, 2018.

WHO. **The top 10 causes of death.** Disponível em:
<<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs310/en/>>.

YANG, Rui et al. **Chemiluminescence immunoassays for simultaneous detection of three heart disease biomarkers using magnetic carbon composites and three-dimensional microfluidic paper-based device.** Analytical chemistry, v. 91, n. 20, p. 13006-13013, 2019.

ZHANG, Zixuan et al. **A novel electrochemical immunosensor based on ritter-like Ni-TCPP (Fe) nanosheets and PSS-functionalized graphene for ultrasensitive detection of H-FABP.** Journal of Solid State Electrochemistry, p. 1-10, 2023.

ZHENG, Jiao et al. **Magnetic particle-based chemiluminescence immunoassay for serum human heart-type fatty acid binding protein measurement.** Biotechnology Letters, v. 45, n. 11, p. 1431-1440, 2023.

ZHU, Lihang et al. **An integrated microfluidic electrochemiluminescence device for point-of-care testing of acute myocardial infarction.** Talanta, v. 262, p. 124626, 2023.

ZHU, Lihang et al. **An integrated microfluidic electrochemiluminescence device for point-of-care testing of acute myocardial infarction.** Talanta, v. 262, p. 124626, 2023.



BIOTECNOLOGIA NA PREVENÇÃO E TRATAMENTO DE CRESTAMENTO BACTERIANO NO FEIJOEIRO

VITÓRIA MARIA SEMPKOSKI

RESUMO

O feijão é uma leguminosa com ciclo entre 60 e 120 dias. No Brasil a cultura é de grande importância pois o país se posiciona em terceiro lugar na produção mundial. O Crestamento Bacteriano Comum (*Xanthomonas axonopodis* pv. *Phaseoli*) no feijoeiro é um grande problema em dias atuais, visto que causa danos na produtividade e na qualidade dos grãos. Os sintomas são visíveis nas folhas, caule e também nas sementes, caracterizado por manchas úmidas e necróticas, além de halos de coloração amarelada entre as manchas. A bactéria infecta os tecidos através dos estômatos e ferimentos, apresentando lesões com tecido flácido envolto por um alo de coloração amarela. As sementes produzidas perdem o vigor e a germinação, sendo a principal forma de dispersão da doença, pois esta sobrevive em baixas temperaturas. As vagens novas enrugam ou apodrecem. As perdas em produção pela bactéria ficam em torno de 10 a 70%. Ainda há dificuldades no tratamento e prevenção desse tipo de enfermidade e vários métodos vêm sendo testados como o uso de produtos biológicos e também uso de produtos químicos como método preventivo, além da escolha de variedades resistentes a essa patologia. Para induzir a resistência nas plantas é preciso ativar os mecanismos de defesa já existentes nelas como resposta ao tratamento com agentes eliciadores, os quais as moléculas são capazes de ativar os mecanismos de defesa contra patógenos. Pesquisas estão sendo realizadas com embasamento em testes com indução da bactéria no feijão e posterior tratamento, apresentando melhores resultados os métodos preventivos como escolha da variedade, tratamento de sementes, aplicações preventivas de defensivos. Na atualidade já existem tratamentos curativos para a enfermidade, porém estes ainda não apresentam bons resultados como os tratamentos preventivos.

Palavras-chave: Bactéria; Sementes; Tratamento; Prevenção.

1 INTRODUÇÃO

A cultura de feijão é considerada de extrema importância pois o Brasil é o maior consumidor a nível mundial. Há desafios para a produção dessa leguminosa, dentre eles cita-se o Crestamento Bacteriano Comum, que acomete partes vegetativas e reprodutivas da planta, afetando a produção e qualidade das sementes. Um grande problema é a falta de tratamentos curativos para a doença, dessa forma os estudos buscam métodos preventivos e curativos através de testes laboratoriais com indução patogênica nas plantas e aplicação dos produtos curativos.

2 MATERIAIS E MÉTODOS

Toillier et al. (2010), realizaram um ensaio com *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli* (bactéria do feijão) utilizando controle negativo: Plantas tratadas com água destilada. Controle positivo nº 1: bactericida sistêmico – Agrimicina (22,5 mg L⁻¹ de

oxitetraciclina + 225 mg L⁻¹ de estreptomicina). Controle positivo nº 2: indutor de resistência – Acibenzolar-S-metil (125 mg i.a. L⁻¹); Extrato de basidiocarpos (estrutura reprodutora de fungos); Extrato de micélio; filtrado de cultura de *P. sanguineus* (fungo), com concentrações de 5 e 10%.

Os tratamentos foram aplicados em quantias de 3 ml na primeira folha trifoliada três dias antes da inoculação do patógeno. A inoculação do patógeno foi realizada na primeira folha trifoliada tratada e na segunda folha trifoliada não tratada, para observar a ocorrência de proteção local ou sistêmica.

Beladeli et al. (2021), realizaram experimentos com os seguintes tratamentos: Testemunha (água); *Trichoderma asperellum* (100 g ha⁻¹ pc); Hidróxido de cobre (100 g ha⁻¹ pc); Trifloxistrobina + Protiocanazol (70 g ha⁻¹ pc); Trifloxistrobina + Tebuconazol (75 g ha⁻¹ pc); Tiofanato + Metílico (70 g ha⁻¹ pc); Piraclostrobina (75 g ha⁻¹ pc); Hidróxido de fentina (250 g ha⁻¹ pc).

Os tratamentos foram aplicados nos estágios V4 (primeiro trifólio) e R6 (floração). Realizadas as avaliações nas fases V3 e V4 (vegetativa) e R7 e R9 (reprodutiva). Realizou-se a separação de folhas e vagens nas plantas em estágio R9, sendo digitalizadas por meio de um escâner com resolução de 300 dpi. (BELEDELI et al., 2021).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados obtidos por Toillier et al. (2010), foram os seguintes: o efeito das concentrações do extrato de *P. sanguineus* (fungo) sobre o crescimento bacteriano de *X. axonopodis* pv. *phaseoli* mostrou que o extrato de micélio estimulou o crescimento da bactéria de forma dose-dependente. O filtrado de *P. sanguineus* a 20% reduziu em 21% o crescimento bacteriano se comparado com o meio de cultura na ausência dos tratamentos. Os extratos de basidiocarpo em 15% e 20% reduziram 91% o crescimento bacteriano, sendo eficaz como o antibiótico. O acibenzolar-S-metil não apresentou atividade antibiótica.

Beladeli et al., (2021) obteve as posteriores resultâncias: plantas pulverizadas com Piraclostrobina e Tiofanato-Metílico demonstraram menor índice de severidade, mas não se diferiram das plantas tratadas com Hidróxido de Fentina, Trifloxistrobina-Tebuconazol, Trifloxistrobina-Tebuconazol, Hidróxido de Cobre e *Trichoderma asperellum* que apresentaram maior severidade da doença. Na avaliação das folhas, plantas pulverizadas com Piraclostrobina, Tiofanato-Metílico e *Trichoderma asperellum* demonstraram uma menor severidade da doença, mas não se diferiram das plantas pulverizadas com Hidróxido de Cobre, Trifloxistrobina-Tebuconazol, TrifloxistrobinaTebuconazol e Hidróxido de Fentina, que apresentaram maior severidade. Em uma terceira avaliação do crescimento bacteriano plantas tratadas com Piraclostrobina apresentaram menor severidade da doença, mas não se diferiu das tratadas com Trifloxistrobina-Tebuconazol, Hidróxido de Cobre, TrifloxistrobinaTebuconazol, Tiofanato-Metílico, Hidróxido de Fentina e *Trichoderma asperellum*. No experimento constatou-se que a aplicação de Hidróxido de cobre, Trifloxistrobina-Protiocanazol, TrifloxistrobinaTebuconazol, Tiofanato-Metílico e Hidróxido de Fentina e Piraclostrobina, demonstrou maior eficácia no controle de crescimento bacteriano e doenças em geral e contribuíram para a preservação do potencial produtivo do feijoeiro.

Para controlar doenças no feijoeiro, é necessária a realização de tratamento de sementes e pulverizações na parte aérea da planta. (VIEIRA et al., 2001 apud BELADELI et al., 2021). De acordo com Silva Neto et al., (2013) é recomendado na parte aérea das plantas a aplicação de produtos como Mancozeb, Carbendazin, Tiofanato metílico-chlorothalonil, Trifenil, Óxido de estanho, acetado de estanho, Chloratalonil, sendo o tratamento de sementes com Captan e Tiofenato metílico. Os fungicidas sistêmicos possuem um efeito curativo no feijoeiro, porém apenas quando são aplicados dois dias após a infecção. (VIEIRA et al., 2001, apud BELADELI et al., 2021).

Alguns produtos como: Hidróxido de cobre, Trifloxistrobina-Protioconazol, Trifloxistrobina Tebuconazol, Tiofanato-Metílico e Hidróxido de Fentina e Piraclostrobina, demonstraram eficácia na preservação do potencial produtivo e controle da doença na cultura de feijão. (BELADELI, et al., 2021).

4 CONCLUSÃO

Com os estudos realizados é possível analisar que o Crestamento Bacteriano Comum é uma enfermidade de difícil controle e que se deve trabalhar de maneira preventiva para evitar perdas na lavoura, eliminando possíveis hospedeiros. Os extratos de basidiocarpo podem ser usados como antibiótico, pois nos testes realizados apresentou grande porcentagem de redução do crescimento da bactéria. Também produtos como Mancozeb, Carbendazin, Tiofanato metílico-chlorothalonil, Trifenil, Óxido de estanho, acetado de estanho, Chloratalonil são aplicados sobre a cultura. Além disso, deve-se adotar tratamentos de sementes eficazes como Captan e Tiofanato metílico. Vale salientar que no máximo até dois dias após a infecção pela bactéria os fungicidas sistêmicos terão efeito curativo e que a escolha de variedades com resistência à enfermidade é uma escolha crucial para regiões com condições susceptíveis à enfermidade.

REFERÊNCIAS

BELADELI, Meiriele Nunes et al. Uso de fungicidas e *Trichoderma asperellum* para o manejo do crestamento do feijoeiro na segunda safra no Paraná. **Researchgate.net**, jul. 2021. DOI:10.34117/bjd7n7-340.

TOILLIER, S.L. et al. CONTROLE DE CRESTAMENTO BACTERIANO COMUM (XANTHOMONA. AXONOPODIS PV. PHASEOLI) E ALTERAÇÕES BIOQUÍMICAS EM FEJJOEIRO INDUZIDAS POR PYCNOPORUS SANGUINEUS. **Scielo.br**, 2010.



CONTROLE BIOLÓGICO DE ALTERNARIA SP. COM TRICHODERMA SP. M1C E BACILLUS VELEZENSIS S26: UMA ESTRATÉGIA PROMISSORA PARA O MANEJO DE DOENÇAS EM TOMATE

LETÍCIA VIGANÓ; CARINE CRISTINA SERAFIM MATTOS; WILLIAN BORGES DA SILVA;
LUCIANA BAVARESCO ANDRADE TOUGUINHA; JOSÉLI SCHWAMBACH

Introdução: O tomate é a hortaliça mais consumida no Brasil, porém apresenta a incidência de mais de 200 doenças e pragas. Dentre as doenças que atacam essa cultura, destaca-se a pinta-preta causada por espécies do fungo *Alternaria* sp.. Não existindo cultivares resistentes a essa doença e a ampla utilização de fungicidas, busca-se produtos mais sustentáveis para combater esses fitopatógenos, como os bioagentes *Trichoderma* e *Bacillus*. **Objetivos:** Avaliar o potencial de controle do fungo fitopatogênico *Alternaria* sp. com *Bacillus velezensis* S26 (S26) e *Trichoderma* sp. M1C (M1C) e testar a compatibilidade entre os bioagentes. **Metodologia:** Utilizando o método de cultura pareada avaliou-se a ação antagônica dos bioagentes contra o fitopatógeno. Para a ação de M1C, um disco micelial do fitopatógeno foi transferido para placas de Petri com meio BDA, a 2 cm da borda da placa, e na posição oposta foi transferido o disco micelial de M1C. Para a ação de S26 contra o patógeno foi colocado o disco do fitopatógeno no centro da placa e a suspensão celular de *B. velezensis* foi aplicada em quatro pontos equidistantes com 20 uL. Para avaliar o filtrado de S26, foi distribuído 100 uL sobre a superfície do meio BDA e depois transferido o disco micelial do fitopatógeno para o centro da placa. Para observar a interação entre os bioagentes foram realizados o teste de cultura pareada e filtrado descritos anteriormente. Os ensaios foram mantidos em incubadora de crescimento durante 14 dias a 25 °C/12. Foram realizadas medições ortogonais do diâmetro do 3º ao 14º dia. Os parâmetros avaliados foram a porcentagem de inibição e o índice de velocidade de crescimento micelial (IVCM). **Resultados:** Os bioagentes inibiram o crescimento do fitopatógeno e o IVCM, com destaque para a redução do IVCM pela suspensão bacteriana. Na interação entre os bioagentes, o filtrado de S26 não alterou o desenvolvimento de M1C, porém a suspensão bacteriana limitou o crescimento micelial de M1C até a borda da colônia bacteriana. **Conclusão:** Os bioagentes inibiram o patógeno em mais de 39% e seu uso é promissor no controle da pinta preta em tomateiros, podendo ser consorciado o uso de ambos.

Palavras-chave: Antagonismo, Bioagente, Biocontrole, Fitopatógeno, Pinta-preta.



CONTROLE DO *ASPERGILLUS WELWITSCHIAE*, CAUSADOR DA PODRIDÃO VERMELHA DO SISAL, COM O EXTRATO DE CASCAS DO CANSANÇÃO DE FAVELA (*CNIDOSCOLUS QUERCIFOLIUS*)

LETÍCIA LIMA CARNEIRO; IZABEL MOTA PEREIRA GOMES; RAFAEL MOTA DA SILVA

RESUMO

A *Agave Sisalana*, planta intensamente cultivada em diversas regiões do Semiárido Brasileiro, pode ter sua produção afetada pela doença fitossanitária causada pelo fungo *Aspergillus welwitschiae*, que atribui a mesma a característica de “podridão vermelha do sisal”. O Cansanção de Favela (*Cnidoscopus quercifolius*), espécie vegetal presente na Região Sisaleira tem bioatividade analgésica e anti-inflamatória, por exemplo, influenciada por produção de metabólitos secundários. Desse modo, objetivou-se, a partir deste experimento, avaliar e verificar o potencial do extrato de *Cnidoscopus quercifolius* na inibição do crescimento micelial do fungo *A. welwitschiae*. O estudo e experimento para efetuação da pesquisa classifica-se como experimental, e nela foi realizada a inoculação do fungo em meios de cultura com concentrações de 7,5%, 15%, 30% e 60% do extrato de cascas da amostra; e assim efetuar a análise com 3 medições com intervalo de 48 horas. Obteve-se como resultado a inibição progressista conforme aumento do extrato: na concentração de 7,5%, inibiu-se 58,7%, e em 15%, houve inibição de 63,32%, por fim, houve 100% de inibição nas concentrações de 30% e 60% dessa solução. Referente ao crescimento micelial em diâmetro, em 7,5% obteve-se 2,79cm, e em 15% o crescimento foi definido em 2,46cm, em 30% e 60% não houve mudança. Diante do exposto, o fácil acesso na Região Sisaleira e a propriedade observada no *Cnidoscopus quercifolius* como potencial para inibição fúngica, contribuem como possível resolução perante ao problema exposto.

Palavras-chave: fitossanitária; produção; potencial; inibição.

1 INTRODUÇÃO

A planta de Sisal (*Agave Sisalana*), nativa da América Central, é cultivada em diversas regiões do Semiárido Brasileiro, com destaque para o estado da Bahia. A Região Sisaleira, presente no estado mencionado, abrange 20 municípios, atribuindo ênfase a Conceição do Coité e Valente — principais produtores (Lima, 2021).

A *Agave Sisalana*, pertencente à ordem das *Liliales* e família *Asparagaceae* tem como utilização principal o desfibramento de suas folhas para a indústria têxtil, onde os fios são usados na fabricação de redes, carpetes e tapetes. No entanto, apenas uma pequena parte, cerca de 4% da planta, é aproveitada nesse processo, resultando em uma quantidade significativa de resíduos que são descartados no ambiente. É importante ressaltar que esses resíduos têm potenciais aplicações industriais que vão além do setor têxtil, como produção de biosurfactantes (Generoso, 2021).

Considerando a imprescindibilidade da produção do Sisal para a economia da região, fatores que afetam essa manufatura, como a “podridão vermelha do sisal” causada pelo fungo *Aspergillus welwitschiae*, principal problema fitossanitário que afeta essa planta no

Brasil e com prevalência e incidência de 100% e 35% respectivamente, torna-se agente alarmante (Duarte *et al*, 2018).

Outra espécie vegetal que é ressaltada no bioma Caatinga, exclusivamente brasileiro e com grande biodiversidade, trata-se do Cansanção de Favela (*Cnidoscopus quercifolius*) que apresenta potencial em propriedades analgésicas, antibióticas, anti-inflamatórias, cicatrizantes e diuréticas. As bioatividades atribuídas podem ser relacionadas com a produção de metabólitos secundários desta espécie, condicionada pelo bioma em que está localizada (Novaes *et al*, 2021).

Deste modo, a pesquisa teve como objetivo avaliar o potencial do extrato de cascas do Cansanção de Favela (*Cnidoscopus quercifolius*) como inibidor do crescimento micelial do fungo *A. welwitschiae*, responsável pela “podridão vermelha do sisal”.

2 MATERIAL E MÉTODOS

Para a produção e verificação do experimento objetivado, foram realizados cinco tratamentos, quatro deles em diferentes concentrações do extrato de *Cnidoscopus quercifolius* e um para servir de controle durante a pesquisa. Em virtude de obter-se o extrato de *Cnidoscopus quercifolius*, foram separadas cascas da planta e imersas em 400ml de solução hidroalcoólica à 50% (1:1). Posteriormente à maceração e abrigo da luz solar por um período de 3 dias, a solução extraída foi coada em filtro de papel com auxílio de um funil e armazenada em um Erlenmeyer de 500 ml.

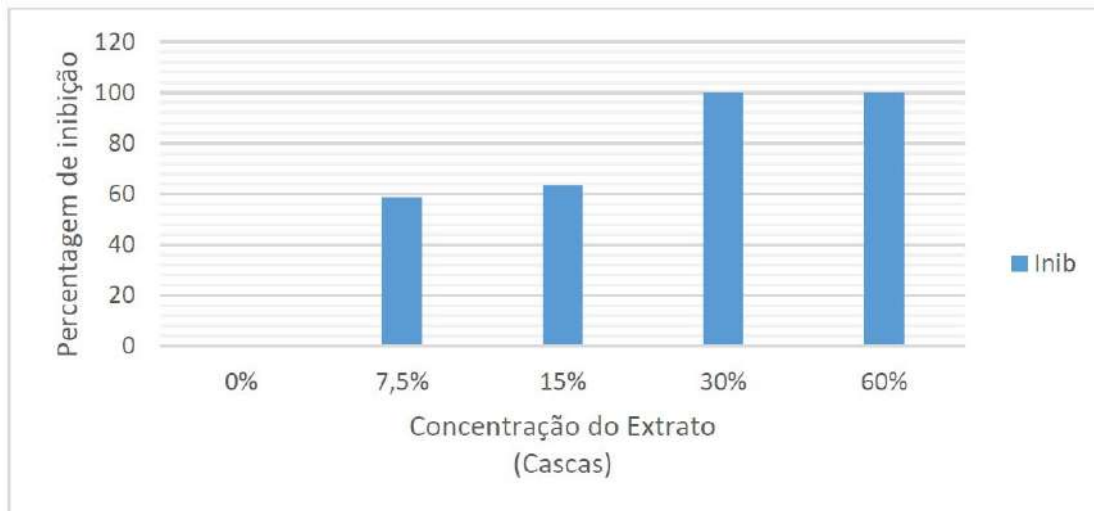
No preparo do meio de cultura, onde o extrato seria depositado em função de avaliar seu crescimento, foram utilizados 3,12g de meio BDA (Ágar Batata Dextrose) com adição de 0,5g de Ágar em um Erlenmeyer de 125ml para cada concentração e com as referidas quantidades de água destilada necessárias. No Tratamento 1, com concentração de 7,5%, foi adicionado 6ml de extrato e 74ml de água destilada; Tratamento 2, concentração de 15%, possuiu 12ml de extrato e 68ml de água destilada; Tratamento 3, obteve-se a concentração de 30%, onde o extrato representava 24ml e a água destilada 56ml; na última concentração, definida em 60%, o Tratamento 4, foi obtido com 48ml de extrato e 32ml de água destilada. O controle, último tratamento realizado, classificou-se em 0%, pela ausência do extrato e adição exclusiva dos 80ml de água destilada. Posteriormente, foi feita a evaporação do Álcool com 240ml da solução hidroalcoólica, com o objetivo de reduzir o volume pela metade, 120 ml, retirando, assim, o álcool do extrato; desse modo, podendo adicioná-lo ao meio de cultura.

Após a autoclavagem dos meios de cultura, procedeu-se à distribuição em placas de Petri de acordo com a quantidade prescrita para cada tratamento mencionado anteriormente, sendo três placas de Petri designadas para cada tratamento. A fim de evitar contaminação, todos os meios foram vertidos dentro da câmara de fluxo laminar, e, em seguida, o fungo *A. welwitschiae* foi inoculado em suas respectivas concentrações. O método de inoculação consistiu em retirar discos do fungo, que havia sido previamente inoculado em uma placa sem extrato, com uma alça de platina e, desse modo, transferiu um disco para cada placa de Petri que foi preparada anteriormente. Em seguida, as placas foram fechadas com papel filme e identificadas por tratamento e repetição, a fim de facilitar a verificação do período de incubação.

Sendo assim, a cada 48 horas, foram realizadas as medições do crescimento micelial do fungo na presença do extrato, totalizando 3 medições do diâmetro ao fim do experimento.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

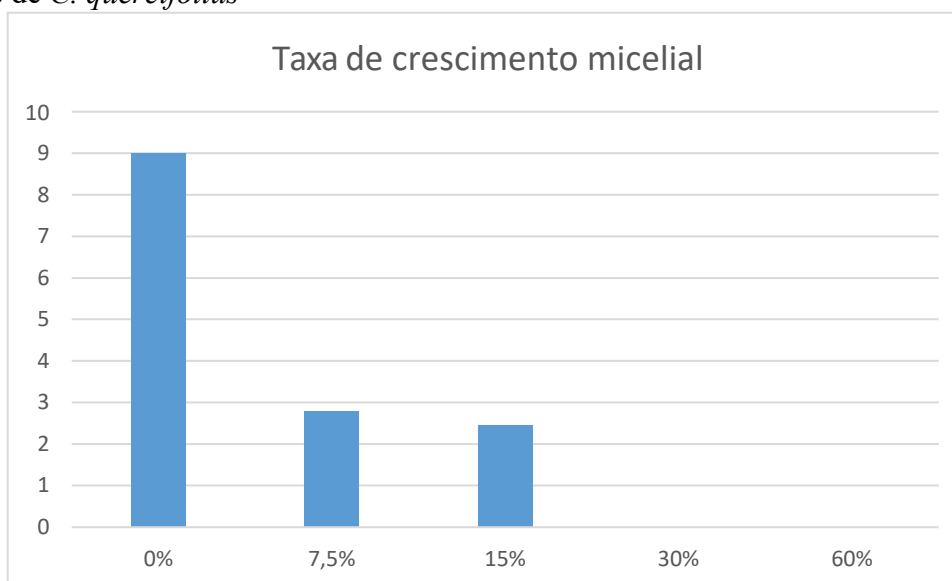
Gráfico 1: Porcentagem de inibição do fungo *A. welwitschiae* em diferentes concentrações do extrato de cascas de *C. quercifolius*



Com base nos dados apresentados no Gráfico 1, é possível destacar a porcentagem de inibição do fungo *A. welwitschiae* nas diferentes concentrações do experimento utilizando as cascas de *C. quercifolius*. É válido ressaltar a progressão da inibição conforme aumento da concentração: 58,70 na concentração de 7,5% e 63,52 em 15%, até a total inibição fúngica nas concentrações 30% e 60%.

Conforme Da Silva (2014), o extrato hidroalcolólico de folhas de Juá (*Ziziphus joazeiro mart*) no controle do fungo *A. niger* foi mais favorável nas concentrações 20% (200mg/L) e 40% (400mg/L) com percentual de 56,2% na concentração maior. As concentrações inferiores (2,5%; 5% e 10%) não causaram inibição. Desse modo, é possível perceber que o extrato das cascas de *C. quercifolius* apresentou maior potencial inibitório em comparação com as folhas de Juá, atingindo o 100% de inibição em uma concentração inferior (30%).

Gráfico 2: Diâmetro da colônia do *A. welwitschiae* em diferentes concentrações do extrato de de cascas de *C. quercifolius*



Para a avaliação do crescimento micelial, houve a medição do diâmetro nas placas. Conforme o Gráfico 2, e seguindo a lógica de inibição, com o aumento da concentração a

diminuição do crescimento foi proporcional, obtendo 2,79cm de diâmetro em 7,5% e 2,46cm de diâmetro em 15%. Por haver inibição total em 30% e 60%, estes não apresentaram crescimento micelial.

4 CONCLUSÃO

Mediante o exposto, é evidente o potencial que o extrato de cascas de *Cnidocolus quercifolius* possui, apresentando rendimento esperado e inibição completa do crescimento micelial do fungo *A. welwitschiae*, causador da “podridão vermelha do Sisal”. Destaca-se também a disponibilidade e fácil acesso a esta espécie vegetal na Região Sisaleira, fator que contribui para uma possível resolução do problema fitossanitário que afeta o Sisal (*Agave Sisalana*) e conseqüentemente sua produção.

Entretanto, visa-se necessário uma ampliação na pesquisa para testes *in vivo* com este extrato, sendo realizado apenas os *in vitro* até o presente momento. Além disso, para uma melhor exatidão, poderia haver uma verificação no intervalo entre 15% e 30%, em virtude de determinar se seria possível a inibição completa em alguma concentração entre estes.

REFERÊNCIAS

DA SILVA, R. M. Extrato de folhas de Juá (*ziziphus joazeiro mart*): atividade antioxidante, antibacteriana, antifúngica e controle da podridão vermelha do Sisal. Bahia: Universidade Federal do Recôncavo da Bahia – **UFRB**, 2014.

DUARTE, E. A. A; DAMASCENO, C. L; DE OLIVEIRA, T. A. S; BARBOSA, L. O; MARTINS, F. M; DE QUEIROZ SILVA, J. R; DE LIMA T. E. F; DA SILVA, R. M; KATO, R. B; BORTOLINI, D. E; AZEVEDO, V; GÓES-NETO, A; SOARES, A. C. F. **Putting the Mess in Order: *Aspergillus welwitschiae* (and Not *A. niger*) Is the Etiological Agent of Sisal Bole Rot Disease in Brazil.** Front Microbiol, 2018. Disponível em: Putting the Mess in Order: *Aspergillus welwitschiae* (and Not *A. niger*) Is the Etiological Agent of Sisal Bole Rot Disease in Brazil - PubMed (nih.gov). Acesso em: 10 fev. 24.

GENEROSO, G. B. Análise do potencial biotecnológico dos resíduos industriais de sisal: uma revisão. São Paulo: Universidade Federal de São Carlos - UFSCAR, 2021. Disponível em: TCC Gabriel Generoso - FINAL-convertido.pdf (ufscar.br). Acesso em: 10 fev. 24.

LIMA, R. Potencial de controle preventivo da Podridão vermelha do Sisal na produção de mudas com aplicação de óleos essenciais e hidrolato de *Lippia alba* (Mill.) N. E. Brown. Bahia: Universidade Federal do Recôncavo da Bahia – **UFRB**, 2021. Disponível em: TESE_PPGCA_-_PPGCAG_-_Renata_de_Lima.pdf (ufrb.edu.br). Acesso em: 10 fev. 24.

NOVAES, T; NOVAES, A; GLUSCZAK, L; VILARINHO, L. Potenciais medicinais da faveleira (*Cnidocolus quercifolius*) e seus usos na saúde humana: uma breve revisão. Research, Society and Development, 2021. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/349545307_Potenciais_medicinais_da_faveleira_Cnidocolus_quercifolius_e_seus_usos_na_saude_humana_uma_breve_revisao. Acesso em: 10 fev. 24



CUTINASES FÚNGICAS DE INTERESSE BIOTECNOLÓGICO: UMA ABORDAGEM SUSTENTÁVEL PARA O GERENCIAMENTO DE RESÍDUOS PLÁSTICOS

PAULA MARIA CARNEIRO ROCHA; JULIA THAYS KAVA MARTINS; WALLISON JUSTINO DA SILVA; RITA DE CASSIA GARCIA SIMÃO; MARINA KIMIKO KADOWAKI

RESUMO

As Cutinases são as enzimas responsáveis pela degradação da Cutina, um polímero insolúvel com estrutura de C16-C18, ligadas entre si por ligações éster. São presentes no revestimento das partes aéreas das plantas e de seus frutos, atuando como uma barreira física contra patógenos. Podem ser obtidas através de plantas, bactérias ou fungos e são utilizadas em vários setores industriais, como no setor têxtil, atuando no biopolimento das fibras de algodão, na indústria alimentícia como flavorizantes, na indústria química como detergentes tão eficientes quanto as Lipases e na degradação de polímeros sintéticos de poliéster. Alguns polímeros sintéticos como o Polietileno Tereftalato (PET) possuem ligações éster entre seus monômeros, o que possibilita sua hidrólise por ação da enzima Cutinase. Este trabalho teve como objetivo analisar o potencial de produção da enzima Cutinase a partir dos microrganismos presentes na micoteca do LaBioqMol da Universidade Estadual do Oeste do Paraná, *campus* Cascavel, Paraná. Inicialmente selecionaram-se 13 fungos para avaliação da produção de esterase em cultivo em placa onde *A. niger* e *A. aculeatus* apresentaram melhor desenvolvimento. Os dois microrganismos selecionados para o cultivo com plásticos apresentaram capacidade de adesão a superfície do polímero em análise (filme de poliéster- FP), indicando a formação de um biofilme com 5 dias de cultivo. Quanto a atividade enzimática relacionada aos cultivos com plásticos como única fonte de carbono, *A. niger* apresentou os melhores resultados nas condições analisadas, porém em ambos os cultivos, não se observou perda significativa de peso molecular dos plásticos em análise.

Palavras-chave: Biotecnologia; Biodegradação; Polímeros sintéticos; Enzimas.

1 INTRODUÇÃO

Os últimos 20 anos de produção e mal despojamento desses resíduos sólidos, somados a sua principal característica, a durabilidade, tem causado preocupação quanto ao seu acúmulo nos rios, mares, solo e ar (PERTUSSATTI, 2020). Estima-se que a produção global de plástico sintético até 2050 será de aproximadamente 1800 milhões de toneladas e dessas, aproximadamente 1200 milhões de toneladas estarão dispersas no meio ambiente (SÁNCHEZ, 2020).

Os plásticos de uso cotidiano são divididos em dois grandes grupos baseado em suas características de fusibilidade (BARBOSA, 2011). Os termoplásticos apresentam capacidade de serem moldados mais de uma vez sob condições elevadas de temperatura e pressão (SOUZA; CARO; MACHADO, 2019); já os termorrígidos, quando aquecidos não se tornam líquidos e viscosos, impedindo sua remodelação pois apresentam ponto de fusão inferior à sua temperatura de amolecimento (SILVA et al., 2022) e é exatamente essa característica que

limita a reciclagem dos materiais plásticos.

1.1 Biodegradação de polímeros sintéticos por enzimas fúngicas

A biodegradação parte do uso de microrganismos para degradação e transformação de compostos orgânicos em compostos menos complexos e mais facilmente degradáveis, com intuito de se chegar a sua completa despolimerização (CHANDRA; RUSTGI, 1998). Algumas espécies de fungos apresentam complexos enzimáticos únicos, capazes de degradar materiais presentes na estrutura dos polímeros sintéticos (FARIA; WISBECK; DIAS, 2015), levando a cisão da cadeia polimérica e induzindo a perda das propriedades químicas e físicas, como a alteração da estrutura molecular polimérica, facilitando sua assimilação como fonte de carbono para o microrganismo (BENTO et al., 2003).

Segundo (FLEMMING, 1998), a biodegradação ocorre inicialmente pela adesão dos microrganismos a superfície do polímero pela formação dos Biofilmes. Microrganismos agregados aos biofilmes apresentam algumas particularidades em relação aos de vida livre. A presença da matriz polimérica, produzida pelos microrganismos presentes no biofilme, consiste basicamente em um mix entre polissacarídeos, lipídeos, enzimas, proteínas e ácidos nucleicos. Os biofilmes favorecem as condições de sobrevivência dos microrganismos (CLOETE et al., 2009; FLEMMING, 1998), garantindo adesão e coesão à superfície, estabilidade mecânica, proteção e adaptação ao estresse ambiental (RATHER et al., 2021).

As principais enzimas fúngicas capazes de degradar a estrutura polimérica dos plásticos são as Carboxilesterases (E.C 3.1.1.1), Lipases (E.C 3.1.1.3) e as Cutinases (E.C 1.1.74), porém Cutinases dentre as outras serina hidrolases foram as que apresentaram melhor potencial de hidrólise de PET devido a sua habilidade de hidrolisar polímeros sintéticos de alto peso molecular em sua forma monomérica (AHMADITABATABAEI et al., 2021; CARR; CLARKE; DOBSON, 2020; DANSO; CHOW; STREITA, 2019; ODA, 2021; SÁNCHEZ, 2020).

1.2 Cutinases

Cutinases (E. C 3.1.1.74) são enzimas extracelulares secretadas por fungos fitopatogênicos para degradação da cutina, facilitando a entrada do microrganismo na cutícula da planta, levando a quebra de sua parede celular (ALTAMMAR et al., 2022). São enzimas capazes de catalisar a quebra das ligações éster presentes na Cutina que hidrolisam diferentes substratos, favorecendo sua aplicabilidade para além de seu propósito natural (CHEN et al., 2008, 2013). Pertencentes a superfamília α/β -hidrolase, são classificadas como pequenas serina esterases que atuam em substratos solúveis em água. Já as lipases, exibem ativação interfacial e necessitam da interface água/óleo para a sua atividade (CHEN et al., 2008; JOHNSON et al., 2021).

No setor Têxtil, atuam no biopolimento de tecidos, apresentando menor consumo de energia, menor custo de produção e baixas taxas de resíduos (CHEN et al., 2013; NYSSÖLÄ, 2015; TELES; CABRAL; SANTOS, 2001). Na indústria alimentícia como saborizantes de frutas. Atuam como biocatalisadores com alta especificidade e seletividade, permitindo que as reações aconteçam a temperaturas mais brandas, eliminando subprodutos e garantindo um produto final sem misturas racêmicas (DE BARROS et al., 2009). Também são usadas na indústria de detergentes e lavanderias, por apresentarem estabilidade em uma ampla faixa de temperaturas, variando de 20 °C a 50 °C e pH entre 8-10 (DUTTA; SEN; VEERANKI, 2009). Já no setor de laticínios e derivados, Cutinases podem mediar, na presença de baixos volumes de água, a transesterificação de óleos e gorduras, bem como a esterificação estereosseletiva de álcoois (ALVES MACEDO; FONTES PIO, 2005).

Recentemente a aplicação das cutinases na degradação de polímeros sintéticos que apresentem ligações éster em sua estrutura polimérica tem sido estudada. Considerando o

dano causado ao meio ambiente e a toda a cadeia alimentar pela poluição dos polímeros sintéticos derivados do petróleo, faz-se necessária a busca por novas formas de obtenção de plásticos, como os bioplásticos, produzidos por fontes renováveis e biodegradáveis. Também, persiste a necessidade de se encontrar maneiras eficazes e de baixo custo para degradação parcial e/ou total dos resíduos plásticos já existentes. A biodegradação com enzimas fúngicas como forma de biorremediação apresenta-se como uma opção viável, porém ainda pouco explorada.

Este trabalho teve como objetivo a investigação dos microrganismos produtores de Cutinases dos fungos filamentosos presentes na micoteca do LaBioqMol da UNIOESTE de Cascavel-PR, analisando-se também seu comportamento na presença exclusiva de alguns polímeros sintéticos.

2 MATERIAIS E MÉTODOS

Para avaliação do potencial enzimático das linhagens o meio de cultivo foi estabelecido baseado no estudo de otimização realizado por PIO e MACEDO (2007). Os cultivos líquidos foram realizados em frascos Erlenmeyer de 150 mL contendo 30 mL de meio líquido cada. Foram inoculados em cada frasco 1 mL de solução de esporos de cada linhagem testada. Em cada Erlenmeyer também foram adicionados 1% dos plásticos de diferentes pesos moleculares analisados – Filme de Poliéster (FP), PET, PP e HDPE. Os cultivos foram estacionários durante 15 dias a 30°C.

PET, PP e HDPE foram obtidos em um mercado local da cidade de Cascavel- PR e o filme de poliéster (FP) através da empresa Sigma Aldrich®. Os plásticos PET, HDPE e o PP foram cortadas com tamanho médio de 1x1cm, imersos em álcool 70% por 1 hora. Decorrido o tempo estabelecido, os fragmentos de PET, HDPE e PP foram lavados 3 vezes com água destilada para completa limpeza de qualquer resíduo do etanol. Os plásticos foram então acondicionados em estufa ventilada a 55°C por 1 hora até estarem completamente secos e esterilizados com radiação UV. Neste processo, todos os plásticos foram submetidos a 5 ciclos de 20 minutos cada.

A determinação da atividade enzimática, foi realizada a partir dos extratos brutos extracelulares diários de cada cultivo. A atividade enzimática de todos os cultivos foram realizadas segundo o método espectrofotométrico da hidrólise de p- nitrofenilbutirato (p-NPB) (PIO; MACEDO, 2009). O substrato utilizado para a reação parte da mistura de Tetrahydrofurano (THF) 0,43M, Triton X-100 0,2% e p-NPB 1,12mM em tampão fosfato 50 mM pH 7,2 até completar o volume de 50 mL. Uma alíquota de 3,43 mL do substrato foi adicionada a 70 µL da amostra do extrato bruto, reagindo por 15 min a 30 °C contra o branco (substrato + meio de cultivo sem a presença do fungo). Decorridos os 15 minutos, a absorbância foi determinada por espectrofotômetro a 405 nm (KOLATTUKUDY, 1985).

A quantificação das proteínas foi realizada de acordo com a metodologia de Bradford (1976), utilizando albumina de soro bovino (BSA) como padrão. A concentração proteica foi expressa em mg de proteína por mL de amostra.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

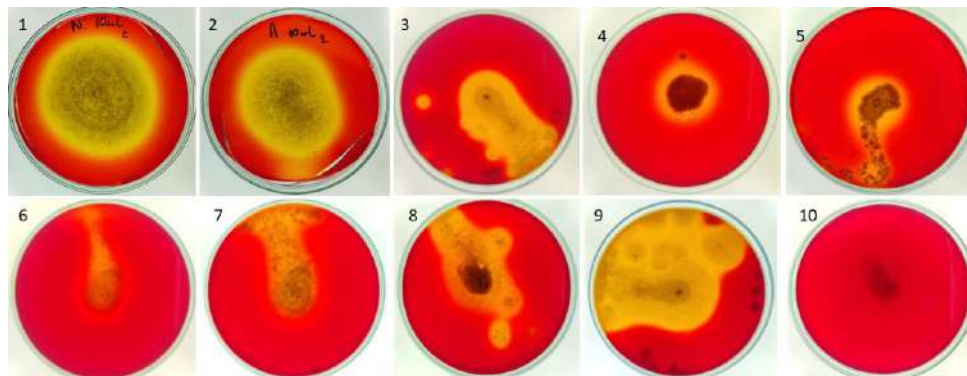
3.1 Seleção dos fungos produtores de Cutinase pela avaliação de seu potencial esterásico

A figura 2 mostra as linhagens que apresentaram formação do halo de hidrólise ocasionada pela produção de esterase com 72 horas de cultivo a 28 °C. As linhagens que não apresentaram a formação de halo não foram apresentadas. Os fungos *A. niger* e *A. aculeatus* apresentaram o melhor crescimento do halo de hidrólise em função do tempo, sendo estes selecionados para as próximas etapas.

Trabalhos como o de CHEN et al., 2013; KIM; RHEE, 2003; LIANG; ZOU, 2022;

QAMAR; ALI, 2021 mostram que o gênero *Aspergillus* em geral possui um grande potencial para produção de cutinases, por serem fungos encontrados em uma vasta gama de substratos, seu arsenal enzimático contempla as mais diversas categorias enzimáticas (DA SILVA et al., 2015).

Figura 1 Formação do halo de esterase positiva. 1. *Aspergillus niger* 2. *Aspergillus aculeatus* 3. *Aspergillus fumigatus* 4. *Aspergillus crysogenum* 5. *Trichoderma longibrachiatum* 6. *Aspergillus crustosum* 7. *Aspergillus flavus* 8. *Aspergillus versicolor* 9. *Hypocrea lixii*. 10. Controle negativo (glucose como fonte indutora). Avaliação da despolimerização dos polímeros sintéticos por Cutinases do extrato bruto



Fonte: acervo pessoal da autora.

3.1.1 Filme de poliéster (FP)

Para que se pudesse avaliar a capacidade fúngica de assimilação do poliéster como fonte de carbono, este cultivo foi conduzido sem a adição da glicose, utilizando-se o meio de cultivo líquido descrito no item 3.4, porém com adição de filmes de poliéster a 1% (v/v).

Após o tempo de cultivo determinado, os filmes de poliéster foram pesados para verificar se houve perda de massa em decorrência de sua despolimerização, porém os resultados não foram significativos ($p > 0,05$). Apesar de não se observar perda significativa de massa molecular durante o tempo estabelecido, os cultivos com *A. niger* e *A. aculeatus* apresentaram adesão à superfície do filme com apenas 5 dias de cultivo e atividade Cutinolítica de $3,45 \text{ U mL}^{-1}$ e $3,73 \text{ U mL}^{-1}$ respectivamente com 20 dias de cultivo.

A adesão à superfície indica que o fungo foi capaz de assimilar o filme de poliéster como suporte direto para seu crescimento e excreção de enzimas, caracterizando a formação de um biofilme, que segundo FLEMMING, 1998, é a primeira etapa necessária para a biodegradação de um polímero sintético. Semelhante a este estudo, (VIVI; MARTINS-FRANCHETTI; ATTILI-ANGELIS, 2019) relataram que o fungo *Chaetomium globosum* (ATCC 16021) apresentou adesão a superfície de filme de PVC com 28 dias de cultivo em meio sólido, porém com perda de peso molecular de até 70%.

3.1.2 Polietileno tereftalato (PET)

Quanto a produção cutinolítica frente ao polímero sintético PET, os resultados foram mais expressivos nos cultivos com *A. niger*, com atividade enzimática máxima de $11,92 \text{ U mL}^{-1}$ com 5 dias de cultivo. A atividade enzimática de *A. aculeatus* apresentou-se inexpressiva, com valores próximos a zero ($0,05 \text{ U mL}^{-1}$) com o mesmo tempo de cultivo. Alguns estudos relatam resultados similares quanto a atividade enzimática de *A. niger* quando adicionado a cultivos com PET, como o de ION et al., 2021 que relataram a conversão de 84% de PET em seu monômero BHET (bis(2- hydroxyethyl) tereftalato) com apenas 24 horas de cultivo.

A despolimerização de PET por enzimas fúngicas acontece primariamente pela quebra da ligação éster presente em sua estrutura, que pode ser hidrolisada por Lipases, Cutinases e Esterases. Porém, o PET apresenta uma alta resistência a despolimerização por apresentar natureza hidrofóbica, alto peso molecular, longas cadeias carbônicas, baixo percentual de grupos funcionais reconhecidos pelas enzimas e uma alta proporção de unidades de tereftalato aromático, que reduzem a flexibilidade das cadeias poliméricas limitando a degradação enzimática (VIVI; MARTINS-FRANCHETTI; ATTILI-ANGELIS, 2019).

3.1.3 Polipropileno (PP)

Os resultados obtidos quanto a biodegradação de Polipropileno se assemelha muito aos encontrados com PET. *A. niger* apresentou maior eficiência enzimática com uma produção de $8,51 \text{ U mL}^{-1}$ enquanto *A. aculeatus* apresenta atividade próxima de zero $0,08 \text{ U mL}^{-1}$. Diferente dos cultivos anteriores, neste caso não houve adesão a superfície do polímero pelo fungo, o que pode ser justificado pela sua recalcitrância.

Como todos os polímeros sintéticos, o Polipropileno apresenta alta hidrofobicidade inerente a sua estrutura, o que dificulta a adesão fungo-plástico. Somado a estes fatores, são encontrados em PP altas concentrações de plastificantes, aditivos com a finalidade de suavizar o produto, aumentando sua flexibilidade. CACCIARI et al. (1993) conduziu um estudo com microrganismos coletados do solo de 15 diferentes locais de deposição de plásticos. Os cultivos foram conduzidos por 175 dias e apresentaram perda de 40% do peso molecular inicial, contudo 90% desta redução foi atrelada a perda de plastificantes adicionados a superfície do PP e apenas 10% representam a perda de hidrocarbonetos inerentes a estrutura polimérica do PP.

OJHA et al. (2017), isolaram fungos presente no solo de um depósito de lixo e relataram que os fungos *Penicillium oxalicum* e *Penicillium chrysogenum* são capazes de degradar HDPE e LDPE. Os cultivos foram conduzidos por 90 dias com coletas realizadas nos dias 30, 60 e 90. *Penicillium chrysogenum* apresentou aos 90 dias de cultivo uma redução de 58,6% do peso inicial de HDPE e *Penicillium oxalicum* com o mesmo tempo de cultivo apresentou redução de 55,3%. Esses resultados foram confirmados por MEV e FTIR. As análises de MEV mostram adesão a superfície do HDPE e formação de biofilme por ambos os fungos com 15 e 30 dias de cultivo e mudanças estruturais como rachaduras, poros, danificação e rugosidade da superfície com 45, 60 e 90 dias de incubação.

4 CONCLUSÃO

A biodegradação de polímeros sintéticos por meio de enzimas fúngicas pode ser considerada como uma forma alternativa biologicamente viável para o problema da má disposição dos resíduos sólidos, porém mais estudos são necessários para que se possa aumentar sua efetividade, tanto em condições laboratoriais quanto em condições ambientais.

Além da caracterização bioquímica da enzima, mais ensaios quanto as condições de cultivo são necessárias para que se possa otimizar a produção cutinolítica e consequentemente, a despolimerização dos materiais sintéticos.

REFERÊNCIAS

AHMADITABATABAEI, S. et al. Fungal Enzymes as Catalytic Tools for Polyethylene Terephthalate (PET) Degradation. 2021.

ALTAMMAR, K. A. et al. Characterization of AnCUT3, a plastic-degrading paucimannose cutinase from *Aspergillus niger* expressed in *Pichia pastoris*. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 222, n. PB, p. 2353–2367, 2022.

ALVES MACEDO, G.; FONTES PIO, T. a Rapid Screening Method for Cutinase Producing Microorganisms. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 36, p. 388–394, 2005.

CACCIARI, I. et al. Isotactic polypropylene biodegradation by a microbial community: Physicochemical characterization of metabolites produced. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 59, n. 11, p. 3695–3700, 1993.

CARR, C. M.; CLARKE, D. J.; DOBSON, A. D. W. Microbial Polyethylene Terephthalate Hydrolases: Current and Future Perspectives. **Frontiers in Microbiology**, v. 11, n. November 2020, p. 1–23, 2020.

CHANDRA, R.; RUSTGI, R. BIODEGRADABLE POLYMERS. **Science**, v. 23, n. 97, p. 1273–1335, 1998.

CHEN, S. et al. Identification and characterization of bacterial cutinase. **Journal of Biological Chemistry**, v. 283, n. 38, p. 25854–25862, 2008.

CHEN, S. et al. Cutinase: Characteristics, preparation, and application. **Biotechnology Advances**, v. 31, n. 8, p. 1754–1767, 2013.

CLOETE, E. et al. Biofilms in the food and beverage industries: An introduction. **Biofilms in the Food and Beverage Industries**, p. 3–41, 2009.

DA SILVA, F. C. et al. Taxonomia Polifásica Para Identificação De Aspergillus Seção Flavi: Uma Revisão. **Revista Ifes Ciência**, v. 1, n. 1, p. 18–40, 2015.

DANSO, D.; CHOW, J.; STREITA, W. R. Plastics: Environmental and biotechnological perspectives on microbial degradation. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 85, n. 19, 2019.

DE BARROS, D. P. C. et al. Synthesis of alkyl esters by cutinase in miniemulsion and organic solvent media. **Biotechnology Journal**, v. 4, n. 5, p. 674–683, 2009.

DUTTA, K.; SEN, S.; VEERANKI, V. D. Production, characterization and applications of microbial cutinases. **Process Biochemistry**, v. 44, n. 2, p. 127–134, 2009.

FLEMMING, H. C. Relevance of biofilms for the biodeterioration of surfaces of polymeric materials. **Polymer Degradation and Stability**, v. 59, n. 1–3, p. 309–315, 1998.

ION, S. et al. Sequential biocatalytic decomposition of BHET as valuable intermediary of PET recycling strategy. **Catalysis Today**, v. 366, n. December 2019, p. 177–184, 2021.

JOHNSON, A. N. et al. Current progress towards understanding the biodegradation of synthetic condensation polymers with active hydrolases. **Polymer International**, v. 70, n. 7, p. 977–983, 2021.

KIM, D. Y.; RHEE, Y. H. Biodegradation of microbial and synthetic polyesters by fungi. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 61, n. 4, p. 300–308, 2003.

KOLATTUKUDY, P. E. Plant Cuticle By Fungal. **Ann. Rev. Phytopathol.**, v. 23, n. 49, p. 223–50, 1985.

LIANG, X.; ZOU, H. Biotechnological Application of Cutinase: A Powerful Tool in Synthetic Biology. **SynBio**, v. 1, n. 1, p. 54–64, 2022.

NYSSÖLÄ, A. Which properties of cutinases are important for applications? **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 99, n. 12, p. 4931–4942, 2015.

ODA, M. Structural basis for Ca²⁺-dependent catalysis of a cutinase-like enzyme and its engineering: application to enzymatic PET depolymerization. **Biophysics and physicobiology**, v. 18, p. 168–176, 2021.

OJHA, N. et al. Evaluation of HDPE and LDPE degradation by fungus, implemented by statistical optimization. **Scientific Reports**, v. 7, n. January, p. 1–13, 2017.

PIO, T. F.; MACEDO, G. A. **Chapter 4 Cutinases: Properties and Industrial Applications**. 1. ed. [s.l.] Elsevier Inc., 2009. v. 66

QAMAR, H.; ALI, S. Review on Production and Purification of Microbial Cutinase for Biotechnological Applications. **International Journal of Biology and Biotechnology**, v. 18, n. 1, p. 83–91, 2021.

RATHER, M. A. et al. Microbial biofilm: A matter of grave concern for human health and food industry. **Journal of Basic Microbiology**, v. 61, n. 5, p. 380–395, 2021.

SÁNCHEZ, C. Fungal potential for the degradation of petroleum-based polymers: An overview of macro- and microplastics biodegradation. **Biotechnology Advances**, v. 40, p. 107501, 1 maio 2020.

TELES, F. R. R.; CABRAL, J. M. S.; SANTOS, J. A. L. Enzymatic degreasing of a solid waste from the leather industry by lipases. **Biotechnology Letters**, v. 23, n. 14, p. 1159–1163, 2001.

VIVI, V. K.; MARTINS-FRANCHETTI, S. M.; ATTILI-ANGELIS, D. Biodegradation of PCL and PVC: *Chaetomium globosum* (ATCC 16021) activity. **Folia Microbiologica**, v. 64, n. 1, p. 1–7, 2019.



DEGRADAÇÃO DO CORANTE AZUL REATIVO 19 UTILIZANDO NANOPARTICULAS DE FERRO ZERO VALENTE PRODUZIDAS POR SÍNTESE VERDE

LUANA MALAQUIAS BERTOLETI; MARCELO LUIS KUHN MARCHIORO; MARCIO BARRETO RODRIGUES

RESUMO

A água é um recurso natural vital para plantas, animais e seres humanos, mas apenas 2,5% da água na terra é doce. O crescimento populacional e o desenvolvimento industrial estão causando poluição ambiental e ameaçando a saúde humana. A indústria têxtil é a segunda maior poluidora industrial do mundo, sendo responsável por 20% das águas residuais do mundo. Nanopartículas estão sendo usadas com eficácia para remover impurezas da água devido às suas propriedades específicas. O objetivo deste trabalho foi utilizar nanopartículas de ferro zero valente (NFZV) produzidas pelo método de síntese verde para degradar o corante azul reativo 19. O estudo de eficiência de descoloração do corante azul reativo 19 foi realizado adicionando nanopartículas de ferro zero valente na solução de corante agitada em agitador orbital, para avaliação da eficiência de degradação mensurada a partir de leitura espectrofotométricas ao λ máximo do corante. Após o estudo prévio de reatividade das 6 amostras de nanopartículas, foi realizado planejamento fatorial completo para avaliar a influência das variáveis pH e concentração de nanopartículas no processo de descoloração. Além disso, este estudo foi utilizado como base para seleção da melhor condição para estudo da cinética de descoloração e obtenção de modelo de predição. As nanopartículas produzidas a partir do extrato de moringa apresentaram maior capacidade de descoloração (40%) do corante azul reativo 19. O planejamento fatorial demonstrou que a variável concentração de NFZV possui influência significativa positiva, já a variável pH apresenta influência significativa negativa, enquanto a interação entre as variáveis não apresentou influência significativa. As condições ideais para reatividade foram obtidas com uma concentração de nanopartículas de $1,5 \text{ gL}^{-1}$ e pH 8. Após os testes de validação, o modelo se mostrou ser 90,75 % preditivo. As nanopartículas de ferro zero valente foram capazes de promover a descoloração do corante azul reativo 19 e demonstrou potencial como alternativa mais barata e sustentável para o tratamento de águas residuárias.

Palavras-chave: Águas residuárias; biorremediação; reatividade; efluente têxtil.

1 INTRODUÇÃO

Nos últimos anos, mais de 10.000 corantes estão sendo usados em várias indústrias, como farmacêutica, alimentícia, cosmética, plástico, papel, pesticidas, couro, petroquímica, sendo sua maior aplicação nas indústrias têxteis. Estima-se que aproximadamente 15% do total de corantes usados na indústria têxtil estão sendo despejados no meio ambiente como efluentes, sendo que, por vezes, esses corantes são tóxicos, acarretando a contaminação direta ou indireta das águas (KHAN et al., 2014). A maior parte destes corantes adentram nosso ciclo de vida por meio da água e dos animais, provocando irritação na pele, doenças respiratórias, podendo inclusive resultar no desenvolvimento de câncer (SHUBHA et al., 2022; ZHANG et al., 2021).

Os efluentes da indústria têxtil têm alta complexidade, em consequência da utilização

de vários corantes, múltiplos íons, tensoativos, das matérias primas utilizadas e do processo de fabricação. Os efluentes da indústria têxtil compreendem principalmente duas classes de corantes, os corantes catiônicos (por exemplo, corantes azo) e corantes aniônicos (por exemplo, laranja de metila) (YADAV et al., 2021).

Os corantes sintéticos também podem ser classificados por suas estruturas químicas. Os grupos de átomos que determinam as cores dos corantes são chamados de cromóforos e auxocromos. Os cromóforos incluem grupo azo (-N=N-), carbonil (-C=O), nitro (-NO₂), metina (-CH=) e grupos quinóides. Os auxocromos comuns contêm amina (-NH₃), hidroxila (-OH), carboxila (-COOH) e sulfonato (-SO₃H) (ZHANG et al., 2021).

Neste contexto, o presente trabalho avaliou o potencial de descoloração do corante azul reativo 19 utilizando diferentes nanopartículas de ferro zero valente (NFZV) produzidas pelo método de síntese verde.

2 MATERIAIS E MÉTODOS

As nanopartículas de ferro zero valente foram produzidas utilizando síntese verde conforme metodologia descrita por Rana et al. (2018). Como agente redutor foram utilizados os extratos que demonstraram melhores resultados em testes de rendimento em NFZV (dados não mostrados). Os seis extratos utilizados foram: aquoso de folhas de moringa (*Moringa oleifera*), abacateiro (*Persea americana*), morangueiro (*Fragaria daltoniana*), uva-Japão (*Hovenia dulcis*) e eucalipto (*Eucalyptus globulus*) e extrato alcoólico de eucalipto.

2.1 DEGRADAÇÃO DO CORANTE AZUL REATIVO 19

O estudo de eficiência de descoloração do corante azul reativo 19 foi realizado seguindo metodologia adaptada de Huang et al. (2014) onde amostras de nanopartículas de ferro zero valente na concentração de 0,5 g L⁻¹ foram adicionadas a 50 ml de solução de corante na concentração de 0,025 mmol.L⁻¹. A solução foi agitada em agitador orbital (shaker) durante 1 hora 150 rpm. Logo após a solução foi filtrada em filtros para seringa de 0,45µm, leituras espectrofotométricas foram obtidas do sobrenadante a 592 nm para determinação da concentração de corante.

2.2 PLANEJAMENTO EXPERIMENTAL FATORIAL COMPLETO 2² E PERFIL DE DEGRADAÇÃO PELO TEMPO

Após o estudo prévio de reatividade das 6 amostras de nanopartículas perante ao corante azul reativo 19, planejamento fatorial completo 2² (conforme descrito Tabela 2) foi aplicado à nanopartícula que obteve melhor resultado quanto a descoloração do corante, para avaliar a influência das variáveis pH e concentração de nanopartículas.

Após a execução dos experimentos propostos pelo planejamento fatorial, foi utilizada a melhor condição predita pelo modelo, posteriormente, realizado estudo de descoloração em relação ao tempo, onde alíquotas da solução de corante com nanopartículas foram retiradas durante 120 min e lidas em espectrofotômetro à 592 nm, a fim de obter um perfil de descoloração e validar o modelo de predição.

2.3 QUANTIFICAÇÃO DE CARBONO ORGÂNICO TOTAL

O carbono orgânico total (COT) nas amostras de corante azul reativo 19 tratadas com NFZV foi quantificado utilizando Analisador de Carbono Orgânico Total (TOC-L CSH e CSN Shimadzu) em amostras líquida, com 3 injeções por amostra.

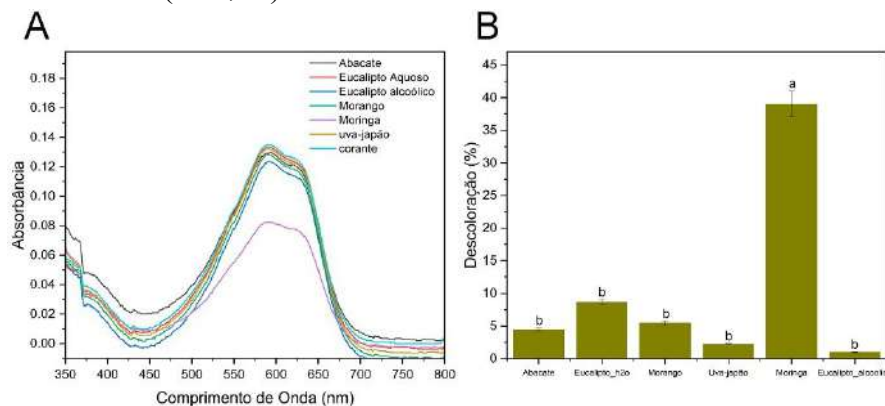
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 DEGRADAÇÃO DO CORANTE AZUL REATIVO 19

Ensaio de reatividade foram usados para determinar a eficiência na remoção do corante azul reativo 19 de solução aquosa quando expostos a NFZV. Na Figura 1A, onde estão representados os espectros de absorção do corante, é possível visualizar o comprimento de onda de máxima absorção que ocorre em 592 nm.

Na Figura 1B, está representado o percentual de descoloração do corante azul reativo 19, pode-se observar que a NFZV de moringa promoveu 39% de descoloração, seguida pelas NFZV eucalipto aquoso com 8,8% de descoloração; NFZV de morango com 5,4% de descoloração; NFZV de abacate com 4,4% de descoloração; NFZV de uva-Japão com 2,2% de descoloração e NFZV de eucalipto alcoólico com 1,0% de descoloração. Somente a NFZV de moringa promoveu descoloração com diferença estatística significativa em um intervalo de confiança de 95% ($p < 0,05$). A baixa reatividade das NFZV pode ser atribuída aos componentes orgânicos que atuam como agentes de capeamento.

Figura 1 – A) Espectro de absorção na região do visível antes e depois o tratamento com as NFZV e B) percentual de descoloração do corante azul reativo 19 utilizando as NFZV. Letras diferentes representam diferença significativa estatística por análise de Tukey, ao nível de significância de 95% ($P < 0,05$)



Fonte: Autoria própria (2023).

Hassan; Al-Kindi; Ghanim (2020) estudaram a síntese verde de nanopartículas de ferro zero valente usando extrato aquoso de folhas de chá verde e extrato aquoso de chá verde suportada por bentonita, essas nanopartículas foram então usadas no para a descoloração de corante reativo azul 238, sob condições ótimas, atingiram descoloração de 93,5% e 96,2%, respectivamente.

Jain et al. (2021) estudaram síntese verde de nanopartículas de ferro usando extrato de casca de *Artocarpus heterophyllus* e sua aplicação como catalisador heterogêneo do tipo Fenton para a degradação do corante Fucsina Básica, essas nanopartículas exibiram eficiência de remoção de 87,5% nos 20 minutos iniciais a 318K.

Na Tabela 1 estão demonstrados os valores da composição de carbono no corante antes e após o tratamento com as NFZVs. Os resultados indicam que o teor de carbono orgânico e total aumentou após o tratamento com as nanopartículas, já o carbono inorgânico diminui em três dos tratamentos (eucalipto etanólico, moringa e uva-Japão). Uma possível explicação para o aumento do carbono nas amostras de corante após o tratamento é o alta concentração deste elemento nas NFZVs produzidas pela síntese verde.

Tabela 1 - Resultados da composição de carbono do corante após tratamento com as NFZVs.

Tratamento	C Inorgânico (mgL ⁻¹)	C Orgânico (mgL ⁻¹)	C Total (mgL ⁻¹)
Corante*	0,689	11,7	12,4
Abacate	0,704	31,6	32,3
Eucalipto Aquoso	0,786	26,0	26,8
Eucalipto Etanólico	0,550	40,1	40,6
Morango	1,34	27,0	25,6
Moringa	0,671	47,2	47,8
Uva-Japão	0,384	18,8	19,2

*Composição de carbono do corante antes do tratamento com as NFZVs.

Fonte: Autoria própria (2023).

De fato, o que pode ter contribuído para o aumento do COT é a sorção do capeamento das NFZVs. Outra possível explicação, seria principalmente a destruição dos grupos cromóforos, formando alguns fragmentos moleculares menores, sendo a descoloração e a diminuição da concentração de COT processos não proporcionais (WANG et al., 2017).

3.2 OTIMIZAÇÃO EXPERIMENTAL E VALIDAÇÃO DO MODELO

Após o primeiro teste de reatividade, a NFZV produzida com extrato aquoso de moringa apresentou maior poder de descoloração frente ao corante azul reativo 19. Desta forma, um planejamento experimental fatorial completo foi aplicado para estudar a influência da concentração de NFZV e pH na descoloração, estando os resultados obtidos apresentados na Tabela 2.

A NFZV produzida com moringa apresentou reatividade em todos as condições aplicadas no ensaio, tendo maior resposta no experimento 3 ([NFZV] = 1,5 gL⁻¹; pH = 4) com 47% de descoloração, já o menor valor foi obtido no experimento 2 ([NFZV] = 0,5 gL⁻¹; pH = 8) com descoloração de 37%. Como pode ser observado a faixa de resultados de descoloração apresentada entre os 7 experimentos relativamente baixa, com uma diferença de 10% entre o maior e o menor valor.

Tabela 2 - Respostas de descoloração do corante reativo 19 utilizando NFZV produzidas com extrato aquoso de moringa.

Experimentos	Variáveis independentes* Valores obtidos		
	X1	X2	Descoloração (%)
1	-1	-1	39,0
2	-1	1	37,0
3	1	-1	47,0
4	1	1	43,0
5	0	0	42,0
6	0	0	41,0
7	0	0	40,0
Variáveis	Níveis (valores reais)		
	-1	0	1
Concentração NFZV (g L ⁻¹)	X1	0,5	1,0
pH	X2	4	8

Fonte: Autoria própria (2024).

Análise de variância (ANOVA) dos resultados do delineamento experimental relativos

à descoloração do corante azul reativo 19 estão demonstrados na Tabela 3. Os dados experimentais foram analisados por regressão linear múltipla e o modelo matemático obtido foi significativo em um intervalo de confiança de 95% ($p < 0,05$). O teste F indicou que o modelo gerado é preditivo, visto que o valor F calculado (35,38) foi superior ao F tabelado (9,28). O coeficiente de determinação do modelo foi de 0,9725, o que indica que 97,25% da variabilidade dos dados pode ser explicada pelo modelo.

Tabela 3 - ANOVA e efeitos principais estimados para a descoloração do corante reativo 19 utilizando NFZV produzidas com extrato aquoso de moringa.

Termos	SQ	GL	MQ	F _{Calc}	F _{Tab}
Modelo	64,64679	3	21,54893	35,38	9.28
Resíduo	1.82710	3	0,609033	-	-
Total	66.47389	6	-	-	-
R²			0,9725		

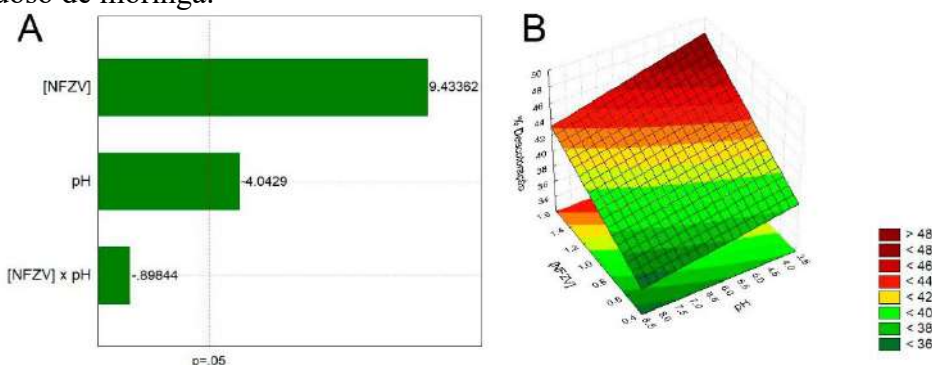
Variáveis	Efeito	p-valor
Média/interseção	41.18801	0.000001
[NFZV]	7.36207	0.002524
pH	-3.15517	0.027235
[NFZV] x pH	-0.70115	0.435162

SQ: Soma dos quadrados; GL: Graus de liberdade; QM: Quadrado médio; F_{Calc}: F calculado; F_{Tab}: F tabelado; L: Efeito linear; Q: Efeito quadrático; Valores em negrito são estatisticamente significativos.

Fonte: Autoria própria (2023).

Como pode ser observado no diagrama de Pareto (Figura 2A), as variáveis concentração de NFZV e pH apresentaram influência estatisticamente significativa em um nível de confiança de 95% ($p < 0,05$). A variável concentração de NFZV apresentou influência positiva, ou seja, ao aumentarmos a concentração a uma tendência de aumento na resposta. Por outro lado, a variável pH apresentou influência negativa, ou seja, ao aumentarmos o pH a uma tendência de diminuição da resposta, neste caso a descoloração. A interação entre as variáveis não apresentou significância estatística a um nível de confiança de 95% ($p < 0,05$).

Figura 2 - A) Diagrama de Pareto dos efeitos padronizados da descoloração do corante azul reativo 19 utilizando NFZV produzidas com extrato aquoso de moringa e B) Superfície de resposta para a descoloração do corante azul reativo 19 utilizando NFZV produzidas com extrato aquoso de moringa.



Fonte: Autoria própria (2023).

Na Figura 2B está apresentada a superfície de resposta para o modelo experimental. Pode-se observar que há uma tendência de aumento na reatividade em regiões de maior

concentração de NFZV e pH mais baixos, devido ao efeito estatístico positivo na concentração de NFZV e negativo no pH.

O modelo matemático para a descoloração do corante azul reativo 19 utilizando NFZV produzidas com extrato aquoso de moringa descrito na superfície de resposta e considerando apenas as variáveis significativas é representado pela Equação 1.

$$Descoloração (\%) = 36,45525 + 9.46552 X_1 - 0.43822 X_2 \quad \text{Equação (1)}$$

A validação do modelo preditivo foi realizada pela correlação entre o valor predito pelo modelo e o valor experimental. Na tabela 4 estão demonstrados os valores utilizados e obtidos na validação do modelo, onde foi utilizada uma concentração de NFZV de 1,5 gL⁻¹ e pH 8,3 (pH da solução de corante na concentração utilizada). Em paralelo com o experimento de validação, foi obtido o perfil de descoloração do corante azul reativo 19 pelo tempo, demonstrado na **Erro! Fonte de referência não encontrada.**

Conforme observado na Tabela 4, houve uma boa correlação entre os valores estimados pelo modelo (47,02%) e os valores experimentais (42,67%) para descoloração, tendo uma recuperação de 90,75% dos valores preditos.

Tabela 4 - Valor predito e experimental para descoloração do corante azul reativo 19 utilizando NFZV

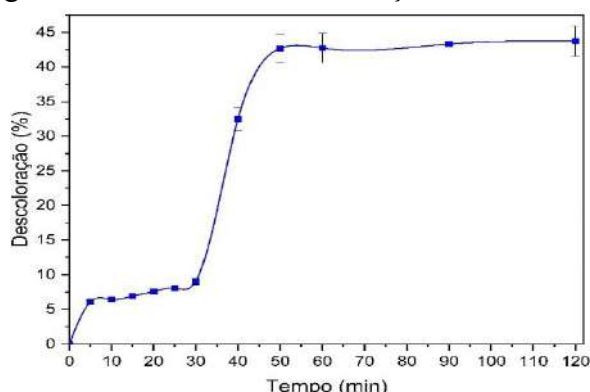
produzidas com extrato aquoso de moringa após 60 minutos de reação.

Variável	Valor predito	Valor experimental	% de recuperação
NFZV (g.L ⁻¹)	-	1,5	-
pH	-	8,3	-
Descoloração (%)	47,02	42,67	90,75

Fonte: Autoria própria (2023).

O perfil de descoloração pelo tempo (**Erro! Fonte de referência não encontrada.**), demonstra que nos 30 minutos iniciais de reação a descoloração foi cerca de 9%. Após os 30 minutos houve um aumento exponencial na descoloração até os 50 minutos de reação, chegando aos 42% de descoloração. Após os 50 minutos a descoloração foi quase nula. Um dos possíveis motivos para a descoloração ter aumentado a velocidade somente após os 30 minutos de reação é a sorção dos agentes capeadores das NFZV (CHEN et al., 2011).

Figura 3 - Perfil de descoloração do corante azul reativo 19 utilizando NFZV produzidas com extrato aquoso de moringa durante 120 minutos de reação.



Fonte: Autoria própria (2023).

4 CONCLUSÃO

As nanopartículas de moringa apresentaram maior reatividade, promovendo 39% de descoloração do corante azul reativo 19. Por meio do planejamento experimental foi possível determinar que as melhores condições de reatividade foi com $[NFZV] = 1,5 \text{ gL}^{-1}$ e $\text{pH} = 8$, atingindo 42% de descoloração. A variável concentração de NFZV apresentou influência positiva, já a variável pH apresentou influência negativa. O perfil de descoloração pelo tempo, demonstra que a maior descoloração ocorreu entre 30 minutos até os 50 minutos de reação. As NFZV demonstraram potencial para a degradação do corante azul reativo 19. As NFZV produzidas a partir do extrato aquoso de moringa foram capazes de promover a descoloração do corante azul reativo 19, demonstrando potencial como alternativa para o tratamento de águas residuárias.

REFERÊNCIAS

CHEN, Z. X. et al. Removal of methyl orange from aqueous solution using bentonite-supported nanoscale zero-valent iron. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 363, n. 2, p. 601–607, 2011.

HASSAN, A. K.; AL-KINDI, G. Y.; GHANIM, D. Green synthesis of bentonite-supported iron nanoparticles as a heterogeneous Fenton-like catalyst: Kinetics of decolorization of reactive blue 238 dye. **Water Science and Engineering**, v. 13, n. 4, p. 286–298, 2020.

HUANG, L. et al. Green synthesis of iron nanoparticles by various tea extracts: Comparative study of the reactivity. **Spectrochimica Acta - Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, v. 130, p. 295–301, 2014.

JAIN, R. et al. Green synthesis of iron nanoparticles using *Artocarpus heterophyllus* peel extract and their application as a heterogeneous Fenton-like catalyst for the degradation of Fuchsin Basic dye. **Current Research in Green and Sustainable Chemistry**, v. 4, n. March, p. 100086, 2021.

KHAN, Z. et al. Microaerophilic degradation of sulphonated azo dye – Reactive Red 195 by bacterial consortium AR1 through co-metabolism. **International Biodeterioration & Biodegradation**, v. 94, p. 167–175, out. 2014.

RANA, A. et al. Leaf-extract mediated zero-valent iron for oxidation of Arsenic (III): Preparation, characterization and kinetics. **Chemical Engineering Journal**, v. 347, n. March, p. 91–100, 2018.

SHUBHA, J. P. et al. Facile green synthesis of semiconductive ZnO nanoparticles for photocatalytic degradation of dyes from the textile industry: A kinetic approach. **Journal of King Saud University - Science**, v. 34, n. 5, p. 102047, jul. 2022.

WANG, X. et al. Facile green synthesis of functional nanoscale zero-valent iron and studies of its activity toward ultrasound-enhanced decolorization of cationic dyes. **Chemosphere**, v. 166, p. 80–88, 2017.

YADAV, A. et al. Novel MIL101(Fe) impregnated poly (vinylidene fluoride-co-hexafluoropropylene) mixed matrix membranes for dye removal from textile industry

wastewater. **Journal of Water Process Engineering**, v. 43, n. September, p. 102317, out. 2021.

ZHANG, C. et al. A critical review of the aniline transformation fate in azo dye wastewater treatment. **Journal of Cleaner Production**, v. 321, n. September, p. 128971, out. 2021.



DESENVOLVIMENTO DE BANCOS DE DADOS PARA ANÁLISE METAGENÔMICA DE MICROBIOMAS DE CÃES: UMA ABORDAGEM COM KRAKEN2 E BOWTIE2

PAULO SALLAROLA TAKAO; PAMELA SOUZA CORRÊA; JULIO FRANZ MOURA; DAVID ACIOLE BARBOSA; FABIANO BEZERRA MENEGIDIO

RESUMO

A análise metagenômica desempenha um papel crucial na compreensão das comunidades microbianas e seu impacto ambiental, desfrutando de uma relevância especial na medicina veterinária para diagnóstico, tratamento e prevenção de doenças em animais de estimação. Este estudo teve como objetivo principal criar bancos de dados integrados para as ferramentas Bowtie2 e Kraken2, consolidando os genomas do cão e do humano em um recurso atualizado e de fácil acesso. Com o avanço tecnológico, a análise metagenômica do microbioma emerge como uma ferramenta promissora na rotina veterinária, especialmente considerando a alta prevalência de cães nas clínicas veterinárias, sabendo-se que apenas no Brasil temos em torno de 58,1 milhões de cães, sendo o segundo animal de estimação mais presente nos lares, perdendo apenas para as aves. No entanto, as etapas bioinformáticas necessárias, como a remoção do genoma do hospedeiro e de contaminantes humanos, demandam tempo e recursos computacionais consideráveis. Para superar esse desafio, foram desenvolvidos bancos de dados específicos para cada ferramenta, reduzindo significativamente o tempo de análise e assegurando a atualização contínua dos genomas. Enquanto o Bowtie2 realiza o alinhamento exato de sequências, o Kraken2 utiliza sequências menores (k-mers) para uma classificação taxonômica mais rápida e eficiente. Após a construção dos bancos de dados, foram conduzidos testes em uma biblioteca de metagenoma canino, evidenciando uma alta porcentagem de alinhamento e uma remoção eficaz de leituras pertinentes ao cão ou humano. Apesar dos desafios enfrentados devido à falta de documentação detalhada, os bancos de dados criados se mostraram viáveis e reproduzíveis, oferecendo uma contribuição significativa para estudos futuros em análise metagenômica veterinária.

Palavras-chave: *Canis lupus familiaris*, Metagenoma, Kraken2-build, Bowtie2-build, Contaminantes.

1 INTRODUÇÃO

A análise metagenômica é o processo utilizado para classificar o metagenoma (MARCHESI; RAVEL, 2015), sendo o metagenoma uma derivação da genômica que é o estudo dos genes de um organismo, então na tradução literal metagenômica seria “além do genoma”, ou seja, na metagenômica não analisamos apenas um genoma e sim todo os genomas contidos em uma amostra (GILBERT; DUPONT, 2011), podendo esses genomas serem de microrganismos e até fragmentos de DNA livres no ambiente (amostra), genes de elementos estruturais microbianos, vírus, fagos, toxinas e tudo mais que possua material genético (BERG, *et al.*, 2020; HANDELSMAN *et al.*, 1998; MERRIAM-WEBSTER, 2023; WHIPPS; LEWIS; COOKE, 1988), então podemos descrever a análise metagenômica como a análise de uma coleção de genomas de microrganismos e suas condições ambientais em um determinado

ambiente por uma técnica de sequenciamento genético independente da utilização de cultura para crescimento e análise (HANDELSMAN *et al.*, 1998; MARCHESI; RAVEL, 2015; MERRIAM-WEBSTER, 2023; WHIPPS; LEWIS; COOKE, 1988). Portanto com a tecnologia de análise metagenômica podemos descobrir um mundo totalmente novo, já que se sabe que apenas pouco mais de 1% de todos os microrganismos existentes são passíveis de serem cultivados (COWAN, 2000; HANDELSMAN, 2004; MERRIAM-WEBSTER, 2023). Uma das principais aplicações da análise metagenômica é o estudo do microbioma que foi definido pela primeira vez por Whipps *et al.* (1988), como sendo uma comunidade de microrganismos (WHIPPS; LEWIS; COOKE, 1988), mas essa definição foi se alterando ao longo dos anos onde chegou-se a definição de microbioma como todo o material genético (DNA) da microbiota de um determinado ambiente e sua área de atividade, incluindo elementos estruturais interno e externos dos microrganismos ou seja é quando se analisa não apenas a comunidade de micróbios que colonizam este ambiente, mas também a expressão dos genes desta microbiota e como eles influenciam aquele ambiente (BERG *et al.*, 2020; MERRIAM-WEBSTER, 2023).

Neste contexto, a análise metagenômica do microbioma emerge como uma ferramenta promissora na rotina veterinária, especialmente considerando a alta prevalência de cães (*Canis lupus familiaris*) nas clínicas veterinárias e de acordo com o relatório de 2023 da AMBIPET (Associação brasileira da indústria de produtos para animais de estimação) o Brasil é o segundo maior país em população de cães no mundo, ficando atrás apenas do Estados Unidos, tendo aproximadamente de 58,1 milhões e 900 milhões de cães respectivamente (“Mercado Pet Brasil 2023”, 2023).

Com o avanço das tecnologias de sequenciamento genético e da diminuição dos custos para a sua execução (BHARTI; GRIMM, 2021), a análise metagenômica do microbioma está cada dia mais perto da utilização na rotina da clínica veterinária de pequenos animais sendo uma promissora ferramenta de diagnóstico, tratamento e prevenção de doenças, sendo que na medicina humana já está bastante difundida principalmente para a análise do microbioma de intestino, boca e pele (THE INTEGRATIVE HMP (IHMP) RESEARCH NETWORK CONSORTIUM, 2019), como o cão é o animal com a maior presença na rotina do médico veterinário de pequenos animais o conhecimento do seu microbioma é de fundamental importância (“Mercado Pet Brasil 2023”, 2023; “Número de cães e gatos no Brasil deve chegar a mais de 100 milhões em 10 anos”,). Porém para a realização de uma análise metagenômica várias etapas de bioinformática são necessários, sendo uma das principais etapas a retirada do genoma do hospedeiro, sendo nesse caso o cão (*Canis lupus familiaris*) e de genomas contaminantes do ser humano (*Homo sapiens*), assim conseguimos diminuir consideravelmente o volume de dados a serem processados, já que se sabe que em uma amostra de sequenciamento metagenômico a quantidade de material genético do hospedeiro e do contaminante pode ser mais de 99% da amostra.

Para a retirada do genoma do hospedeiro e de contaminantes a ferramenta de bioinformática a ser utilizada possui um banco de dados (BD) previamente indexado específico para cada organismo que muitas vezes é disponibilizado gratuitamente pela ferramenta, no entanto esses BD são disponibilizados de forma individual, no nosso caso um BD para cão e um BD para ser humano fazendo com que a ferramenta tenha que ser utilizada duas vezes tendo uma perda de tempo desnecessária, já que algumas ferramentas podem demorar muitas horas para realizar apenas uma análise fora disso muitas vezes esses bancos de dados já estão defasados sem atualização do genoma. Duas das ferramentas de uso corriqueiro para essa função, são o Bowtie2 e Kraken2 (LANGMEAD; SALZBERG, 2012; LU *et al.*, 2022; WOOD; SALZBERG, 2014).

Bowtie2, realiza o alinhamento de sequências exatas de acordo com o seu BD de referência, esse alinhamento ocorre em 4 etapas onde na etapa 1 ele irá coletar sementes (início) de sequências a serem analisadas, na etapa 2 ele irá alinhá-las as sementes são extraídas da

amostra e alinhadas de forma não lacunar, na etapa 3 as sementes são posicionadas no genoma de referência e na etapa 4 essas sementes são estendidas para um alinhamento completo (LANGMEAD; SALZBERG, 2012; LU *et al.*, 2022; RUMBAVICIUS; ROUNGE; ROGNES, 2023). As sementes não alinhadas e suas respectivas sequencias são arquivadas separadamente para posterior análise do microbioma (LANGMEAD; SALZBERG, 2012). Devido ser dividido em 4 etapas torna a ferramenta mais lenta porem com um baixo consumo de memória ram (RUMBAVICIUS; ROUNGE; ROGNES, 2023). Essa ferramenta possui os bancos de dados já indexados do cão e do Homem disponíveis publicamente, porem com genomas defasados e de forma individual, sendo um genoma por banco de dados, acabando que temos que executar duas vezes a ferramenta, primeiro com um banco de dados e depois com o outro (LANGMEAD *et al.*, 2023).

Para criação do banco de dados Bowtie2, é utilizado o bowtie2-build que constrói um índice Bowtie a partir de sequencias de DNA contidos em um arquivo do tipo “.fasta”, produzindo um conjunto de 6 arquivos com o sufixo “.bt2”(LANGMEAD; SALZBERG, 2012). Kraken2 é uma ferramenta de classificação taxonômica muito utilizada na metagenômica que diferente do Bowtie2 que realiza o alinhamento completo com uma sequência de DNA, ela utiliza sequencias menores com tamanho k (k-mers) sendo o tamanho padrão pré-definido de “k” igual a 50 nucleotídeos, que pode ser alterado de acordo com a necessidade, assim deixando a ferramenta muito mais ágil podendo analisar até 1,5 milhões de leituras (reads) por minuto com muita precisão (LANGMEAD *et al.*, 2023; LANGMEAD; SALZBERG, 2012; LU *et al.*, 2022; RUMBAVICIUS; ROUNGE; ROGNES, 2023; WOOD; SALZBERG, 2014). Essa ferramenta até a pouco tempo não era utilizada para a retirada de hospedeiro e contaminantes de amostras de metagenomas, somente após a sua última atualização foi implementado essa funcionalidade e vem demonstrando uma ótima opção para isso, sendo mais rápida e com uma boa sensibilidade após testes realizados por nossa equipe. Diferente da ferramenta anterior, essa não possui bancos de dados com apenas um ou com os dois genomas juntos, por ser uma ferramenta utilizada corriqueiramente apenas para análise taxonômica de metagenomas, ela tem apenas BD com genomas de múltiplos organismos. Para a criação de BD Kraken2 é utilizado o kraken2-build que criará um diretório com 3 arquivos com o sufixo “.k2d”, que é criado a partir de arquivos .fasta contendo os genomas de referência.

O Objetivo desse trabalho foi criar bancos de dados específicos para cada ferramenta sendo elas Bowtie2 e Kraken2 que são disponibilizadas gratuitamente por seus criadores, com o genoma do hospedeiro e contaminante em um único BD com os genomas atualizados para as duas espécies *Canis lupus familiaris* e *Homo sapiens*.

2 MATERIAIS E MÉTODOS

Esse projeto faz parte de um estudo maior para a uma dissertação de mestrado.

Para a confecção do banco de dados foi utilizado um notebook Acer Nitro 5 com processador intel core I5 11ª geração com 6 núcleos e 12 threads, 42 Gb de memória ram, placa de vídeo GeForce GTX 1650 e sistema operacional Linux Mint 21.2 Cinnamon, baseado em Ubuntu.

Para que as ferramentas pudessem ser executadas, foi instalado um pacote de de softwares de pesquisa biomédicas o Bioconda através da linha de comando utilizando o comando e em seguida foram instaladas as ferramentas Bowtie2, Bowtie-build, Kraken2 e Kraken2_build Iniciamos a confecção dos BD, o primeiro passo foi realizado o download dos arquivos dos genomas de referencia atualizados no formato fasta (.fna) do cão e do Homem, disponíveis publicamente no banco de dados do *RefSeq* (Banco de Dados de Sequência de Referência) do NCBI (National Center for Biotechnology Information) (tabela 1) (BETHESDA (MD): NATIONAL LIBRARY OF MEDICINE (US), 1988; “RefSeq: NCBI Reference Sequence

Database”, 2023).

Tabela 1: Dados dos genomas utilizados para a confecção dos bancos de dados de cão e ser humano, extraídos do banco de dados publico do RefSeq NCBI (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/refseq/>) (BETHESDA (MD): NATIONAL LIBRARY OF MEDICINE (US), 1988; “RefSeq: NCBI Reference Sequence Database”, 2023).

Nome Científico	Biblioteca	RefSeq	Modifica dos	Tamanho (Mb)	Nível	Data Lançamento
<i>Canis familiaris</i>	Dog10k_Bo	GCF_00000	Boxer	2341	Cromosso	Outubro 2020
	xer_Tasha	2285.5				
<i>Homo Sapiens</i>	GRCh38.p1	GCF_00000		3099	Cromosso	Fevereiro 2022
	4	1405.40				

Após o download dos arquivos, iniciamos a confecção dos BD pelo Bowtie2 pela linha de comando, no ambiente conda, utilizando os parâmetros de 12 threads (-- threads 12) forçando a utilização da capacidade máxima do computador para que fosse executado com o menor tempo possível e -f (local do arquivo fasta com o genoma) separando os arquivos com os respectivos genomas com uma virgula (,) e em seguida separado por um espaço o local de destino do novo banco de dados, comando completo a seguir:

```
$ bowtie2-build --threads 12 -f \
pasta_origem/genoma_cao.fna,pasta_origem/genoma_humano.fna \
pasta_destino_BD/BD_cao_humano_bt2/bt2
```

Para a confecção do banco de dado Kraken2, tivemos que realizar uma alteração no arquivo fasta para que o programa kraken2-build consiga identificar corretamente cada sequencia de acordo com o sua taxonomia, então colocamos o numero de identificação da taxonomia da espécie (taxid) na linha de identificação de cada sequencia contida no arquivo (fig 1), o numero de identificação taxonomica do *Canis lupus familiaris* (taxid: 9615) e do *Homo sapiens* (taxid: 9606) foram prospectors da base de dados pública de taxonomia do NCBI (BETHESDA (MD): NATIONAL LIBRARY OF MEDICINE (US), 1988; “Taxonomy Database”,) e como cada arquivo pode ter milhares de linhas de identificação, utilizamos o software SeqFu na linha de comando, que é utilizado para manipulação de arquivos fasta, foi acrescentado a linha de identificação o seguinte texto “|kraken:taxid|000000” (figura 2), para isso utilizamos o seguinte comando:

```
$ seqfu cat --append "|kraken:taxid|(numero_da_taxonomia)" ~/local_arquivo
fasta/arquivo_fna \> ~/destino_arquivo_editado/arquivo_taxid.fna
```

Figura 1: Primeira linha do arquivo fasta do genoma de *Canis lupus familiaris* onde se destaca a linha de identificação onde deve conter a identificação da taxonomia para ferramenta kraken2-build.

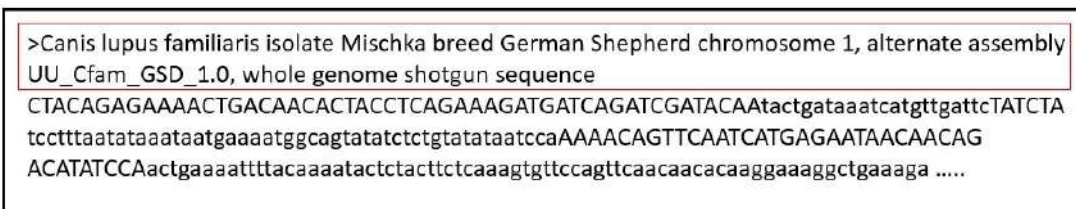


Figura 2: primeira linha do arquivo fasta do genoma de *Canis lupus familiaris* com o Taxid: 9615 em seu devido local para identificação pela ferramenta kraken2-build.

```
>Canis lupus familiaris isolate Mischka breed German Shepherd chromosome 1, alternate assembly
UU_Cfam_GSD_1.0, whole genome shotgun sequence [kraken:taxid|9615]
CTACAGAGAAAACACTGACAACACTACCTCAGAAAGATGATCAGATCGATACAAtactgataaatcatgttgattcTATCTA
tcctttaataataataatgaaaatggcagttatctctgtatataatccaAAAACAGTTCAATCATGAGAATAACAACAG
ACATATCCAactgaaaattttacaaaatactctacttctcaaaagtgtccagttcaacaacacaaggaaggctgaaaga .....
```

Com os arquivos fastas já preparados com os respectivos taxid iniciamos a construção da biblioteca para Kraken2 com os 2 genomas. A criação desse banco de dados consiste em 4 etapas, onde iremos criar uma biblioteca com os dois bancos de dados, em seguida será realizado o download da árvore filogenética para os dois genomas com a identificação de todas as suas taxonomias em seguida é realizada a compilação do banco de dados e por último realizamos a limpeza dos arquivos desnecessários criados durante o processo.

Etapa 1: Criação de uma biblioteca com os dois genomas, deve ser realizado os comandos 2x um para cada genoma e arquivá-los na mesma pasta de saída:

```
$ kraken2-build --add-to-library ~/local_arquivo_fasta/cao_taxid.fasta --db ~/cao_humanodb -
-threads 12 $ kraken2-build --add-to-library ~/local_arquivo_fasta/humano_taxid.fasta --db
~/cao_humanodb --threads 12
```

Etapa 2: Download da taxonomia: \$ kraken2-build --download-taxonomy --db ~/cao_humano

Etapa 3: Compilação do banco de dados final para Kraken2: \$ kraken2-build --build --db ~/cao_humanodb

Etapa 4: Realização da limpeza de arquivos desnecessários utilizados para a criação do banco de dados: \$ kraken2-build --clean --db ~/cao_humanodb

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Após a compilação dos bancos de dados para ambas as ferramentas nos realizamos a inspeção “*inspect*” das mesmas onde foi possível identificar que os bancos de dados estavam completos e contendo os dois genomas e aptos a serem utilizados para a retirada de hospedeiro e contaminantes de bibliotecas de metagenoma e como teste complementar os dois bancos de dados foram testadas em uma biblioteca de metagenoma de cão com o SRA ID SRR19324877 disponíveis publicamente no *sequence reads archive* (SRA) do NCBI.

Tabela 2: Teste realizado em uma biblioteca de metagenoma (SRR19324877) que possui 250.223.105 leituras, onde foi possível observar que os dois bancos de dados executados nas ferramentas Bowtie2 e Kraken2 com a configuração padrão das ferramentas, foi capaz de ter uma boa porcentagem de alinhamentos e deixando apenas leituras de genomas não identificados como cão e ser humano.

Ferramenta	Leituras Brutas	Leituras alinhadas após análise	% de alinhamento	Leituras para análise do microbioma
Bowtie2	250223105	234749227	93,81%	15473878
Kraken2	250223105	250014348	99,91%	208757

A maior dificuldade para a construção dos bancos de dados foi a falta de artigos

disponíveis sobre o tema e os manuais das ferramentas são muito sucintos nas explicações, faltando alguns dados fundamentais como a colocação da taxid no arquivo fasta para a criação do BD Kraken-2, a maioria das informações que tivemos foram a partir de fóruns e blogs do gênero, mas mesmo assim com alguns dados não tão precisos, a criação desses bancos de dados só foi possível após muitos testes de diferentes configurações para ambas as ferramentas.

4 CONCLUSÃO

Concluimos que os bancos de dados criados são viáveis e demonstraram êxito na realização do que foi proposto, sendo reprodutíveis para as mais diversas finalidades e genomas variados.

REFERÊNCIAS

- BERG, G.; RYBAKOVA, D.; FISCHER, D.; CERNAVA, T.; VERGÈS, M.-C. C.; CHARLES, T.; CHEN, X.; COCOLIN, L.; EVERSOLE, K.; CORRAL, G. H.; KAZOU, M.; KINKEL, L.; LANGE, L.; LIMA, N.; LOY, A.; MACKLIN, J. A.; MAGUIN, E.; MAUHLIN, T.; MCCLURE, R.; MITTER, B.; RYAN, M.; SARAND, I.; SMIDT, H.; SCHELKLE, B.; ROUME, H.; KIRAN, G. S.; SELVIN, J.; SOUZA, R. S. C. de; VAN OVERBEEK, L.; SINGH, B. K.; WAGNER, M.; WALSH, A.; SESSITSCH, A.; SCHLOTER, M. Microbiome definition re-visited: old concepts and new challenges. **Microbiome**, v. 8, n. 1, p. 103, 30 jun. 2020.
- BETHESDA (MD): NATIONAL LIBRARY OF MEDICINE (US). **National Center for Biotechnology Information (NCBI)**. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>>. Acesso em: 2 nov. 2023.
- BHARTI, R.; GRIMM, D. G. Current Challenges and Best-Practice Protocols for Microbiome Analysis. **Briefings in Bioinformatics**, v. 22, n. 1, p. 178–193, 18 jan. 2021.
- COWAN, D. A. Microbial Genomes – the Untapped Resource. **Trends in Biotechnology**, v. 18, n. 1, p. 14–16, jan. 2000.
- GILBERT, J. A.; DUPONT, C. L. Microbial Metagenomics: Beyond the Genome. **Annual Review of Marine Science**, v. 3, n. 1, p. 347–371, 15 jan. 2011.
- HANDELSMAN, J. Metagenomics: Application of Genomics to Uncultured Microorganisms. **Microbiology and Molecular Biology Reviews**, v. 68, n. 4, p. 669–685, dez. 2004.
- HANDELSMAN, J.; RONDON, M. R.; BRADY, S. F.; CLARDY, J.; GOODMAN, R. M. Molecular Biological Access to the Chemistry of Unknown Soil Microbes: A New Frontier for Natural Products. **Chemistry & Biology**, v. 5, n. 10, p. R245-249, out. 1998.
- LANGMEAD, B.; KIN, D.; CHARLES, R.; CHEN, N.-C.; WILKS, C.; ANTONESCU, Va. **Bowtie 2 Fast and sensitive read alignment** Bowtie 2 13 out. 2023. Disponível em: <<https://bowtie-bio.sourceforge.net/bowtie2/manual.shtml#the-bowtie2-build-indexer>>. Acesso em: 5 nov. 2023.
- LANGMEAD, B.; SALZBERG, S. L. Fast Gapped-Read Alignment with Bowtie 2. **Nature Methods**, v. 9, n. 4, p. 357–359, abr. 2012.

LU, J.; RINCON, N.; WOOD, D. E.; BREITWIESER, F. P.; POCKRANDT, C.; LANGMEAD, B.; SALZBERG, S. L.; STEINEGGER, M. Metagenome Analysis Using the Kraken Software Suite. **Nature Protocols**, v. 17, n. 12, p. 2815–2839, dez. 2022.

MARCHESI, J. R.; RAVEL, J. The vocabulary of microbiome research: a proposal. **Microbiome**, v. 3, n. 1, p. 31, 30 jul. 2015.

Mercado Pet Brasil 2023. AMBIPET associação brasileira da industria de produtos para naimais de estimação2023. Disponível em: <<https://abinpet.org.br/dados-de-mercado/>>. Acesso em: 2 nov. 2023.

MERRIAM-WEBSTER. **Definition of MICROBIOME**. Disponível em: <<https://www.merriam-webster.com/dictionary/microbiome>>. Acesso em: 17 nov. 2023.

Número de cães e gatos no Brasil deve chegar a mais de 100 milhões em 10 anos. SIDAN Saude Animal[s.d.]Disponível em: <<https://sindan.org.br/release/numero-de-caes-e-gatos-no-brasil-deve-chegar-a-mais-de-100-milhoes-em-10-anos/#:~:text=A%20popula%C3%A7%C3%A3o%20total%20de%20c%C3%A3es,milh%C3%B5es%20de%20animais%20at%C3%A9%202030.>>. Acesso em: 2 nov. 2023.

RefSeq: NCBI Reference Sequence Database. National Library of Medicine11 set. 2023. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/refseq/>>. Acesso em: 5 nov. 2023.

RUMBAVICIUS, I.; ROUNGE, T. B.; ROGNES, T. HoCoRT: Host Contamination Removal Tool. **BMC Bioinformatics**, v. 24, n. 1, p. 371, 2 out. 2023.

Taxonomy Database. National Library of Medicine[s.d.]Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/taxonomy>>. Acesso em: 5 nov. 2023.

THE INTEGRATIVE HMP (IHMP) RESEARCH NETWORK CONSORTIUM. The Integrative Human Microbiome Project. **Nature**, v. 569, n. 7758, p. 641–648, maio 2019.

WHIPPS, J.; LEWIS, K.; COOKE, R. Mycoparasitism and plant disease control. **Fungi Biol Control Syst.**, p. 161–187, 1988.

WOOD, D. E.; SALZBERG, S. L. Kraken: Ultrafast Metagenomic Sequence Classification Using Exact Alignments. **Genome Biology**, v. 15, n. 3, p. R46, 3 mar. 2014.



DESENVOLVIMENTO DE ESTRATÉGIAS DE “DRUG DELIVERY” APROPRIADOS PARA O TRATAMENTO DE MELANOMAS POR siRNA

KAUAN FERREIRA DA ROCHA; ME. CREUSA CARVALHO DA COSTA; ME. ANA CRISTINA ALVES RODRIGUES; PROFA. DRA. ELISÂNGELA CLÁUDIA ALVES DE OLIVEIRA

RESUMO

O Melanoma Maligno é a forma mais agressiva de câncer de pele, além de apresentar uma notória resistência medicamentosa a tratamentos. Pesquisadores têm investido em um mecanismo endógeno de interferência, chamado de RNAi, capaz de induzir o silenciamento gênico pela ligação à transcritos complementares, tornando-o um agente silenciador ideal. No entanto, o desenvolvimento de uma plataforma baseada em pequenos RNA interferentes (siRNA) clinicamente viável, depende em grande parte de desenhos de sistemas de entrega apropriados, como por exemplo, DoCh, HA-siRNA-protamina, COS PBA, CuVA3, NPs HA-TAT-TMC-TC, cRGD-R9-colesterol-PEI-PEG e pAVC4. Para isso, o presente trabalho objetiva apontar resultados do uso de nanopartículas no desenvolvimento de estratégias de “drug delivery” eficazes no silenciamento de genes críticos do ciclo celular de melanomas, de siRNA. Trata-se de uma revisão integrativa, que ocorreu no mês de agosto de 2023, por meio das bases de dados PubMed, MEDLINE, LILACS e BVS. Utilizou-se artigos publicados no período de 2019-2023 com os descritores em Ciências da Saúde: “siRNA”, “Nanopartículas”, “Melanomas” e “RNA de Interferência”. Totalizou-se vinte e cinco trabalhos disponíveis na íntegra, em inglês. Os critérios de exclusão foram materiais da literatura cinzenta e artigos duplicados. Após a aplicabilidade dos critérios, elegeram-se sete artigos para a elaboração desta pesquisa. O presente trabalho trouxe os achados compilados dos artigos cujo enfoque era o desenvolvimento de nanopartículas com características desejáveis para produção de fármacos. Os atributos esperados são: capacidade de alta penetração celular, citotoxicidade nula, encapsulamento excelente, liberação controlada de siRNA. Os resultados obtidos com o uso das nanopartículas carregadas com siRNA demonstram o silenciamento de genes alvos, como a inibição de vias de expressão, indução da apoptose, baixa ou nula taxa de metástase, parada significativa do crescimento e proliferação celular. Dessa forma, de acordo com a literatura científica pesquisada, conclui-se que os sistemas de entrega apontados; DoCh, HA-siRNA-protamina, COS PBA, CuVA3, NPs HA-TAT-TMC-TC, cRGD-R9-colesterol-PEI-PEG e pAVC4 são promissores para o endereçamento de siRNA à melanomas.

Palavras-chave: Nanopartículas; knockdown; terapia antitumoral; oncogenética.

1 INTRODUÇÃO

O melanoma maligno (MM) é a forma mais agressiva de câncer de pele, além de possuir uma notória resistência medicamentosa a tratamentos (Eddy; Chen, 2020). Ressalta-se que seu processo tumorigênico está fortemente relacionado ao acometimento de mutações hereditárias em genes críticos do ciclo celular de células epiteliais (Newton-Bishop *et al.* 2020).

Nesse contexto, o uso de um mecanismo endógeno de interferência de RNA, através de pequenas moléculas de RNAs induzem o silenciamento gênico pela ligação à transcritos

complementares de genes envolvidos com essa patologia, tornando-o um agente silenciador ideal para fornecer uma forma de tratamento de melanoma aplicável (França *et al.* 2010). No entanto, o desenvolvimento de uma plataforma baseada em siRNA clinicamente viável, depende em grande parte de desenhos de sistemas de entrega apropriados para ácidos ribonucleicos (Habib *et al.* 2020).

Atualmente, no campo das ciências biomédicas, os sistemas de entrega ou “drug delivery” baseados em nanobiotecnologia e nanotecnologia, ganharam um crescente interesse de pesquisa e aplicabilidade (Neves *et al.* 2022). Os sistemas de entrega são descritos como uma variedade de nanopartículas com propriedades físicas, químicas e biológicas únicas, projetadas para encapsular e entregar fármacos ou agentes terapêuticos, de forma específica em tecidos e/ou células (Güven, 2021). Para a entrega de siRNA é necessário a utilização de um sistema de endereçamento de fármaco eficaz para auxiliar na distribuição destes agentes terapêuticos no citoplasma das células transfectadas (Obeid *et al.* 2021).

Para isso, o presente trabalho objetiva destacar os resultados do uso de nanopartículas como “drug delivery” eficazes no silenciamento de genes críticos do ciclo celular de melanomas, através de pequenos RNAs interferentes.

2 MATERIAIS E MÉTODOS

Trata-se de uma revisão integrativa de cunho descritivo e exploratório, que ocorreu no mês de agosto de 2023 por meio das bases de dados PubMed e *Medical Literature Analysis and Retrieval System Online* (MEDLINE) e *Literatura Latino-americana e do Caribe em Ciências da Saúde* (LILACS) e via *Biblioteca Virtual em Saúde* (BVS). Utilizou-se para tal, artigos publicados no período de 2019-2023 com os seguintes descritores em Ciências da Saúde (DeCS): “siRNA”, “Nanopartículas”, “Melanomas” e “RNA de Interferência” interligados pelo operador booleano AND. Totalizou-se vinte e cinco trabalhos disponíveis na íntegra, em inglês. Os critérios de exclusão foram materiais da literatura cinzenta e artigos duplicados. Após a aplicabilidade dos critérios, elegeram-se sete artigos para a elaboração desta pesquisa.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

O presente trabalho trouxe os achados compilados dos artigos cujo o enfoque principal era o desenvolvimento de nanopartículas com características desejáveis para produção de fármacos. Os atributos esperados são: capacidade de alta penetração celular, citotoxicidade nula, encapsulamento excelente, liberação controlada de siRNA. A seguir são apresentados os trabalhos consultados nesta pesquisa, conforme apresentado na Tabela 1.

Tabela 1. Trabalhos consultados e seus respectivos sistemas de entrega a genes-alvos críticos do ciclo celular de melanomas.

Autores	Título	Sistemas de Entrega	Genes-alvo
Exehige <i>et al.</i> (2020)	Silencing of STAT3 via Peptidomimetic DoCh LNP- Mediated Systemic Delivery of RNAi Downregulates PD- L1 and Inhibits Melanoma Growth.		STAT3
Yang <i>et al.</i> (2021)	Development of a carrier system containing hyaluronic acid and protamina protamine for siRNA delivery in the treatment of melanoma.	HA-siRNA-	STAT3
Liu <i>et al.</i> (2021)	Enhancing anti-melanoma outcomes in mice using novel chitoooligosaccharide nanoparticles loaded with therapeutic survivin-targeted siRNA.	COS PBA	Survivina

Erdene-Ochir <i>et al.</i> (2019)	Alkylation enhances biocompatibility and siRNA delivery efficiency of cationic curdlan nanoparticles.	CuVa3	STAT3
Bao <i>et al.</i> (2023)	Tumor targeted siRNA delivery by adenosine receptor-specific curdlan nanoparticles.	pAVC4	STAT3
Bastaki <i>et al.</i> (2021)	Co-delivery of STAT3 and PD-L1 siRNAs by hyaluronate-TAT trimethyl/thiolated chitosan nanoparticles suppresses cancer progression in tumor-bearing mice.	HA-TAT-TMC-PD-L1	STAT3
Zhang <i>et al.</i> (2021)	Treatment of Melanoma by Nano-cRGD-R9-cholesterol-conjugate-Delivered Wee1 siRNA. Molecular Pharmaceutics.	PEI-PEG	WEE1

Exehige *et al.* (2020) perceberam o potencial terapêutico do silenciamento da expressão do gene STAT3 (Signal Transducer and Activator of Transcription 3) envolvido em piores prognósticos de pacientes com melanomas. Estes autores desenharam nanopartículas lipídicas (LNPs) baseadas em peptidomiméticos para entrega de siRNA em modelo murino de melanoma. Os resultados obtidos mostraram que, quando a nova formulação (descrita como DoCh) era administrada sistemicamente, induzia o silenciamento da expressão de STAT3, além de distribuir preferencialmente o siRNA ao tecido tumoral. Yang *et al.* (2021) obtiveram resultados semelhantes com o desenvolvimento de um sistema transportador contendo ácido hialurônico e protamina (HA-siRNA-protamina) para entrega de siRNA em células murinas B16F10, direcionados ao gene STAT3.

Liu *et al.* (2021) obtiveram sucesso no desenvolvimento de nanopartículas feitas de chitooligossacarídeo (COS) modificado com ácido fenilborônico (PBA). O objetivo seria direcionar o siRNA à survivina (participante da família de proteínas inibidoras da apoptose), localizada na maioria dos subtipos de melanomas. A entrega de siRNA com COS PBA, obteve sucesso apresentando potencial antiproliferativo em células B16F10 *in vitro*. Além de inibir significativamente o crescimento e a metástase do melanoma murino. Dessa forma, o COS modificado com PBA pode servir como um transportador eficiente para a entrega de siRNA na terapia antitumoral.

Erdene-Ochir *et al.* (2019) encontraram resultados não tão satisfatórios com sistemas de entrega derivados de Curdlana (produzido pelas espécies de *Alcaligenes faecalis*). Embora tenham comprovado a grande eficiência de entrega de genes e siRNA *in vitro* de curdlana aminada (6AC-100), foram relatados problemas de citotoxicidade associado. Como alternativa, os autores conjugaram um grupo alquilo curto no 6-amino-curdlan (CuVA3) para diminuir a toxicidade da curdlana aminada e aumentar a eficiência da entrega intracelular em células B16 transfectadas com siSTAT3 complexadas com CuVa3. Os polímeros CuVa associaram prontamente com siRNA para formar nanopartículas e induziram um knockdown significativo do gene STAT3 na linhagem celular de melanoma murino B16.

Bao *et al.* (2023) melhoraram a biocompatibilidade do derivado de curdlan, através da fusão do derivado de amino curdlan com adenosina (denotado por polímero pAVC). Os autores confirmaram que a captação do polímero pAVC transportando siRNA pelas células tumorais era dependente do receptor de adenosina (AR) e foi especificamente inibida pelo AMP (Monofosfato de Adenosina), mas não pelo GMP (Monofosfato de Guanina). Os polímeros pAVC tanto reconheciam o receptor quanto exibiam citotoxicidade reduzida, e também foram eficientes no direcionamento do tumor *in vivo*. A entrega do siRNA do pAVC foi altamente específica ao tecido tumoral, silenciando o gene STAT3 e inibindo o crescimento tumoral.

Bastaki *et al.* (2021) obtiveram resultados semelhantes a respeito do sistema de entrega

projetado para fornecer pequenos siRNAs no gene STAT3 e no gene PD-L1 (Potencializador de metástases). Esse sistema de entrega consistia em nanopartículas (NPs) de trimetilquitosana (TMC) e chitosana tiolada (TC) conjugadas com peptídeo TAT derivado de HIV-1 e HA (ácido hialurônico) com características físico-químicas desejáveis. Os autores relatam que a inibição dupla com NPs HA-TAT-TMC-TC carregados com siRNA STAT3/PD-L1 levou a regulação negativa significativa dos genes PD-L1 e STAT3, com enormes efeitos supressivos na proliferação e migração em linhagens celulares de melanoma, contendo crescimento tumoral contido *in vivo*.

Zhang *et al.* (2021) utilizaram o cRGD (colesterol), o R8-cRGD (conjugado de peptídeo de penetração celular) e o PEG (polietilenoglicol) introduzidos em LMW PEI (polietilenoimina de baixo peso molecular) para formar nanopartículas cRGD-R9-colesterol-PEI-PEG transportando siRNA com direcionamento específico e alta capacidade de penetração celular. Como resultado, houve silenciamento significativo do gene WEE1 (Aproximadamente 60% da taxa de inibição) e induziu a apoptose de células tumorais B16. Além disso, o complexo RRCPP/siWee1 suprimiu o crescimento tumoral em modelo de xenoinxerto subcutâneo (aproximadamente 85% da taxa de inibição) e metástase pulmonar (aproximadamente 66% de taxa de inibição) com segurança *in vivo*.

Outra alternativa de sistemas de entrega foi proposta por Zhao *et al.* (2019). Neste trabalho, os autores investigaram os efeitos cooperativos do medicamento pimozida, que tem efeito terapêutico no melanoma, associado ao RNA de interferência (RNAi) direcionado ao PD-1 (Proteína de ponto de verificação de células nas células T), envolvida no escape imunológico do tumor. O siRNA PD-1 foi entregue a camundongos portadores de melanoma por *Salmonella* atenuada, em combinação com a administração do medicamento pimozida. Os resultados demonstraram que a terapia combinada teve o efeito terapêutico ideal no melanoma. Os mecanismos que comprovam sua eficácia envolveram a indução de apoptose e melhora na resposta imunológica.

4 CONCLUSÃO

Dessa forma, de acordo com a literatura científica pesquisada, conclui-se que os sistemas de entrega destacados; DoCh, HA-siRNA-protamina, COS PBA, CuVA3, pAVC4, NPs HA-TAT-TMC-TC e cRGD-R9-colesterol-PEI-PEG são promissores para o endereçamento de siRNA à melanomas. Entretanto, a busca por desenhos de sistemas de entrega deve-se manter constante, a fim de se obter novas estratégias farmacêuticas para o arsenal terapêutico de neoplasias.

REFERÊNCIAS

BASTAKI, S; ARAVINDHAN, S; AHMADPOUR SAHEB, N; AFSARI KASHANI, M; EVGENIEVICH DOROFEEV, A; KAROON KIANI, F; JAHANDIDEH, H; BEIGI DARGANI, F; AKSOUN, M; NIKKHOO, A; MASJEDI, A; MAHMOODPOOR, A; AHMADI, M; DOLATI, S; NAMVAR AGHDASH, S; JADIDI-NIARAGH, F. Codelivery of STAT3 and PD-L1 siRNA by hyaluronate-TAT trimethyl/thiolated chitosan nanoparticles suppresses cancer progression in tumor-bearing mice. **Life Sciences**, v.266, 2021.

BAO, Q; GANBOLD, T; BAO, M; XIAO, H; HAN, S; BAIGUDE, H. Tumor targeted siRNA delivery by adenosine receptor-specific curdlan nanoparticles. **International Journal of Biological Macromolecules**, v.253, p.3, 2023.

NEVES, K. J. D. S; CAMPOS, E. S. S; PAIVA, M. A; DE BARROS, N. B; MARTINS, T. S. Sistemas de entrega de drogas baseados em nanotecnologia: nanopartículas poliméricas para tratamento de câncer Nanotechnology-based drug delivery systems: review of recent

nanodrug development for cancer treatment. **Brazilian Journal of Development**, v. 8, n. 4, p. 24770-24787, 2022.

EDDY, K; CHEN, S. Overcoming Immune Evasion in Melanoma. **International Journal Molecular Sciences**. n.21, v.23, p.8984, 2020.

ERDENE-OCHIR, T; GANBOLD, T; ZANDAN, J; HAN, S; BORJIHAN, G; BAIGUDE, H. Alkylation enhances biocompatibility and siRNA delivery efficiency of cationic curdilan nanoparticles. **International Journal of Biological Macromolecules**. n.15, v.143, p.118-125, 2020.

EHEXIGE, E; BAO, M; BAZARJAV, P; YU, X; XIAO, H; HAN, S; BAIGUDE, H. Silencing of STAT3 via Peptidomimetic LNP-Mediated Systemic Delivery of RNAi Downregulates PD-L1 and Inhibits Melanoma Growth. **Biomolecules**, n.12, v.10, p.285, 2020.

FRANÇA, N. R. DE; MESQUITA, J. D; LIMA, A. B; PUCCI, F. V. C; ANDRADE, L. E. C; SILVA, N. P. Interferência por RNA: uma nova alternativa para terapia nas doenças reumáticas. **Revista Brasileira de Reumatologia**, n.50, v.6, p.695–702, 2010.

GÜVEN, E. Nanotechnology-based drug delivery systems in orthopedics. **Joint Diseases Related Surgery**. v.32, n.1, p:267-273. 2021.

LIU, X; CHEN, L; ZHANG, Y; XIN, X; QI, L; JIN, M; GUAN, Y; GAO, Z; HUANG, W. Enhancing anti-melanoma outcomes in mice using novel chitoooligosaccharide nanoparticles loaded with therapeutic survivin-targeted siRNA. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 2021.

LI, M; WANG, Y; LI, M; WU, X; SETRERRAHMANE, S; XU, H. Integrins as attractive targets for cancer therapeutics. **Acta Pharmaceutica Sinica B**. n.11, v.9, p.2726-2737, 2021.

NEWTON-BISHOP, J; BISHOP, D. T; HARLAND, M. Melanoma Genomics. **Acta Dermato-Venereologica**. n.3, v.100, p.11, 2020.

OBEID, M. A; ALYAMANI, H; AMAWI, H; ALJABALI, A. A. A; REZIGUE, M; ABDELJABER, S. N; FERRO, V. A. siRNA Delivery to Melanoma Cells with Cationic Niosomes. In: Hargadon, K.M. (eds) Melanoma. **Methods in Molecular Biology**, v. 2265, 2021.

SCHADENDORF, D; FISHER, D. E; GARBE, C; GERSHENWALD, J. E; GROB, J. J; HALPERN, A; HERLYN, M; MARCHETTI, M. A; MCARTHUR, G; RIBAS, A; ROESCH, A; HAUSCHILD, A. Melanoma. **Nature Reviews Diseases Primers**, n.1, v.15003, 2015.

WAINSTEIN, A. J. A; BELFORT, F. A. Conduta para o melanoma cutâneo. **Revista do Colégio Brasileiro de Cirurgiões**, n.31, v.3, 2004.

YANG, J; ZHAO, R; FENG, Q; ZHUO, X; WANG, R. Development of a carrier system containing hyaluronic acid and protamine for siRNA delivery in the treatment of melanoma. **Investigational New Drugs**, n.39, v.1, p.66-76, 2021.

ZHANG, X; CAI, A; GAO, Y; ZHANG, Y; DUAN, X; MEN, K. Treatment of Melanoma by Nano-conjugate-Delivered Wee1 siRNA. **Molecular Pharmaceutics**. n.18, v.9, p.3387-3400, 2021.

ZHAO, T; WEI, T; GUO, J; WANG, Y; SHI, X; GUO, S; JIA, X; JIA, H; FENG, Z. PD-1-siRNA delivered by attenuated Salmonella enhances the antimelanoma effect of pimeozide. **Cell Death Disease**, n.164, v.10, 2019.



EFEITO DA TEMPERATURA DA ÁGUA E JANELA TÉRMICA IDEAL NA QUEBRA DE DORMÊNCIA DE SEMENTES DA ESPÉCIE FLORESTAL MIMOSA FLOCCULOSA BURKART. GERMINADAS A CAMPO

LAURO WILLIAM PETRENTCHUK; NICOLE KNOP ALVES MACHADO

Introdução: As pesquisas florestais demandam mais tempo de avaliação frente a outras pesquisas agrícolas, em função do desenvolvimento das árvores e coleta de dados, porém, não é menos importante para o avanço técnico científico da sociedade. Uma das razões para se justificar a realização desta pesquisa, é a deficiência em estudos atuais sobre a espécie *Mimosa flocculosa* Burkart e os tratamentos silviculturais, incluindo os efeitos da fisiologia vegetal na quebra de dormência e o desenvolvimento das mudas, **Objetivos:** Determinar a janela térmica mais adequada para a quebra de dormência e germinação de sementes de Bracatinga-de-Campo Mourão (*Mimosa flocculosa* Burkart). **Metodologia:** O estudo foi conduzido no Instituto Federal de Santa Catarina, Campus Canoinhas-SC. As sementes de *Mimosa flocculosa* Burkart. Foram selecionadas 100 sementes de *Mimosa flocculosa* Burkart para cada tratamento. Os tratamentos testados consistiram em água nas temperaturas de 70°C, 75°C, 80°C, 85°C e 90°C, e o tratamento testemunha com a imersão das sementes em água destilada em temperatura ambiente, com a permanência da semente na mesma água por 12 horas para embebição. Foram realizadas 4 repetições para cada tratamento. Após o tratamento foram semeadas diretamente a campo em covas de 20 cm x 20 cm x 20 cm na área experimental do Campus Canoinhas para avaliação da germinação. **Resultados:** obtiveram-se, após 7 dias de semeadura, a germinação de 90% no tratamento com água em 90°C e apenas 12% de germinação com o tratamento controle utilizando-se água em temperatura ambiente. Já para os tratamentos com água em 70°C, 75°C, 80°C e 85°C, obteve-se respectivamente valores de germinação de 81%, 81%, 83% e 89%. **Conclusão:** Conclui-se que a temperatura de 90°C demonstrou a melhor taxa de germinação de sementes de *Mimosa flocculosa* Burkart, enquanto apenas o uso de água em temperatura ambiente não garante sucesso na germinação, revelando-se deficiente quanto à otimização de germinação das sementes com valor de 12%. Os tratamentos 70°C, 75°C, 80°C, demonstraram valores similares de germinação entre si. Pode-se concluir que a janela térmica ideal para quebra de dormência de *Mimosa flocculosa* Burkart com água é de 85°C a 90°C conforme os resultados apresentados pelos respectivos tratamentos.

Palavras-chave: Avaliação, Bracatinga de campo mourão, Dormência, Espécie, Temperatura.



EFEITOS DA HETEROBELTIOSE SOBRE A FLUORESCÊNCIA DA CLOROFILA EM GENÓTIPOS DE MILHO-PIPOCA INOCULADOS COM BACILLUS SP. SOB CONDIÇÕES DISTINTAS DE DISPONIBILIDADE DE ÁGUA

MONIQUE DE SOUZA SANTOS; UÉLITON ALVES DE OLIVEIRA; TALLES DE OLIVEIRA SANTOS; VALER JÁRIO DE LIMA; ANTÔNIO TEIXEIRA DO AMARAL JÚNIOR

Introdução: A seca provoca distúrbios fisiológicos no milho-pipoca (*Zea Mays* Var. Everta) reduzindo sua produtividade. Por isso, genótipos adaptados à seca em associação com bactérias promotoras do crescimento do gênero *Bacillus* sp. é uma alternativa sustentável para mitigação do estresse hídrico. **Objetivos:** Analisar a resposta da fluorescência da clorofila e dos efeitos da heterobeltiose em genótipos de milho-pipoca em interação com *Bacillus* sp. sob duas condições (CH) hídricas. **Metodologia:** A avaliação foi realizada em casa de vegetação sob duas CH: i) déficit hídrico (WS), com imposição de déficit 20 dias após a emergência até as plantas atingirem 50 % da capacidade de campo (CC); e ii) irrigação normal (WW), com 100 % da CC. Duas linhagens (L61 e L76) e seu híbrido (WS01) foram avaliados. O delineamento experimental foi o de blocos casualizados em fatorial triplo, combinando-se CH (WS e WW), genótipos (L61, L76 e WS01) e tipo de inoculação (com e sem), com três repetições. Os substratos, em tubos de PVC, foram constituídos por 70% de basaplant e 30% de perlita. Aplicou-se 1mL do inóculo contendo a bactéria LMS 71 sobre as sementes de WSI (estresse inoculado) e WWI (irrigado inoculado). Os tratamentos WSC (estresse controle) e WWC (irrigado controle) receberam 1 mL de meio branco. As plantas foram avaliadas com o auxílio do FluorPen e estimada a heterose e heterobeltiose das seguintes características: Fluorescência mínima – F0; Fluorescência máxima – Fm; Fluorescência variável – Fv e Eficiência quântica do fotossistema II – Fv/Fm. **Resultados:** Foi observada heterose e predominância da heterobeltiose, respectivamente – F0: WSC (4,75 e 7,97), WSI (13,84 e 31,53), WWC (3,03 e 10,02), WWI (-4,83 e 7,54); Fm: WSC (24,47 e 31,72), WSI (32,82 e 45,21), WWC (5,37 e 6,70), WWI (0,11 e 1,07); Fv WSC (32,35 e 41,31), WSI (51,97 e 74,96), WWC (6,88 e 7,72), WWI (14,62 e 16,53); Fv/Fm: WSC (8,97 e 9,72), WSI (9,17 e 9,57), WWC (1,05 e 1,05) e WWI (6,95 e 8,48 em todas as características, condições hídricas e tipos de inoculação. **Conclusão:** A heterobeltiose é a estratégia de melhoramento mais sustentável para desenvolver genótipos adaptados à seca em associação com *Bacillus* sp.

Palavras-chave: Déficit hídrico, *Zea mays* var. everta, Heterose, *Bacillus* sp., Fluorescência.



EXOSSOMAS COMO FERRAMENTA ESTRATÉGICA NA PESQUISA E DESENVOLVIMENTO DE VACINAS PARA O CÂNCER DE MAMA

KARINA MAYUMI TANI BEZERRA DE MELO; PEDRO HENRIQUE BEZERRA FONTES; DÉBORA VITÓRIA SANTOS DE SOUZA; MARIANA SALGUEIRO DE ALMEIDA; INGRID ANDRÊSSA DE MOURA

RESUMO

Introdução: O câncer de mama é o principal câncer diagnosticado em mulheres e, também, umas das principais causas de morte, além de apresentar uma alta taxa de metástase pelos tecidos. Ele apresenta os tipos moleculares: Luminal A, Luminal B, HER-2 e o Triplo Negativo, sendo os dois últimos considerados de difícil prognóstico, associado a ineficácia de hormonioterapias e a resistência aos tratamentos convencionais, sendo necessário terapias mais assertivas e invasivas que levem a uma maior sobrevivência do paciente e uma menor taxa de recidiva do tumor. Os exossomas são vesículas formadas a partir de células normais, como macrófagos e células apresentadoras de antígenos (APCs), ou de células tumorais, como as células cancerígenas da mama. Elas participam da comunicação celular, além de participar da progressão tumoral, metástase e resistência ao tratamento. Desse modo, exossomas podem ser considerados uma nova abordagem de terapia. **Objetivo:** Apresentar os exossomas como alternativa para desenvolvimento de vacinas no tratamento do câncer de mama. **Metodologia:** Com base nessas informações, esse resumo busca, a partir de uma revisão bibliográfica nos bancos de dados PubMed, Embase e Biblioteca Virtual de Saúde, artigos que demonstram como os exossomas podem ser usados para produção de vacinas para o câncer de mama. **Resultados:** Dentre os resultados, foi observado que os exossomas podem ser usados para carregar moléculas que podem ser apresentadas para o sistema imune, além de serem modificados para apresentar na sua superfície células que vão estimular o sistema imune. Suas características como bioestabilidade, biocompatibilidade e baixa toxicidade, demonstram que podem ser uma ótima abordagem terapêutica, porém há algumas limitações como manter as características dos exossomas após as modificações e inserir moléculas antigênicas no seu interior. **Conclusão:** No geral, apesar de existirem algumas limitações, os estudos apresentam que os exossomas podem ser uma boa alternativa de terapia, levando a regressão tumoral, já que promovem a ativação de células dendríticas e de células T, além de poderem induzir a morte celular das células tumorais.

Palavras-chave: Tratamento; Imunomodulação; Imunoterapia; Biotecnologia; Oncologia

1 INTRODUÇÃO

O câncer de mama é uma doença causada pela multiplicação desordenada de células anormais da mama, que formam um tumor com potencial de invadir outros órgãos. De acordo com as estimativas da Globocan, o câncer de mama é um dos cânceres mais comumente diagnosticados em ambos os sexos combinados e é a principal causa de morte por câncer entre as mulheres (WANG *et al.* 2021).

Ele pode ser dividido em várias categorias: O subtipo luminal A, que apresenta

receptores para estrógeno (ER) e para progesterona (PR) e não apresenta expressão da proteína HER-2, e com relação aos demais, o melhor prognóstico. Na sua maioria, são tumores histologicamente de baixo grau e apresentam resposta inferior à quimioterapia, enquanto, tumores luminais B, que apresentam ER e/ou PR e não expressam a proteína HER-2, têm uma maior proliferação e são, muitas vezes, de alto grau histológico. Já o subtipo superexpressão do receptor tipo 2 do fator de crescimento epidérmico humano (HER-2), que não apresenta receptores ER e nem PR, mas expressa HER-2, sem a terapia adjuvante sistêmica, tem menor sobrevida livre de doença e elevada taxa de recorrência, porém se beneficia de terapias alvo específicas (BARRETO-NETO *et al.* 2014).

No entanto, aproximadamente 20% de todos os cânceres de mama não apresentam essas características, sem expressão de HER-2, ER e PR, sendo assim conhecido como o câncer de mama triplo-negativo (TNBC). A TNBC é um subtipo particularmente agressivo de tumores, não respondendo à terapia hormonal e sendo mais prevalente em mulheres mais jovens. Suas opções terapêuticas atuais variam de acordo com o subtipo e o estágio do tumor e são baseadas em cirurgia e terapêutica convencional, que podem ser adjuvantes ou neoadjuvantes, ou seja, quimioterapia, radioterapia (RT) e imunoterapia (TORRES QUINTAS *et al.* 2023). Embora estratégias avançadas de tratamento tenham sido aplicadas e as taxas atuais de mortalidade reduzidas, o controle do câncer de mama continua insatisfatório.

Foi visto por WANG *et al.* (2021) que as células do câncer de mama são quimio e radioresistentes, resistentes à terapia com hormônios e terapia anti-HER-2, algo que tem comprometido o tratamento de seus pacientes e, por isso, os exossomas aparecem no cenário como a saída, para melhorar os resultados observados (MURILLO *et al.* 2019). Eles regulam a resistência às drogas farmacêuticas e participam da transferência de resistência às células cancerígenas sensíveis a estes medicamentos, pela liberação de microRNAs (miRNAs) exossômicos específicos (CHEN *et al.* 2014). Pesquisadores descobriram que o miRNA-221/222 exossômico secretado pelas células tumorais positivas para ER- α apresentam resistência ao tamoxifeno, reduzindo a expressão da proteína P27 e ER- α nas células consideradas sensíveis a ele. Discutiu-se na literatura que RNAs não codificantes exossômicos parecem estar envolvidos na regulação de funções inerentes de doenças humanas, como o câncer de mama. Em um estudo anterior, AUNG *et al.* (2011) identificaram que os exossomas tinham ligação direta com os resultados de alguns medicamentos associados a anticorpos, além de que, ao serem liberados de células cancerígenas supressoras de HER-2 com a proteína HER-2, estes exossomas tendem a neutralizar o trastuzumabe baseado em anticorpos direcionados a HER-2 e amenizam a ligação com células-alvo (CIRAVOLO *et al.* 2012).

Diante disso, os exossomas aparecem com um grande potencial terapêutico devido ao seu pequeno tamanho, composição configurável, tropismo celular e ao fato de que essas pequenas partículas podem se acumular melhor em tumores sobre tecidos saudáveis, devido ao vazamento e à drenagem linfática subdesenvolvida presente (TORRES QUINTAS *et al.* 2023). Eles mediam um novo modo de comunicação intercelular através de suas cargas bioativas, como lipídios, ácidos nucleicos, metabólitos e proteínas, que podem ser entregues às células-alvo (WANG *et al.* 2021). Devido a essas características e juntamente com o fato de que os exossomas têm uma origem endógena, o que facilita a circulação sistêmica de drogas com baixa imunogenicidade e toxicidade, eles também podem ser usados para aumentar a entrega de medicamentos aos tumores (TORRES QUINTAS *et al.* 2023). Apesar disso, ainda existem limitações no direcionamento específico dos exossomas incluindo: I) encontrar uma maneira de selecionar o marcador específico de superfície celular TNBC ou receptor para direcionamento, II) revelando como projetar as modificações da superfície exossômica, para maximizar a eficiência de ligação e especificidade para biomarcadores de superfície celular TNBC, com preservação do exossômico estrutura e conteúdo, III) realizar essas modificações sem perder características naturais dos exossomas, cruciais para o sucesso desta terapia

abordagem (TORRES QUINTAS *et al.* 2023).

Com isso, o objetivo deste resumo é apresentar os exossomas como alternativa para desenvolvimento de vacinas no tratamento de câncer de mama.

2 MATERIAIS E MÉTODOS

Foi feita uma pesquisa bibliográfica e transversal por meio de publicações de artigos científicos de acesso aberto nas bases de dados: PubMed, Embase e Biblioteca Virtual em Saúde. As palavras chaves utilizadas na busca foram: “exosome”, “vaccine” e “breast cancer”. Os artigos foram selecionados de acordo com o diagrama de fluxo de itens de Relatório Preferido para Revisões Sistemáticas e Meta-análises (PRISMA).

Foram excluídos artigos duplicados, artigos de acesso restrito e, por fim, artigos que não falassem sobre o uso de exossomas para a construção de vacinas para câncer de mama. Após a leitura e aplicação dos critérios de seleção adotados, restaram 9 artigos para serem utilizados neste resumo.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Dentre os resultados, foram vistos artigos que abordam o uso de exossomas das células tumorais da mama ou de células normais, como macrófagos e células dendríticas, em vacinas para o câncer de mama tipo HER-2 e para o triplo negativo, que são considerados de pior prognóstico. Para o tipo HER-2, uma das terapias utilizadas é o uso do Trastuzumabe, porém alguns pacientes adquirem resistência ao fármaco, além de que ele apresenta efeitos adversos, como toxicidade cardíaca (WANG *et al.* 2013; XIE *et al.* 2018). E em relação ao tipo Triplo Negativo, por não ter receptores de estrogênio, progesterona e do receptor tipo 2 do fator de crescimento epidérmico humano, suas terapias são limitadas, por isso a mais utilizada é a quimioterapia, porém também apresenta uma série de efeitos colaterais e uma alta taxa de recidiva do tumor (LI, Z. *et al.* 2018; TORRES QUINTAS *et al.* 2023).

Para o câncer do tipo Triplo Negativo, o artigo de HUANG *et al.* (2022) evidenciou o uso de uma vacina com exossomas derivados das células tumorais da mama que foram modificados para expressar a proteína α -lactalbumina (α -LA) e carrear, por meio da eletroporação, hiltonol (agonista de TLR3) e um indutor imunogênico de morte celular (ICD), a elastase neutrofílica humana (ELANE), formando a vacina HELA-Exos. Essa vacina foi testada tanto em camundongos quanto em enxertos humanos, e foi observada uma ativação das células dendríticas e uma resposta das células TCD8+, sugerindo uma inibição tumoral em ambos os modelos. Uma das limitações desse artigo, foi a avaliação da toxicidade, apesar de ter sido feita uma avaliação piloto e ter uma segurança, é necessária uma avaliação mais firme. Além disso, foi citada a dificuldade de inserir nos exossomas macro proteínas e grandes moléculas de ácidos nucleicos por meio da eletroporação, sendo necessárias novas abordagens para pesquisas futuras que usem exossomas como carreadores.

Em outro estudo, HU *et al.* (2021) construíram uma vacina com nanovesículas de exossomas de células tumorais que expressam o gene da proteína de ativação dos fibroblastos (FAP), formando a vacina eNPs-FAP. Essa proteína é altamente expressa nos fibroblastos associados ao câncer (CAF) e vacinas que são direcionadas a ela podem ser uma estratégia vacinal para o câncer. Estudos *in vivo* e *in vitro* mostraram uma boa capacidade de ativar as células dendríticas, além de que quando comparada com eNPs, induzia uma melhor resposta antitumoral, isso acontece por causa da resposta CTL contra os antígenos câncer-específicos, visto que eNPs-FAP, além de apresentarem o antígeno tumoral, apresentam o antígeno FAP, em comparação com eNPs que apenas apresenta o antígeno tumoral. No estudo *in vitro*, foi visto que essa vacina pode levar a ferroptose, a morte celular programada causada pela liberação de IFN γ pelas células T, porém no estudo *in vivo* essa liberação não foi significativa comparada com eNPs, sugerindo que a ferroptose pode estar acontecendo por outras proteínas.

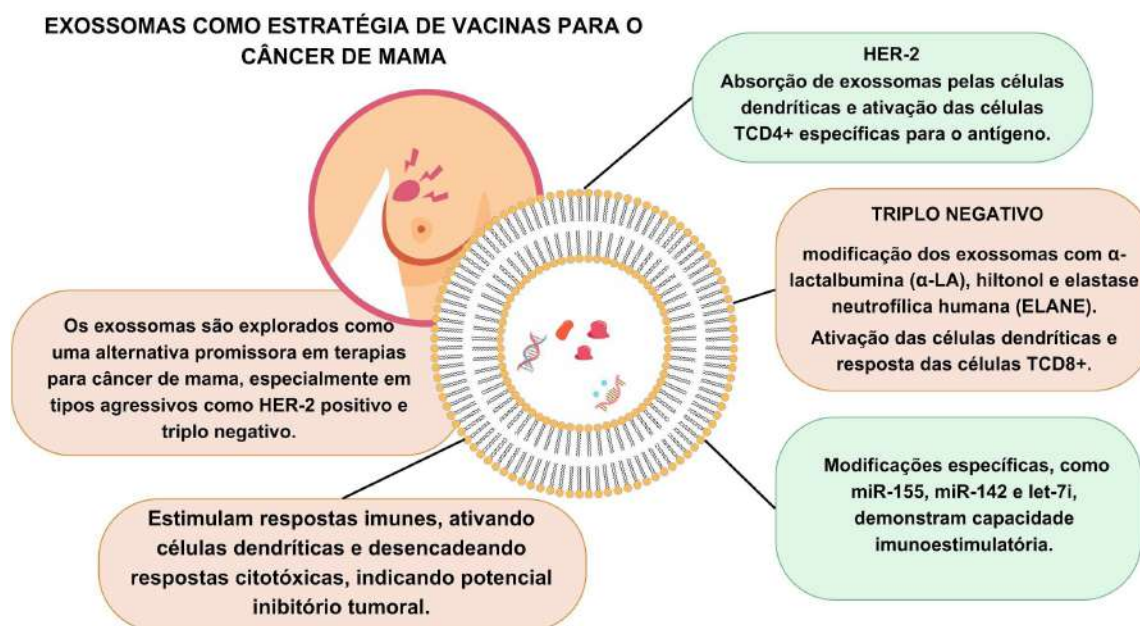
Outros estudos sugerem que os CAF podem afetar direta ou indiretamente a ferroptose, então HU *et al.* (2021) sugeriram que a ferroptose acontece tanto pela liberação de IFN γ e a diminuição de FAP+CAF.

Com relação ao câncer de mama do tipo HER2, LI, R. *et al.* (2018) já evidenciam o uso de vacinas com exossomas baseadas em linfócitos TCD4+. Por meio dessas vacinas, os linfócitos TCD4+ policlonais conseguem absorver EXOs liberados por células dendríticas, que são específicos do antígeno, por meio da interação da proteína CD54 do exossomo com o antígeno 1 associado à função dos linfócitos T. Como resultado, ocorre a expressão de algumas moléculas que estão presentes na superfície do exossoma, pMCH-I e CD80, fazendo com que as células TCD4+ policlonais tornem-se uma vacina que seja específica para o antígeno (HAO *et al.* 2007; WANG *et al.* 2014). O que promete ser eficaz contra tumores positivos para HER-2 e um tratamento promissor para o câncer, por estimular respostas imunes no sistema imunológico do paciente com células cancerígenas.

Além disso, vacinas com exossomas baseadas em células 4T1/Her2 também se mostraram bastantes eficazes no combate ao câncer de mama do tipo HER2. YILDIRIM *et al.* (2021) modificaram esse tipo de vacina utilizando CpG ODN e p (I:C), dois adjuvantes potentes, que foram capazes de ativar respostas de células T primárias e de memórias específicas do antígeno. Além disso, a vacina foi capaz de estimular a secreção de anticorpos IgG2a e IFN γ por meio da resposta de TH1. Como consequência, foi observado uma regressão tumoral em camundongos. A combinação desses adjuvantes deve ter desencadeado uma resposta imune mais eficaz quando foram administrados dentro de um transportador (KRUMMEN *et al.* 2010).

Também, foi comprovado que exossomas modificados com miR-155, miR-142 e let-7i, possuem a capacidade imunoestimulatória suficiente para maturar células dendríticas (TAGHIKHANI *et al.* 2019).

Figura: Possíveis usos dos exossomas e suas propriedades para a construção de vacinas para o câncer de mama.



Fonte: Autores (2024)

4 CONCLUSÃO

Os achados desse resumo mostram que os exossomas tem um grande potencial para combater o câncer, em especial o câncer de mama, apesar de ainda existirem algumas

limitações. Estas baseiam-se na difícil inserção do conteúdo antigênico e manutenção das características dos exossomas após modificações na sua membrana. Dentre os resultados, foram observados a ativação de células T e de células dendríticas, além da secreção de anticorpos e citocinas, levando a regressão tumoral, alteração do microambiente tumoral e a morte celular das células tumorais.

REFERÊNCIAS

AUNG, T.; CHAPUY, B.; VOGEL, D.; WENZEL, D.; OPPERMAN, M.; LAHMANN, M.; WEINHAGE, T.; MENCK, K.; HUPFELD, T.; KOCH, R.; TRÜMPER, L.; WULF, G. G. Exosomal evasion of humoral immunotherapy in aggressive B-cell lymphoma modulated by ATP-binding cassette transporter A3. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, [s. l.], v. 108, n. 37, p. 15336–15341, 2011.

BARRETO-NETO, N. J. D. S.; PINHEIRO, A. B.; OLIVEIRA, J. F.; CRUSOÉ, N. S. D. R.; BERTRAND, S. A. B.; MACHADO, M. C. M.; PINTO, R. M. O.; CARVALHO-JUNIOR, J. D.; MACHADO, C. A. C. Perfil epidemiológico dos subtipos moleculares de carcinoma ductal da mama em população de pacientes em Salvador, Bahia. **Revista Brasileira de Mastologia**, [s. l.], v. 24, n. 4, p. 98–102, 2014.

CHEN, W.; LIU, X.; LV, M.; CHEN, L.; ZHAO, J.; ZHONG, S.; JI, M.; HU, Q.; LUO, Z.; WU, J.; TANG, J. Exosomes from Drug-Resistant Breast Cancer Cells Transmit Chemoresistance by a Horizontal Transfer of MicroRNAs. **PLoS ONE**, [s. l.], v. 9, n. 4, p. e95240, 2014.

CIRAVOLO, V.; HUBER, V.; GHEDINI, G. C.; VENTURELLI, E.; BIANCHI, F.; CAMPIGLIO, M.; MORELLI, D.; VILLA, A.; MINA, P. D.; MENARD, S.; FILIPAZZI, P.; RIVOLTINI, L.; TAGLIABUE, E.; PUPA, S. M. Potential role of HER2-overexpressing exosomes in countering trastuzumab-based therapy. **Journal of Cellular Physiology**, [s. l.], v. 227, n. 2, p. 658–667, 2012.

HAO, S.; YUAN, J.; XIANG, J. Nonspecific CD4⁺ T cells with uptake of antigen-specific dendritic cell-released exosomes stimulate antigen-specific CD8⁺ CTL responses and long-term T cell memory. **Journal of Leukocyte Biology**, [s. l.], v. 82, n. 4, p. 829–838, 2007.

HU, S.; MA, J.; SU, C.; CHEN, Y.; SHU, Y.; QI, Z.; ZHANG, B.; SHI, G.; ZHANG, Yan; ZHANG, Yuwei; HUANG, A.; KUANG, Y.; CHENG, P. Engineered exosome-like nanovesicles suppress tumor growth by reprogramming tumor microenvironment and promoting tumor ferroptosis. **Acta Biomaterialia**, [s. l.], v. 135, p. 567–581, 2021.

HUANG, L.; RONG, Y.; TANG, X.; YI, K.; QI, P.; HOU, J.; LIU, W.; HE, Y.; GAO, X.; YUAN, C.; WANG, F. Engineered exosomes as an in situ DC-primed vaccine to boost antitumor immunity in breast cancer. **Molecular Cancer**, [s. l.], v. 21, n. 1, p. 45, 2022.

KRUMMEN, M.; BALKOW, S.; SHEN, L.; HEINZ, S.; LOQUAI, C.; PROBST, H.-C.; GRABBE, S. Release of IL-12 by dendritic cells activated by TLR ligation is dependent on MyD88 signaling, whereas TRIF signaling is indispensable for TLR synergy. **Journal of Leukocyte Biology**, [s. l.], v. 88, n. 1, p. 189–199, 2010.

LI, R.; CHIBBAR, R.; XIANG, J. Novel EXO-T vaccine using polyclonal CD4⁺ T cells

armed with HER2-specific exosomes for HER2-positive breast cancer. **OncoTargets and Therapy**, [s. l.], v. Volume 11, p. 7089–7093, 2018.

LI, Z.; QIU, Y.; LU, W.; JIANG, Y.; WANG, J. Immunotherapeutic interventions of Triple Negative Breast Cancer. **Journal of Translational Medicine**, [s. l.], v. 16, n. 1, p. 147, 2018.

MURILLO, O. D.; THISTLETHWAITE, W.; ROZOWSKY, J.; SUBRAMANIAN, S. L.; LUCERO, R.; SHAH, N.; JACKSON, A. R.; SRINIVASAN, S.; CHUNG, A.; LAURENT, C. D.; KITCHEN, R. R.; GALEEV, T.; WARRELL, J.; DIAO, J. A.; WELSH, J. A.; HANSPERS, K.; RIUTTA, A.; BURGSTALLER-MUEHLBACHER, S.; SHAH, R. V.; YERI, A.; JENKINS, L. M.; AHSEN, M. E.; CORDON-CARDO, C.; DOGRA, N.; GIFFORD, S. M.; SMITH, J. T.; STOLOVITZKY, G.; TEWARI, A. K.; WUNSCH, B. H.; YADAV, K. K.; DANIELSON, K. M.; FILANT, J.; MOELLER, C.; NEJAD, P.; PAUL, A.; SIMONSON, B.; WONG, D. K.; ZHANG, X.; BALAJ, L.; GANDHI, R.; SOOD, A. K.; ALEXANDER, R. P.; WANG, L.; WU, C.; WONG, D. T. W.; GALAS, D. J.; VAN KEUREN-JENSEN, K.; PATEL, T.; JONES, J. C.; DAS, S.; CHEUNG, K.-H.; PICO, A. R.; SU, A. I.; RAFFAI, R. L.; LAURENT, L. C.; ROTH, M. E.; GERSTEIN, M. B.; MILOSAVLJEVIC, A. exRNA Atlas Analysis Reveals Distinct Extracellular RNA Cargo Types and Their Carriers Present across Human Biofluids. **Cell**, [s. l.], v. 177, n. 2, p. 463-477.e15, 2019.

TAGHIKHANI, A.; HASSAN, Z. M.; EBRAHIMI, M.; MOAZZENI, S. microRNA modified tumor-derived exosomes as novel tools for maturation of dendritic cells. **Journal of Cellular Physiology**, [s. l.], v. 234, n. 6, p. 9417–9427, 2019.

TORRES QUINTAS, S.; CANHA-BORGES, A.; OLIVEIRA, M. J.; SARMENTO, B.; CASTRO, F. Special Issue: Nanotherapeutics in Women's Health Emerging Nanotechnologies for Triple-Negative Breast Cancer Treatment. **Small**, [s. l.], p. 2300666, 2023.

WANG, X.; SUN, C.; HUANG, X.; LI, J.; FU, Z.; LI, W.; YIN, Y. The Advancing Roles of Exosomes in Breast Cancer. **Frontiers in Cell and Developmental Biology**, [s. l.], v. 9, p. 731062, 2021.

WANG, L.; XIE, Y.; AHMED, K. A.; AHMED, S.; SAMI, A.; CHIBBAR, R.; XU, Q.; KANE, S. E.; HAO, S.; MULLIGAN, S. J.; XIANG, J. Exosomal pMHC-I complex targets T cell-based vaccine to directly stimulate CTL responses leading to antitumor immunity in transgenic FVBneuN and HLA-A2/HER2 mice and eradicating trastuzumab-resistant tumor in athymic nude mice. **Breast Cancer Research and Treatment**, [s. l.], v. 140, n. 2, p. 273–284, 2013.

WANG, R.; XIE, Y.; ZHAO, T.; TAN, X.; XU, J.; XIANG, J. HIV-1 Gag-specific exosome-targeted T cell-based vaccine stimulates effector CTL responses leading to therapeutic and long-term immunity against Gag/HLA-A2-expressing B16 melanoma in transgenic HLA-A2 mice. **Trials in Vaccinology**, [s. l.], v. 3, p. 19–25, 2014.

XIE, Y.; WU, J.; XU, A.; AHMEQD, S.; SAMI, A.; CHIBBAR, R.; FREYWALD, A.; ZHENG, C.; XIANG, J. Heterologous human/rat HER2-specific exosome-targeted T cell vaccine stimulates potent humoral and CTL responses leading to enhanced circumvention of HER2 tolerance in double transgenic HLA-A2/HER2 mice. **Vaccine**, [s. l.], v. 36, n. 11, p. 1414–1422, 2018.

YILDIRIM, M.; YILDIRIM, T. C.; TURAY, N.; BILDIK, T.; IBIBIK, B.; EVCILI, I.; ERSAN, P. G.; TOKAT, U. M.; SAHIN, O.; GURSEL, I. TLR ligand loaded exosome mediated immunotherapy of established mammary Tumor in mice. **Immunology Letters**, [s. l.], v. 239, p. 32–41, 2021.



EXPLORANDO O POTENCIAL INSETICIDA DE *CAPSICUM BACCATUM* L.

RAILANE BASILIO DOS SANTOS; DARLEY CALDERARO LEAL MATOS

RESUMO

O presente trabalho apresenta uma pesquisa bibliográfica focada no potencial inseticida da pimenta dedo-de-moça (*Capsicum baccatum* L.), explorando sua utilização como bioinseticida em substituição aos inseticidas químicos tradicionais. A justificativa para esta investigação reside na crescente preocupação com os efeitos nocivos dos inseticidas sintéticos na saúde humana e no meio ambiente, demandando alternativas sustentáveis e seguras. Foi feito um levantamento bibliográfico analisando artigos científicos, revisões e teses sobre o potencial inseticida da pimenta dedo-de-moça, através da análise de composição química, especialmente os metabólitos secundários responsáveis por sua propriedade inseticida, e discutir as vantagens e limitações associadas ao seu uso. Os resultados destacam a eficácia da pimenta dedo-de-moça contra diversas pragas, fundamentada em sua rica composição em terpenos, compostos fenólicos e outros metabólitos secundários. Além disso, se destaca como uma alternativa segura, minimizando riscos à saúde humana e impactos ambientais, conforme discutido por diversos autores na literatura. Em conclusão, esta pesquisa ressalta o potencial promissor da pimenta dedo-de-moça como bioinseticida, o que contribui para a busca contínua de práticas agrícolas mais sustentáveis e seguras. No entanto, aponta-se para a necessidade de pesquisas adicionais que avaliem sua aplicabilidade em diferentes contextos agrícolas e frente a diversas pragas específicas.

Palavras-chave: Pimenta dedo-de-moça; Bioinseticida; Metabólitos secundários; Agricultura sustentável.

1 INTRODUÇÃO

A crescente preocupação com os efeitos adversos dos inseticidas químicos na saúde humana, no meio ambiente e na busca por alternativas mais sustentáveis tem despertado interesse em bioinseticidas derivados de fontes naturais. Como salientado por Bortolotto (2020), o uso indiscriminado de inseticidas químicos pode resultar em impactos negativos, destacando a necessidade urgente de estratégias mais seguras e sustentáveis.

A demanda por práticas agrícolas mais sustentáveis e a busca por alimentos livres de agrotóxicos tornam imperativa a investigação de fontes alternativas para produção de bioinseticidas (Corrêa, 2011).

No âmbito da agricultura, Fortuna (2019) destaca a dependência excessiva da agricultura brasileira em relação aos agrotóxicos, ressaltando a necessidade de abordagens mais sustentáveis para a proteção das culturas.

2 MATERIAIS E MÉTODOS

Esta pesquisa é exploratória quanto aos objetivos, e para isto foi realizada uma pesquisa bibliográfica para explorar o potencial da pimenta dedo-de-moça como bioinseticida. A obtenção de dados foi conduzida mediante a realização de buscas em bases

de dados acadêmicas, tais como Google Acadêmico e Scielo, usando para busca de fontes as palavras-chaves “*Capsicum baccatum insecticide*” “pimenta dedo-de-moça” “metabólitos secundários”, “ação inseticida” e “bioinseticida”. Foram selecionados 10 estudos baseado na sua qualidade metodológica, dentre estes artigos científicos, revisões e teses, com data de publicação posterior ao ano de 2010.

A abordagem metodológica seguiu os princípios da revisão sistemática da literatura, enfocando uma análise qualitativa dos estudos selecionados. A organização e apresentação dos dados seguiram a estrutura padrão de um trabalho acadêmico.

Destaca-se que esta pesquisa baseou-se exclusivamente em fontes bibliográficas, não envolvendo a realização de experimentos. A análise e interpretação dos resultados foram realizadas através da síntese e discussão dos estudos selecionados, proporcionando *insights* relevantes sobre o potencial da pimenta dedo-de-moça como bioinseticida.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A análise bibliográfica revelou estudos que corroboram o potencial inseticida da pimenta dedo-de-moça (*Capsicum baccatum* L.). A busca por alternativas sustentáveis aos inseticidas químicos ganhou destaque devido aos riscos associados à exposição humana e impactos ambientais desses produtos. Nesse contexto, bioinseticidas derivados de plantas, como a pimenta dedo-de-moça, emergem como promissores.

A pimenta dedo-de-moça, além de ser amplamente consumida no Brasil, apresenta uma composição rica em metabólitos secundários, notadamente terpenos, compostos fenólicos e fenóis (Borges; Amorin, 2020).

No âmbito do reino vegetal, os compostos fenólicos emergem como metabólitos secundários proeminentes, predominantemente empregados como agentes de defesa (Guimarães *et al.*, 2014). Constatou-se a ação inseticida independente da concentração em gorgulhos de milho, sendo que o extrato dos frutos também demonstrou atividade fagoinibidora na concentração de 20% (Guimarães *et al.*, 2014).

Os terpenos, outro grupo de substâncias presentes no reino vegetal, desempenham um papel significativo como desencadeadores de efeitos tóxicos e agentes inibidores de forrageio em diversos insetos e mamíferos herbívoros. Esta capacidade configura-se como uma das estratégias primárias de defesa adotadas pelas plantas (Borges; Amorin, 2020; Felipe; Bicas, 2017). Os compostos fenólicos, caracterizados por conterem em sua estrutura um anel aromático com uma ou mais substituições de hidroxila (Menezes, 2020), apresentam uma ampla diversidade química, desempenhando diversas funções nos vegetais. Tais funções incluem mecanismos de defesa contra herbívoros, como no caso de taninos, lignina, flavonoides, além de alguns compostos fenólicos simples que podem afetar o crescimento de plantas vizinhas (Borges; Amorin, 2020; Felipe; Bicas, 2017).

Os compostos fenólicos não se limitam a funções defensivas, pois sua variabilidade química proporciona uma vasta gama de efeitos biológicos benéficos, como ação antioxidante, anti-inflamatória, antitumoral, inibição de danos do colágeno, redução do colesterol sérico e estímulo do sistema imunológico (Menezes, 2020). Adicionalmente, os compostos nitrogenados, categorizados como defesas químicas produzidas pelas plantas exercem papel repelente contra herbívoros. Estes compostos, derivados do ciclo do ácido tricarbóxico e do ácido chi-químico, englobam alcaloides, glicosídeos cianogênicos e aminoácidos não proteicos, sendo os alcaloides mais frequentemente encontrados em dicotiledôneas herbáceas, e em menor incidência em monocotiledôneas e gimnospermas (Borges; Amorin, 2020; Menezes, 2020).

4 CONCLUSÃO

O extrato de *Capsicum baccatum* L. é promissor no manejo de formigas cortadeiras

do gênero *Atta* sp., os metabólitos ativos encontrados é o cariofileno e a conidristroína alcalóide detectada em *C. baccatum* (Lobo-Echeverri *et al.*, 2016).

Izah *et al.* (2019) demonstrou que extratos de *C. baccatum* feitos de frutos imaturos e maduros tem potencial inseticida para matar larvas do mosquito *Anopheles gambiae* transmissor da malária.

Nos estudos analisados ficou evidente a eficácia desses compostos no controle de diversas pragas, como o gorgulho do milho e larvas de mosquito *Aedes aegypti* (Saffaro, s.d.). A capacidade repelente e inseticida da pimenta dedo-de-moça se destaca como uma alternativa viável e segura.

A literatura também aponta para a relevância dos bioinseticidas na mitigação dos impactos negativos dos agrotóxicos convencionais na saúde humana, no solo e na biodiversidade (Corrêa, 2011). A crescente demanda por alimentos saudáveis e a busca por práticas agrícolas mais sustentáveis impulsionam a pesquisa e aplicação dessas alternativas.

Contudo, é crucial reconhecer as limitações e desafios associados ao uso da pimenta dedo-de-moça como bioinseticida. A variação nas condições ambientais, a especificidade das pragas e a necessidade de adaptação em diferentes contextos agrícolas destacam a importância contínua da pesquisa e desenvolvimento (Fortuna, 2019; Vacari; Bortoli, 2017).

Em síntese, os resultados desta pesquisa bibliográfica corroboram a eficácia potencial da pimenta dedo-de-moça como bioinseticida, contribuindo para a crescente adoção de práticas agrícolas sustentáveis. Contudo, são necessárias investigações adicionais para uma compreensão abrangente de sua aplicabilidade em diferentes cenários considerando a diversidade de condições e pragas específicas.

Diante da avaliação da eficácia do uso da pimenta dedo-de-moça como inseticida, este estudo destaca a relevância dos bioinseticidas, especialmente aqueles derivados de plantas como a *Capsicum baccatum* L., na busca por alternativas sustentáveis e seguras para o controle de pragas. A composição rica em metabólitos secundários, como terpenos e compostos fenólicos, confere à pimenta dedo-de-moça propriedades repelentes e inseticidas, demonstradas em estudos prévios. A crescente demanda por métodos de controle que não comprometam a saúde humana e o meio ambiente amplifica a importância desses bioinseticidas. Contudo, é imperativo continuar investigando e refinando as aplicações da pimenta dedo-de-moça, considerando a diversidade de contextos agrícolas e pragas específicas, assegurando uma transição bem-sucedida para práticas mais sustentáveis na agricultura.

REFERÊNCIAS

BORGES, L. P; AMORIM, V. A. Metabólitos Secundários De Plantas Secondary Plant Metabolites. **Revista Agrotecnologia**, v.11, n.1, p.54-67, 2020.

BORTOLOTTI, C. C. et al. Exposição a agrotóxicos: estudo de base populacional em zona rural do sul do Brasil. **Revista brasileira de epidemiologia**, v. 23, p.01-11, 2020. DOI: 10.1590/1980-549720200027.

CORRÊA, J. C. R.; SALGADO, H. R. N. Atividade inseticida das plantas e aplicações: revisão. **SciELO Brasil**, v.13, n.4, p.500-506, 2011. DOI: 10.1590/S1516-05722011000400016. Acesso: 17 de março de 2023.

FELIPE, L. O. BICAS, J. L. Terpenos, aromas e a química dos compostos naturais. **Química Nova na Escola**, v. 39, n. 2, p. 120-130, 2017.

FORTUNA, E. P. D.; NETO, C. F.; MACHADO, L. G.; SILVA, L. O.; BARBOSA S. O. Agrotóxicos: a importância do manejo adequado para a manutenção da saúde. **Nature and Conservation**, v.12, n.1, p.10-20, 2019.

GUIMARÃES, S. S. et al. Ação repelente, inseticida e fagoinibidora de extratos de pimenta dedo-de-moça sobre o gorgulho do milho. **SciELO Brasil**, v. 81, p. 322-328, 2014. DOI: 10.1590/1808-1657000172013.

IZAH, Sylvester Chibueze. Biocontrol of *Anopheles gambiae* larvae using fresh ripe and unripe fruit extracts of *Capsicum frutescens* var. *baccatum*. **International Journal of Green Pharmacy (IJGP)**, v. 13, n. 04, 2019.

LOBO-ECHEVERRI, Tatiana et al. Effects of *Capsicum baccatum* and *C. frutescens* against *Atta cephalotes* (Hymenoptera: Formicidae) and the symbiotic fungus *Leucoagaricus gongylophorus*. **Revista Colombiana de Entomología**, v. 42, n. 2, p. 137-145, 2016.

MENEZES, Sabrina Lima Murussi. **Plantas e metabólitos secundários: uma proposta para o ensino de química orgânica**. 2020. Dissertação (Mestrado em Química em Rede Nacional) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Medianeira, 2020.

ROSA DA SILVA, M.; MENEGAZ DE FARIAS, P. O óleo essencial de Pimenta racemosa é eficiente inseticida para controle de *Sitophilus* spp. (Coleoptera: Curculionidae) em grãos armazenados. **Pesquisa Agropecuária Gaúcha**, v. 26, n. 1, p. 7-17, 2020.

SAFFARO, L. A. C. SAU197 - Estudo do potencial larvicida da *Capsicum baccatum* no combate ao *Aedes aegypti*. **Criatividade e inovação Febrace**, s.d. Disponível em <https://virtual.febrace.org.br/2022/SAU/197/>

VACARI, A. M.; BORTOLI, S. A. Cresce o uso de bioinseticidas na agricultura. **Revista campo e negócios**, 2017. Disponível em: <https://revistacampoenegocios.com.br/cresce-o-uso-de-bioinseticidas-na-agricultura>.



EXTRAÇÃO SUPERCRÍTICA E *MAURITIA FLEXUOSA*: POTENCIAIS APLICAÇÕES NA EXTRAÇÃO DE COMPONENTES BIOATIVOS PARA O DESENVOLVIMENTO DE BIOPRODUTOS

LEONARDO VICTOR GOMES DE MELO; MARIA CAROLINE RODRIGUES FERREIRA; RAUL NUNES DE CARVALHO JÚNIOR

RESUMO

Mauritia flexuosa, uma oleaginosa nativa da região Amazônica, é reconhecida pelo seu fruto rico em vitaminas, minerais, compostos fenólicos e carotenoides, com propriedades biológicas de interesse e cujo consumo é encorajado e cada vez mais frequente. Com a crescente busca pelo desenvolvimento sustentável, há uma busca contínua por tecnologias ambientalmente amigáveis para a extração de bioativos de fontes vegetais. A tecnologia supercrítica tem se destacado nesse cenário, permitindo a obtenção de extratos naturais com elevada concentração de bioativos e isentos de contaminantes, promovendo assim o uso sustentável da biomassa. Diante desse contexto, se torna interessante investigar a extração supercrítica de *Mauritia flexuosa* para aplicações dos insumos dessa espécie no desenvolvimento de uma variedade de bioprodutos. O objetivo deste trabalho é analisar a literatura existente sobre a extração supercrítica de componentes bioativos de *Mauritia flexuosa*, visando verificar sua viabilidade no desenvolvimento de produtos biotecnológicos para as indústrias alimentícia, farmacêutica e de cosméticos. Para tal, foi realizada busca utilizando as plataformas *Google Acadêmico*, *Science Direct* e *SciELO*, com posterior seleção de artigos que se relacionavam à extração supercrítica de compostos bioativos de buriti e suas aplicações no desenvolvimento de bioprodutos. Os trabalhos selecionados utilizam CO₂ como solvente supercrítico para a extração, variando condições de temperatura e pressão do solvente para a obtenção de óleo e torta desengordurada a partir da matriz vegetal. Todos os insumos obtidos mostraram resultados promissores em termos de composição de bioativos e rendimentos, com destaque às altíssimas concentrações de carotenoides do óleo supercrítico de buriti e aumento da concentração de polifenóis na torta desengordurada pós-extração. Os resultados obtidos evidenciam a eficácia da tecnologia supercrítica como tecnologia adequada e sustentável para a obtenção de extratos com altas concentrações de bioativos a partir da *Mauritia flexuosa*, estimulando assim a aplicação desses insumos na formulação de bioprodutos destinados aos setores alimentício, cosmético e farmacêutico.

Palavras-chave: Buriti; carotenoides; polifenóis; tecnologia supercrítica; tocoferóis.

1 INTRODUÇÃO

A Amazônia é rica em oleaginosas ricas em vitaminas e demais compostos bioativos, com benefícios descritos na literatura e seu consumo é encorajado e cada vez mais frequente, tornando o mercado de bioativos de interesse crescente (DE FRANÇA et al., 1999). Dentre estas espécies, destaca-se o buriti (*Mauritia flexuosa*), uma espécie encontrada na Amazônia e no Cerrado. Diferentes componentes químicos foram encontrados na polpa de buriti, incluindo minerais, vitaminas, compostos fenólicos e sacarídeos, enquanto o óleo obtido da polpa é rico em ácidos graxos, esteróis, carotenoides e tocóis. O buriti tem mostrado propriedades biológicas

interessantes, como atividades antimicrobiana e antioxidante (RAMOS-ESCUADERO et al., 2022).

Atualmente, a busca por tecnologias que sejam ambientalmente sustentáveis, de custo acessível e altamente eficazes para a extração de compostos bioativos de fontes vegetais está em destaque. Neste contexto, a extração com fluido supercrítico tem se mostrado eficiente na obtenção de extratos naturais com altas concentrações de compostos bioativos livres de contaminantes. Também é considerado "quimicamente verde" por não utilizar solventes orgânicos tóxicos, oferecendo assim um uso sustentável para a biomassa amazônica (BEZERRA et al., 2018).

Com a crescente busca pelo desenvolvimento sustentável, que se baseia na exploração dos recursos naturais, mantendo a floresta em pé e utilizando tecnologias mais eficazes em diferentes etapas do desenvolvimento de produtos, incluindo a extração, é interessante investigar a extração supercrítica de *Mauritia flexuosa* para aplicações dos insumos dessa espécie no desenvolvimento de bioprodutos. Diante do exposto o objetivo deste trabalho é analisar a literatura existente sobre a extração supercrítica de componentes bioativos de *Mauritia flexuosa*, visando verificar sua viabilidade no desenvolvimento de produtos biotecnológicos para as indústrias alimentícia, farmacêutica e de cosméticos.

2 MATERIAIS E MÉTODOS

Este estudo consiste em uma revisão bibliográfica de artigos relacionados à extração supercrítica de *Mauritia flexuosa*. Para as etapas de busca, foram utilizadas as plataformas *Google Acadêmico*, *Science Direct* e *Scielo*, usando os termos-chave "*buriti supercritical extraction*", "*Mauritia flexuosa supercritical extraction*", "*buriti extraction*" e "*Mauritia flexuosa extraction*". Não foram fixados limites temporais para a busca. Os artigos encontrados foram lidos para determinar se o foco da pesquisa estava alinhado com os objetivos do estudo, focando-se nas metodologias utilizadas e resultados obtidos. Ao fim, foram selecionados 6 artigos que se relacionavam à extração supercrítica de compostos bioativos de buriti e suas aplicações no desenvolvimento de bioprodutos.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os artigos selecionados para esta revisão, as condições experimentais de temperatura e pressão da extração supercrítica e os insumos obtidos e avaliados são apresentados na Tabela 1.

Tabela 1 – Artigos sobre extração supercrítica de *Mauritia flexuosa*. Fonte: autores.

Nº	Solvente utilizado	Condições de extração	Insumos avaliados/obtidos	Referência
1	CO ₂	42 °C / 200 bar	Óleo (polpa)	RAMOS-ESCUADERO et al., 2022
2	CO ₂	42 °C / 200 bar	Óleo (polpa) e desengordurada	tortaBEST et al., 2022
3	CO ₂	42 °C / 200 bar	Óleo (polpa) e desengordurada	tortaBEST et al., 2021
4	CO ₂	40 e 60 °C / 200 a 400 bar	Óleo (polpa)	CHAÑI-PAUCAR et al., 2021
5	CO ₂	60 °C / 250 bar	Óleo (polpa)	CUNHA et al., 2021
6	CO ₂	40 °C / 200 bar	Óleo (polpa com casca)	DE FRANÇA et al., 1999

Todos os trabalhos experimentais selecionados utilizam dióxido de carbono como solvente para extração de *Mauritia flexuosa*. A escolha do CO₂ como solvente para a extração supercrítica se dá por uma série de fatores, sendo os principais seus baixos valores críticos de temperatura (31,3 °C) e pressão (73,9 bar) e baixo custo. A baixa temperatura crítica do CO₂ permite a conservação de compostos termolábeis, geralmente relacionados à benefícios à saúde, na etapa de extração (PARHI; SURESH, 2013).

Uma outra vantagem da extração supercrítica é o aproveitamento total de toda a matriz utilizada para a extração. Como o CO₂ é inerte e não deixa resíduos, isso significa que ele não reage com os compostos presentes na matéria prima, permitindo a obtenção de extratos e tortas sem traços residuais de solvente (BHUSNURE, 2015). Estas vantagens conferem a esta técnica a capacidade de obtenção de extratos superiores, ao passo em que permite a utilização da torta desengordurada obtida no processo para outras aplicações, ou seja, não há a geração de resíduos de extração (PIRES et al., 2021).

A extração supercrítica é uma técnica reconhecida por sua alta seletividade e versatilidade, permitindo a manipulação de parâmetros do processo, incluindo temperatura e pressão. Desta forma, é possível a obtenção de produtos com diferentes composições e características físico-químicas por meio da manipulação de parâmetros de solvente, permitindo obter um maior leque de produtos de extração (BHUSNURE, 2015). De maneira geral, os artigos selecionados utilizam de tal versatilidade em suas etapas de execução experimental, verificado por meio das diferentes condições de temperatura e pressão, fator que reflete em variações nos diferentes perfis dos produtos de extração obtidos.

Declaradamente, os frutos de *Mauritia flexuosa* possuem alto teor lipídico, chegando a representar cerca de 10,50 % da polpa. Quanto ao restante da composição química da polpa de buriti, temos: 2,95 % de teor de proteínas, 4,31 % de cinzas, 12,90 % de fibras, 19,98 % de carboidratos e 49,36 % de umidade (CUNHA et al., 2021). Considerando que uma etapa anterior de secagem é necessária para a extração supercrítica, este teor lipídico pode chegar a 20,73 % (b.s.) considerando uma remoção teórica total de água. O alto teor lipídico da polpa de buriti, aliado à sua composição de bioativos, torna o óleo de buriti um produto de interesse. Neste aspecto, os trabalhos utilizando extração supercrítica da espécie em geral visam a separação do óleo da matriz vegetal. Portanto, a extração supercrítica de buriti gera dois insumos: o óleo de buriti e a torta desengordurada de buriti, contendo diferentes classes de bioativos.

Antes de analisar os resultados obtidos, é crucial destacar que podem surgir variações nos dados entre diferentes estudos para um mesmo parâmetro. Essas variações não apenas podem ser atribuídas à manipulação das condições de extração, mas também à própria natureza dos frutos de buriti, os quais podem apresentar variações em sua composição química devido a fatores como morfologia, região de coleta, sazonalidade, características do solo, oferta de chuvas, entre outros. Portanto, este é um comportamento absolutamente esperado (CUNHA et al., 2021; RAMOS-ESCUADERO et al., 2022).

3.1 Óleo supercrítico de *Mauritia flexuosa*

De maneira geral, os trabalhos selecionados focaram em descrever o óleo obtido da extração supercrítica de buriti, fato refletido em uma maior quantidade de informações a respeito deste insumo quando em comparação com a torta desengordurada.

Com relação aos rendimentos da extração supercrítica de buriti, os resultados variaram de 23,5 % (CHAÑI-PAUCAR et al., 2021) até 44,5 % e 46 % (BEST et al., 2022; RAMOS-ESCUADERO et al., 2022). Os rendimentos obtidos a partir destes trabalhos indicam a viabilidade da extração supercrítica na obtenção de grandes quantidades de óleo de buriti. A efeito de comparação, uma extração tradicional com solvente obteve um rendimento de 46-55 %. Apesar dos valores maiores, o óleo extraído por solvente possui níveis maiores de ácidos

graxos livres, índice de peróxido e teor de fósforo, diminuindo o leque de aplicações. Além disso, os valores obtidos pela extração supercrítica são relativamente próximos aos obtidos pela extração com solvente (RAMOS-ESCUADERO et al., 2022).

Outro parâmetro importante a ser investigado em óleos vegetais, visando sua aplicação na indústria, diz respeito ao seu perfil de ácidos graxos. Os ácidos graxos majoritários presentes no óleo supercrítico de buriti são o ácido oleico (71 a 79,54 %), ácido palmítico (15,56 a 22 %), ácido linoleico (0,88 a 3,93 %) e ácido esteárico (0,95 a 1,89 %). Outros ácidos graxos relatados nos trabalhos incluem o ácido linolênico e o ácido palmitoleico (RAMOS-ESCUADERO et al., 2022; CHAÑI-PAUCAR et al., 2021; CUNHA et al., 2021; DE FRANÇA et al., 1999). Em suma, o óleo de buriti possui em sua composição um teor maior de ácidos graxos monoinsaturados (74,56 a 81,20 %) em comparação ao teor de ácidos graxos saturados (17,06 a 22,58 %) (RAMOS-ESCUADERO et al., 2022).

Os compostos bioativos majoritários presentes no buriti são os carotenoides, sendo a espécie reconhecida como ótima fonte destes compostos. Quanto ao teor de carotenoides totais, os valores obtidos variaram de 1.043 mg/kg (DE FRANÇA et al., 1999) a 8.402,56 mg/kg (RAMOS-ESCUADERO et al., 2022). As variações podem ser explicadas pelas diferenças nas etapas de processamento escolhidas nos diferentes trabalhos. No trabalho de França e colaboradores (1999) foi realizada secagem a quente (60 ° C) antes da extração da polpa com casca de buriti, enquanto no de Ramos-Escudero e colaboradores (2022) optou-se pela secagem por liofilização, que utiliza baixas temperaturas, antes da extração da polpa do fruto. No entanto, ambos os resultados são muito superiores aos relatados para o óleo de buriti obtido por extração tradicional com solvente, de 540,81 mg/kg (SANTOS et al., 2015). O menor teor de carotenoides encontrado neste óleo pode estar relacionado às temperaturas maiores utilizadas na extração por solvente, que podem ter favorecido a degradação dos carotenoides presentes na amostra.

Individualmente, os carotenoides mais abundantes no óleo supercrítico de buriti são: all-trans- β -caroteno (846,04 a 3.962,65 mg/kg), 13-cis- β -caroteno (440,18 a 1.777,84 mg/kg), 9-cis- β -caroteno (447,98 a 1.529,14 mg/kg) e β -caroteno (168,84 a 347,11 mg/kg) (RAMOS-ESCUADERO et al., 2022). Os resultados mostram conformidade com os de Santos et al. (2015) com majoritariedade de β -caroteno e seus isômeros.

O buriti é reconhecido fonte de uma série de outros compostos de atividade biológica, incluindo tocoferóis e tocotrienóis, além de polifenóis. Para o óleo supercrítico de buriti, o teor de tocoferóis variou de 403,87 a 19.600 mg/kg, sendo os principais β -tocoferol (184,61 a 413,17 mg/kg) e α -tocoferol (57,26 a 167,12 mg/kg). Com relação aos tocotrienóis, os teores encontrados variam de 14,13 a 36,56 mg/kg, sendo os principais α -tocotrienol (11,88 a 22,09 mg/kg) e β -tocotrienol (6,20 mg/kg). No que diz respeito aos polifenóis, foram encontrados teores que variam de 153,41 a 328,89 mg/kg (DE FRANÇA et al., 1999; RAMOS-ESCUADERO et al., 2022). O teor de tocoferóis individuais é altamente variável em diferentes estudos. Os resultados encontrados foram inferiores aos relatados para o óleo de buriti extraído por solvente, de 1.567 mg/kg de tocoferóis totais, 1.100 mg/kg de α -tocoferol e 466 mg/kg de β -tocoferol (SANTOS et al., 2013). O teor de polifenóis, no entanto, foi muito superior ao relatado por Speranza e colaboradores (2016), de 107,0 mg GAE/kg. De forma geral, o óleo supercrítico de buriti mostrou possuir grande variedade e concentração de polifenóis e tocóis, o que mostra a eficiência da tecnologia na recuperação destes compostos de interesse.

3.2 Torta desengordurada de *Mauritia flexuosa*

Os dados de caracterização e composição química encontrados para a torta desengordurada de buriti se mostraram mais escassos quando comparados aos encontrados para o óleo. No entanto, ainda foram relatadas na literatura importantes características deste insumo. Uma vez que o CO₂ realiza o arraste de moléculas lipossolúveis durante a extração

supercrítica, na célula de extração temos, ao fim do processo, uma torta desengordurada, na qual se espera uma maior concentração de compostos polares, incluindo compostos bioativos polares. Dentre estes compostos, os polifenóis merecem destaque. No trabalho de Best e colaboradores (2022), foi realizada, após a extração com CO₂ supercrítico, uma segunda extração na torta desengordurada obtida, utilizando etanol a 80 %, visando a obtenção de extrato rico em fenólicos. Os resultados foram promissores: 28.800,95 µg GAE/g de compostos fenólicos totais sendo, destes, 390,82 µg CE/g de flavonoides. Os resultados mostram a eficiência do uso das técnicas em concentrar o conteúdo de compostos fenólicos na polpa desengordurada, aumentando a atividade e o valor de mercado desses extratos. Os rendimentos do processo também foram satisfatórios: 13,8 % (b.s.) mostrando boa separação a partir da torta desengordurada.

3.3 Aplicações

Tanto o óleo supercrítico quanto a torta desengordurada de *Mauritia flexuosa* mostraram bons valores de rendimento e uma alta e variada composição de bioativos. Os resultados encontrados, aliados à redução da presença de contaminantes, como solventes orgânicos, encorajam a utilização destes insumos no desenvolvimento de produtos para as indústrias alimentícia, de cosméticos e farmacêutica.

O perfil de ácidos graxos do óleo supercrítico de buriti encoraja sua aplicação em produtos alimentícios. Ácidos graxos monoinsaturados, em especial o ácido oleico, têm mostrado inúmeros benefícios à saúde humana, por meio da prevenção de diabetes mellitus tipo 2, redução da pressão arterial sistólica e diastólica, redução dos triglicerídeos e da lipoproteína de baixa densidade e inibição do fator de necrose tumoral α (RAMOS-ESCUDEIRO et al., 2022).

Carotenoides são o composto majoritário do óleo de buriti. Uma dieta rica em carotenoides está correlacionada com a diminuição do risco de várias doenças degenerativas, incluindo vários tipos de câncer, doenças cardiovasculares ou problemas visuais. Os efeitos preventivos têm sido associados à sua atividade antioxidante, protegendo células e tecidos de danos oxidativos. Os carotenoides também influenciam a sinalização celular e podem desencadear vias regulatórias sensíveis ao redox. A bioatividade desses compostos depende da matriz alimentar onde estão presentes. β -caroteno, quando presente em óleos, tem uma bioatividade seis vezes maior do que o encontrada em vegetais. Os benefícios dos carotenoides se expandem e justificam sua utilização em produtos cosméticos, por meio de sua capacidade de proteção solar, além da própria atividade antioxidante, que confere proteção contra o envelhecimento da pele. Os tocóis também apresentam benefícios substanciais à saúde, com propriedades hipocolesterêmicas, hipolipidêmicas, anticancerígenas, anti-inflamatórias e antioxidantes, além de retardar o processo de envelhecimento (SPERANZA et al., 2016), justificando seu uso na indústria farmacêutica.

Por fim, os polifenóis encontrados em grande concentração, em especial, na torta desengordurada pós-extração, são reconhecidos compostos antioxidantes, possuindo capacidades anti-inflamatória, anticancerígena, citoprotetora e hipocolesterolêmica. Os resultados indicam que os insumos de buriti podem ser utilizados para melhorar a estabilidade oxidativa e a vida de prateleira devido ao seu teor de polifenóis e carotenoides (RAMOS-ESCUDEIRO et al., 2022).

4 CONCLUSÃO

Tanto o óleo quanto a torta desengordurada obtidos através do processo de extração com CO₂ supercrítico demonstraram uma composição química promissora em termos de ácidos graxos e uma alta concentração de compostos bioativos. Destaca-se a notável separação de carotenoides no óleo, além da presença de uma altíssima concentração de polifenóis na torta

desengordurada. Esses compostos estão associados a uma série de benefícios para a saúde, justificando sua utilização em diversos tipos de bioprodutos.

Além disso, a técnica oferece bons rendimentos de extração e possibilita o aproveitamento total de todos os insumos, uma vez que não deixa resíduos de solvente. Portanto, a extração supercrítica emerge como uma alternativa ambientalmente amigável, versátil e adequada para a obtenção de insumos superiores à base de *Mauritia flexuosa*, com o objetivo de desenvolver bioprodutos para as indústrias alimentícia, de cosméticos e farmacêutica. Essas descobertas representam um passo significativo em direção ao aproveitamento responsável dos recursos naturais, contribuindo para o desenvolvimento de soluções mais sustentáveis e promissoras para as necessidades da sociedade contemporânea.

REFERÊNCIAS

- BEST, I.; CARTAGENA-GONZALES, Z.; ARANA-COPA, O.; OLIVERA-MONTENEGRO, L.; ZABOT, G. Production of Oil and Phenolic-Rich Extracts from *Mauritia flexuosa* L. f. Using Sequential Supercritical and Conventional Solvent Extraction: Experimental and Economic Evaluation. **Processes**, v. 10, n. 3, p. 459, 2022.
- BEST, I.; OLIVERA-MONTENEGRO, L.; CARTAGENA-GONZALES, Z.; ARANA-COPA, O.; ZABOT, G. Techno-Economic evaluation of the production of oil and phenolic-rich extracts from *Mauritia flexuosa* L. f. using sequential supercritical and conventional solvent extraction. **Biology and Life Sciences Forum**, v. 6, n. 1, p. 120, 2021.
- BEZERRA, F. W. F.; COSTA, W. A.; OLIVEIRA, M. S.; ANDRADE, E. H. A.; CARVALHO JUNIOR, R. N. Transesterification of palm pressed-fibers (*Elaeis guineensis* Jacq.) oil by supercritical fluid carbon dioxide with entrainer ethanol. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 136, p. 136-143, 2018.
- BHUSNURE, O. G. Importance of supercritical fluid extraction techniques in pharmaceutical industry: a review. **Indo-american Journal of Pharmaceutical Research**, v. 5, p. 3785-3801, 2015.
- CHAÑI-PAUCAR, L. O.; YALI, E. T.; SANTIVÁÑEZ, J. C. M.; GARCIA, D. A.; JONHER, J. C. F.; MEIRELES, M. A. A. Supercritical Fluid Extraction from Aguaje (*Mauritia flexuosa*) Pulp: Overall Yield, Kinetic, Fatty Acid Profile, and Qualitative Phytochemical Profile. **The Open Food Science Journal**, v. 13, n. 1, p. 1-11, 2021.
- CUNHA, M. A. E.; BATISTA, C. C.; FREITAS, S. P.; FRANÇA, L. F.; ARAÚJO, M. E.; MACHADO, N. T. Solubility of Buriti Oil (*Mauritia Flexuosa*, Mart) in Supercritical Carbon Dioxide: Experimental Methods and EOS Modeling. **International Review of Chemical Engineering**, v. 3, n. 3, p. 331-339, 2011.
- DE FRANÇA, L. F.; REBER, G.; MEIRELES, M. A. A.; MACHADO, N. T.; BRUNNER, G. Supercritical extraction of carotenoids and lipids from buriti (*Mauritia flexuosa*), a fruit from the Amazon region. **Journal of Supercritical Fluids**, v. 14, p. 247-256, 1999.
- PARHI, R.; SURESH, P. Supercritical fluid technology: A review. **Journal of Advanced Pharmaceutical Science and Technology**, v. 1, n. 1, p. 13-36, 2013.
- PIRES, F. C. S.; OLIVEIRA, J. C.; MENEZES, E. G. O.; SILVA, A. P. S.; FERREIRA, M.

C. R.; SIQUEIRA, L. M. M.; ALMADA-VILHENA, A. O.; PIECZARKA, J. C.; NAGAMACHI, C. Y., CARVALHO JUNIOR, R. N. Bioactive Compounds and Evaluation of Antioxidant, Cytotoxic and Cytoprotective Effects of Murici Pulp Extracts (*Byrsonima crassifolia*) Obtained by Supercritical Extraction in HepG2 Cells Treated with H₂O₂. **Foods**, v.10, n. 4, p. 737, 2021.

RAMOS-ESCUADERO, F.; GÓMEZ-COCA, R. B.; MUÑOZ, A. M.; FUENTE-CARMELINO L. L.; PÉREZ-CAMINO, M. C. Oil From Three Aguaje Morphotypes (*Mauritia flexuosa* L.f.) Extracted by Supercritical Fluid With CO₂: Chemical Composition and Chromatic Properties. **Frontiers in Sustainable Food Systems**, v. 6, p. 843772, 2022.

SANTOS, M. F. G.; ALVES, R. E.; ROCA, M. Carotenoid composition in oils obtained from palm fruits from the Brazilian Amazon. **Grasas y Aceites**, v. 66, n. 3, e086, 2015.

SANTOS, M. F. G.; ALVES, R. E.; RUÍZ-MÉNDEZ, M. V. Minor components in oils obtained from Amazonian palm fruits. **Grasas y aceites**, v. 64, n. 5, p. 531-536, 2013.

SPERANZA, P.; FALCÃO, A. O.; MACEDO, J. A.; DA SILVA, L. H. M.; RODRIGUES, A. M. C.; MACEDO, G. A. Amazonian buriti oil: chemical characterization and antioxidant potential. **Grasas y Aceites**, v.67, n.2, e135, 2016.



EXTRATOS AQUOSOS DE PITAYA NORMALIZAM O ESTRESSE OXIDATIVO E A INFLAMAÇÃO INDUZIDOS POR SOBRECARGA DE GLICOSE EM CÉLULAS ENDOTELIAIS HUMANAS

KARINA ZANELLA LODI; ALENCAR KOLINSKI MACHADO; LUCIANA ANDRADE TOUGUINHA; CATIA SANTOS BRANCO

RESUMO

O Diabetes Mellitus Tipo 2 (DM2) é uma doença crônica e multifatorial associada com estresse oxidativo e inflamação. Apesar dos diversos medicamentos utilizados para o seu manejo, novas estratégias de tratamento devem ser pensadas. A pitaya da polpa vermelha (*Hylocereus lemairei*) exibe efeitos antidiabéticos *in vitro* e *in vivo*, no entanto, os mecanismos bioquímicos envolvidos nesse efeito ainda não estão totalmente esclarecidos. O presente estudo teve como objetivo avaliar o efeito de extratos aquosos de casca ou polpa de pitaya vermelha em modelo tipo diabético *in vitro* induzido por sobrecarga de glicose utilizando células endoteliais EA.hy926. As células foram tratadas com glicose (35 mM) e/ou extratos (1 µg/mL) durante 24 horas. Parâmetros de estresse oxidativo e defesas antioxidantes foram avaliados (TBARS, conteúdo de proteína sulfidril (-SH) e atividades enzimáticas de superóxido dismutase – SOD e catalase – CAT) através de espectrofotometria. Níveis de expressão gênica de interleucina-6 (IL-6) e expressão protéica de ciclooxigenase-2 (COX-2) foram quantificados através de PCR e *Western blot*, respectivamente. Os resultados mostraram que as células, quando tratadas com sobrecarga de glicose, apresentaram redução na atividade enzimática de SOD e CAT e no teor de proteínas sulfidril. Simultaneamente, níveis de TBARS, indicativo de dano oxidativo à lipídeos, aumentaram. Ambos os extratos normalizaram esses marcadores, em alguns casos retornando a níveis basais. Com relação aos marcadores inflamatórios, houve aumento da expressão de COX-2 e IL-6 induzido por alta glicose. Os extratos foram capazes de normalizar os níveis de COX-2, no entanto, não modularam os níveis de expressão gênica de IL-6, indicando um possível efeito pós transcricional. Esses achados contribuem para aumentar o conhecimento acerca dos mecanismos bioquímicos e moleculares da hiperglicemia e suas complicações, bem como para o desenvolvimento de novas abordagens terapêuticas coadjuvantes para o tratamento do DM2.

Palavras chave: inflamação; estresse oxidativo; produtos naturais; hiperglicemia; antioxidantes

1 INTRODUÇÃO

O Diabetes Mellitus (DM) é caracterizado pela incapacidade de direcionar a glicose para os tecidos, por conta da insuficiente produção de insulina. O número de pessoas afetadas pelo DM é maior nos países em desenvolvimento, afetando indivíduos de todas as faixas etárias (NAM HAN CHO, 2017). Os fatores de risco para a doença são diversos e incluem uma alimentação inadequada. Conseqüentemente, observa-se desregulação no metabolismo de carboidratos, lipídios e proteínas, especialmente ao nível do endotélio vascular (INCALZA et al., 2018).

No DM elevadas quantidades de glicose contribuem para aumentar a produção de Espécies Reativas de Oxigênio (ERO) levando ao estresse oxidativo e consequente danos aos tecidos (SZENDROEDI; PHIELIX; RODEN, 2011). A disfunção mitocondrial pode levar a uma produção descontrolada de ERO pela Cadeia Transportadora de Elétrons (CTE) e desregulação do balanço energético, acarretando em complicações microvasculares e macrovasculares (BROWNLEE, 2001), além de inflamação crônica (DO PRADO *et al.*, 2009). Todos esses desfechos são observados em pacientes diabéticos, os quais, mesmo medicados, continuam a apresentar tais complicações (“memória metabólica”) (TESTA *et al.*, 2017). A identificação de potenciais alvos terapêuticos e o desenvolvimento de novas alternativas de tratamento para essa condição são necessários. Nesse cenário, os produtos naturais vem se destacando.

A Pitaya, *Hylocereus spp.*, é uma cactácea frutífera originária das Américas, popularmente conhecida como “Fruta-Dragão”(APARECIDA RIBEIRO NEPOMOCENO *et al.*, 2019). Possui flores brancas, hermafroditas, as quais dão origem aos frutos. Os frutos apresentam diferentes colorações de polpa dependendo da espécie, podendo ser branca, amarela ou rosa/vermelha, possuindo características químicas e nutricionais distintas (CRISTIANE ANDRÉA DE *et al.*, 2013).

A pitaya da polpa vermelha (*Hylocereus lemairei* sin. *polyrhizus* (Hook.) Britton & Rose) vêm gerando interesse da indústria nutracêutica e farmacêutica, principalmente pela presença de compostos fenólicos em sua composição, especialmente antocianinas (ESQUIVEL; ARAYA QUESADA, 2012). As antocianinas fazem parte do grupo dos flavonoides e possuem diversos efeitos na saúde humana, incluindo ação antioxidante, anti-inflamatória (MALACRIDA; DA MOTTA, 2006) e antidiabética (HADI *et al.*, 2012; JOSHI; PRABHAKAR, 2020).

Especialmente em relação à sua atividade antidiabética, uma revisão sistemática e meta-análise resumiram dados de ensaios clínicos randomizados que demonstraram efeitos benéficos da pitaya na prevenção do diabetes (POOLSUP; SUKSOMBOON; PAW, 2017). Fadlilah e Sucipto (FADLILAH *et al.*, 2020) investigaram os efeitos da ingestão de pitaya vermelha na glicemia de estudantes após o consumo excessivo de alimentos, tendo encontrado uma redução significativa nos níveis de açúcar no sangue em jejum. Apesar destas evidências, os mecanismos bioquímico-moleculares envolvidos no seu efeito terapêutico são, até ao momento, desconhecidos.

O objetivo do presente estudo foi avaliar os efeitos de extratos de casca ou polpa de pitaya vermelha em células endoteliais EA.hy926 submetidas a uma sobrecarga de glicose, mimetizando um microambiente “tipo-diabético”.

2 MATERIAIS E MÉTODOS

Cultura celular e tratamentos

Células endoteliais (EA.hy926; BCRJ®, código 0345) foram cultivadas utilizando meio DMEM suplementado com 10% de FBS e 1% de penicilina-estreptomicina em atmosfera úmida com 5% de CO₂ a 37 °C. As células foram cultivadas em frascos de 75cm², expostas a uma alta concentração de glicose (35mM) e tratadas com extrato de casca ou polpa de pitaya por 24 horas.

A concentração de glicose (35mM) foi validada em nosso estudo anterior (CERBARO *et al.*, 2020). As concentrações seguras dos extratos utilizados frente a glicose foram definidas a partir de testes prévios, sendo utilizada a concentração efetiva de 1 µg/mL. Para controle tipo-normoglicêmico foi utilizado meio DMEM contendo 25mM de glicose, condição na qual as células estão aclimatadas. O tempo de exposição aos extratos e/ou glicose foi de 24 horas.

Avaliação de marcadores de estresse oxidativo e defesas antioxidantes

A peroxidação lipídica foi avaliada pela produção de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) (WILLS, 1966). O reagente 1,1,3,3-tetra metoxipropano foi utilizado como padrão e os resultados foram expressos em nmol TMP/mg de proteína. A atividade da enzima antioxidante catalase (CAT) foi medida com base na taxa de decomposição de H₂O₂ a 30 °C por 1 min a 240 nm (AEBI, 1984). Os resultados foram expressos como UCAT/mg de proteína. A enzima superóxido dismutase (SOD) foi medida de acordo com a oxidação da adrenalina pelo radical superóxido (O₂^{•-}) (BANNISTER; CALABRESE, 1987). Os resultados foram expressos em USOD/mg de proteína. O teor de proteína sulfidril (-SH) foi determinado por uma reação com ácido 5,5'-ditiobis (2-nitrobenzóico) (DTNB), e os resultados foram expressos em nmol DTNB/mg de proteína (AKSENOV; MARKESBERY, 2001). O conteúdo total de proteína foi determinado utilizando albumina bovina como padrão (LOWRY et al., 1951). Todas as absorbâncias foram medidas num espectrofotômetro modelo UV-1700 (Shimadzu, Kyoto, Japão).

Avaliação de marcadores inflamatórios Expressão da proteína COX-2

A análise foi realizada utilizando um anticorpo primário conjugado com peroxidase para a proteína COX-2 (sc-376861) adquirida da Santa Cruz Biotechnology. O lisado celular foi ressuspenso em tampão de amostra (2% SDS, 2-beta-mercaptoetanol 2%, glicerol 10%, azul de bromofenol 0,01% e Tris-HCL 0,1M, pH 6,8), fervido a 100°C e depois resfriado. As proteínas foram separadas por eletroforese em gel de poliacrilamida 12,5% (SDS-PAGE) e depois transferidas para membranas ativadas de difluoreto de polivinilideno (PVDF). O bloqueio da membrana foi realizado com leite desnatado a 5% por 60 min, seguido de incubação por 2h com o anticorpo primário (1:1000). As bandas foram capturadas utilizando o equipamento Molecular Imager ImageQuant LAS 500 (GE Healthcare Life Sciences) e as comparações foram realizadas utilizando o software Image-J 1.45. A expressão relativa da proteína foi comparada com GAPDH (4670T; Cell Signaling Technology) conjugada com peroxidase (1:2000; 1h) (BRANCO et al., 2015).

Expressão do gene IL-6

Após os tratamentos, o RNA total foi extraído utilizando o Reagente TRI (Sigma-Aldrich, Saint Louis, MO, EUA). O RNA foi quantificado usando um NanoDrop Lite® (ThermoFisher Scientific, Wilmington, DE, EUA). Então, a quantidade de RNA foi normalizada entre os grupos de tratamentos. DNA complementar (cDNA) foi produzido usando o kit de síntese de cDNA iScript™ (Bio-Rad, Hercules, CA, EUA) seguindo as instruções do fabricante. A quantificação da expressão gênica para IL-6 foi realizada através da Reação em Cadeia da Polimerase em tempo real (qRT-PCR) e usando um kit GoTaq® qPCR Master (Promega, Madison, WI, EUA). Os iniciadores de IL-6 foram: Forward – 5'TACCCCCAGGAGAAGATTCCA3' – Reverse – 5' CCGTCGAGGATGTACCGAATT3'-. Os ciclos qRT-PCR foram: 1) 50 °C por 120 segundos; 2) 95°C durante 120 segundos; 3) 40 ciclos de 95 °C por 15 segundos seguidos de 60 °C por 30 minutos. A beta-actina foi usada para normalização dos resultados. Os primers da beta-actina foram: forward - 5' CTGGCACCACACCTTCTAC 3'- ; reverse: 5'-GGGCACAGTGTGGGTGAC 3'-.

Análise estatística

Os ensaios foram realizados em triplicata e os resultados foram expressos como média ± desvio padrão (DP). Os dados foram submetidos à análise estatística utilizando o software SPSS 22.0 para Windows (SPSS inc., Chicago, IL). As variáveis foram testadas quanto à normalidade por meio do teste de Shapiro-Wilk. As comparações entre os grupos foram

calculadas por análise de variância (ANOVA) e pós-teste de Tukey. Os resultados foram considerados estatisticamente significativos se $p < 0,05$.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

O presente estudo avaliou a atividade de SOD e CAT, que desempenham papel importante na regulação dos níveis de superóxido ($O_2^{\cdot -}$) e peróxido de hidrogênio (H_2O_2), respectivamente, gerados, principalmente nas mitocôndrias. Ademais, foram avaliados os níveis de -SH e de TBARS (**Tabela 1**).

Observou-se que a glicose elevada esgotou a atividade enzimática tanto da SOD quanto da CAT, bem como o teor de SH (marcador de defesa antioxidante não enzimática). Todavia, as defesas foram normalizadas com o tratamento com os extratos, porém, não retornou aos níveis basais. Paralelamente, foi observado um aumento nos níveis de peroxidação lipídica (TBARS) e os extratos foram capazes de remediar, retornando aos níveis observados no controle.

Tabela 1. Marcadores de estresse oxidativo e defesas antioxidantes em células endoteliais humanas tratadas com extratos de pitaya na presença ou ausência de glicose.

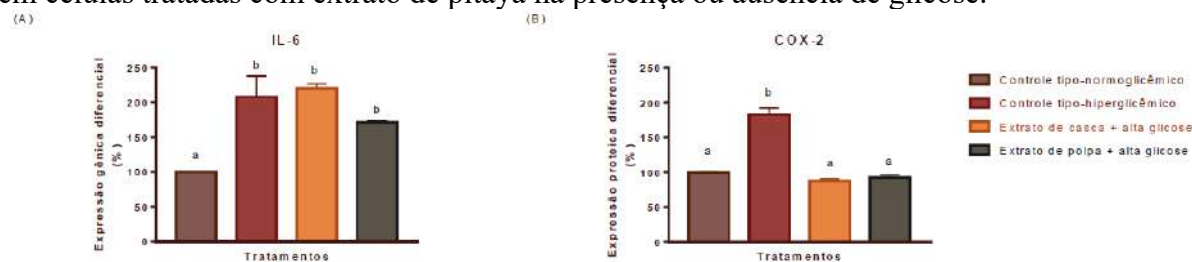
	TBARS (nmol TMP/mg proteína)	Proteína sulfidril (nmol DTNB/mg proteína)	Atividade de SOD (USOD/mg proteína)	Atividade de CAT (UCAT/mg proteína)
Controle tipo-normoglicêmico	0.99 ± 0.18 ^a	4.08 ± 0.04 ^a	16.23 ± 3.65 ^a	10.31 ± 0.94 ^a
Controle tipo-hiperglicêmico	1.31 ± 0.09 ^b	3.03 ± 0.04 ^b	8.30 ± 1.09 ^b	6.88 ± 0.57 ^b
Extrato de casca + alta glicose	0.88 ± 0.01 ^a	2.98 ± 0.20 ^b	9.07 ± 0.15 ^{bc}	12.75 ± 0.38 ^c
Extrato de polpa + alta glicose	0.81 ± 0.09 ^a	2.92 ± 0.66 ^b	10.13 ± 0.06 ^{bc}	14.50 ± 0.57 ^d

Legenda: TMP = 1,1,3,3-tetrametoxipropano hidrolisado; USOD = quantidade de enzima necessária para inibir a taxa de oxidação da epinefrina em 50%; UCAT = quantidade de enzima que decompõe 1 mmol de H_2O_2 em 1 min. Os resultados são expressos como média ± DP. Letras diferentes indicam valores estatisticamente diferentes entre os tratamentos conforme análise de variância (ANOVA) e teste post hoc de Tukey. A significância estatística foi determinada em $p < 0,05$.

O estresse oxidativo está ligado a uma diminuição na ação da SOD e CAT e pode afetar a eliminação de ERO medida pela peroxidação lipídica. (JAMAL GILANI et al., 2021) relataram que ratos diabéticos apresentavam níveis mais elevados de TBARS, acompanhados de redução nas atividades de SOD e CAT quando comparados a ratos saudáveis. Resultados semelhantes foram encontrados em pacientes diabéticos e por (BUDIN et al., 2009) e (JAISWAL et al., 2013) em ratos diabéticos.

A exposição à glicose elevada duplicou a expressão relativa de IL-6 em comparação ao controle tipo-normoglicêmico. Ambos os extratos não foram capazes de reverter essa alteração (**Figura 1 A**). Com relação a expressão proteica de COX-2, houve um aumento de cerca de 80% induzido pela sobrecarga de glicose (**Figura 1 B**) quando comparado ao controle tipo-normoglicêmico. O extrato de casca e polpa reduziram significativamente esse parâmetro, retornando aos níveis basais.

Figura 1. Expressão gênica e proteica relativa de interleucina-6 (A) e ciclooxigenase-2 (B) em células tratadas com extrato de pitaya na presença ou ausência de glicose.



A inflamação crônica descrita no DM está associada com níveis aumentados do fator de transcrição nuclear NF- κ B, da proteína inflamatória ciclooxigenase 2 (COX-2), da super produção de ON pela enzima óxido nítrico induzível (iNOS) (TARNOWSKI et al., 2017) e dos níveis de IL-6. De fato, foi relatado níveis aumentados de expressão da isoenzima COX-2 e subsequente produção de mensageiros inflamatórios em mulheres portadoras de DM gestacional (LIONG; LAPPAS, 2015). Achados de (LEE et al., 2019) relatam que o aumento de IL-6 afeta negativamente a cicatrização de feridas em camundongos expostos a alta glicose. Um estudo realizado por (ROBINSON et al., 2020) demonstrou que a inibição da IL-6 em ratos diabéticos contribuiu para diminuir os níveis de estresse oxidativo e inflamação em células endoteliais de retina.

4 CONCLUSÃO

Os extratos de casca e polpa de pitaya normalizaram os distúrbios oxidativo-inflamatórios em modelo tipo-diabético. Os resultados encontrados podem ser explicados, ao menos em parte, pela atividade antioxidante e anti-inflamatória exibida pelos compostos presentes na matriz química desse fruto. No entanto, são necessárias mais investigações para garantir que estes efeitos possam ser extrapolados *in vivo*.

REFERÊNCIAS

AEBI, H. Catalase in vitro. **Methods Enzymol**, v. 105, p. 121–126, 1984.

AKSENOV, M. Y.; MARKESBERY, W. R. Changes in thiol content and expression of glutathione redox system genes in the hippocampus and cerebellum in Alzheimer's disease. **Neuroscience Letters**, v. 302, p. 141–145, 2001.

APARECIDA RIBEIRO NEPOMOCENO, T. et al. O Cultivo E a Comercialização De Pitaya (Hylocereus Sp.) No Brasil, Com Enfoque No Estado Do Paraná. p. 17–20, 2019.

BANNISTER, J. V.; CALABRESE, L. Assays for superoxide dismutase. **Methods of biochemical analysis**, v. 32, p. 279–312, 1987.

BRANCO, C. D. S. et al. Mitochondria and redox homeostasis as chemotherapeutic targets of *Araucaria angustifolia* (Bert.) O. Kuntze in human larynx HEP-2 cancer cells. **Chemico-Biological Interactions**, v. 231, p. 108–118, 2015.

BROWNLEE, M. biology of diabetic complications. v. 414, n. December, p. 813–820, 2001.

BUDIN, S. B. et al. The effects of palm oil tocotrienol-rich fraction supplementation on biochemical parameters, oxidative stress and the vascular wall of streptozotocin-induced

diabetic rats. **Clinics**, v. 64, n. 3, p. 235–244, 2009.

CERBARO, A. F. et al. Grape seed proanthocyanidins improves mitochondrial function and reduces oxidative stress through an increase in sirtuin 3 expression in EA. hy926 cells in high glucose condition. **Molecular Biology Reports**, v. 47, n. 5, p. 3319–3330, 2020.

CRISTIANE ANDRÉA DE, L. et al. Características físico-químicas, polifenóis e flavonoides amarelos em frutos de espécies de pitaias comerciais e nativas do Cerrado. **Revista Brasileira de Fruticultura**, p. 565–570, 2013.

ESQUIVEL, P.; ARAYA QUESADA, Y. Características del fruto de la pitahaya (*Hylocereus* sp.) y su potencial de uso en la industria alimentaria Pitahaya (*Hylocereus* sp.): fruit characteristics and its potential use in the food industry. **Revista Venezolana de Ciencia y Tecnología de Alimentos**, v. 3, n. 1, p. 113–129, 2012.

FADLILAH, S. et al. Dragon Fruit (*Hylocereuspolyrhizus*) Effectively Reduces Fasting Blood Sugar Levels and Blood Pressure on Excessive Nutritional Status. **Pakistan Journal of Medical and Health Sciences**, v. 14, n. 2, p. 1405–1412, 2020.

HADI, N. A. et al. Effects of Red Pitaya Fruit (*Hylocereus Polyrhizus*) Consumption on Blood Glucose Level and Lipid Profile in Type 2 Diabetic Subjects. **Borneo Science**, n. September, p. 127–142, 2012.

INCALZA, M. A. et al. Oxidative stress and reactive oxygen species in endothelial dysfunction associated with cardiovascular and metabolic diseases. **Vascular Pharmacology**, v. 100, n. April 2017, p. 1–19, 2018.

JAISWAL, D. et al. Role of Moringa oleifera in regulation of diabetes-induced oxidative stress. **Asian Pacific Journal of Tropical Medicine**, v. 6, n. 6, p. 426–432, 2013.

JAMAL GILANI, S. et al. Fustin ameliorates hyperglycemia in streptozotocin induced type-2 diabetes via modulating glutathione/Superoxide dismutase/Catalase expressions, suppress lipid peroxidation and regulates histopathological changes. **Saudi Journal of Biological Sciences**, v. 28, n. 12, p. 6963–6971, 2021.

JOSHI, M.; PRABHAKAR, B. Phytoconstituents and pharmaco-therapeutic benefits of pitaya: A wonder fruit. **Journal of Food Biochemistry**, v. 44, n. 7, 2020.

LEE, E. G. et al. Interleukin 6 function in the skin and isolated keratinocytes is modulated by hyperglycemia. **Journal of Immunology Research**, v. 2019, 2019.

LIONG, S.; LAPPAS, M. Activation of AMPK improves inflammation and insulin resistance in adipose tissue and skeletal muscle from pregnant women. **Journal of Physiology and Biochemistry**, v. 71, n. 4, p. 703–717, 2015.

LODI, K. Z. et al. Jo u rn a l P re-proof. **PharmaNutrition**, n. 2023, p. 100356, [s.d.].

LOWRY, O. H. et al. Protein measurement with the Folin phenol reagent. **The Journal of biological chemistry**, v. 193, n. 1, p. 265–275, 1951.

MALACRIDA, C. R.; DA MOTTA, S. Antocianinas Em Suco De Uva: Composição E Estabilidade. **Boletim do Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos**, v. 24, n. 1, p. 59–82, 2006.

NAM HAN CHO. **Eighth edition 2017**. [s.l: s.n.].

POOLSUP, N.; SUKSOMBOON, N.; PAW, N. J. Effect of dragon fruit on glyceimic control in prediabetes and type 2 diabetes: A systematic review and meta-analysis. **PLoS ONE**, v. 12, n. 9, p. 1–12, 2017.

ROBINSON, R. et al. Interleukin-6 trans-signaling inhibition prevents oxidative stress in a mouse model of early diabetic retinopathy. **Redox Biology**, v. 34, n. March, p. 101574, 2020.

SZENDROEDI, J.; PHIELIX, E.; RODEN, M. The role of mitochondria in insulin resistance and type 2 diabetes mellitus. **Nature Publishing Group**, v. 8, n. 2, p. 92– 103, 2011.

TARNOWSKI, M. et al. COX2 and NOS3 gene polymorphisms in women with gestational diabetes. **Journal of Gene Medicine**, v. 19, n. 8, p. 1–7, 2017.

TESTA, R. et al. The “Metabolic Memory” Theory and the Early Treatment of Hyperglycemia in Prevention of Diabetic Complications. **Nutrients**, v. 9, n. 5, 2017.

WILLS, E. D. Mechanisms of lipid peroxide formation in animal tissues. **The Biochemical journal**, v. 99, n. 3, p. 667–676, 1966.



EXTRATOS DE UVA E SUBPRODUTOS COMO REGULADORES DA MEMÓRIA METABÓLICA NO DIABETES *MELLITUS* TIPO II: UMA REVISÃO

ANGELA MARINA MAZZOCHI TOSS DEBACO; KARINA ZANELLA LODI; CATIA SANTOS BRANCO

RESUMO

Diabetes *Mellitus* tipo 2 (DM2), um problema de saúde pública global, emerge quando o corpo não emprega de maneira adequada a insulina, resultando em hiperglicemia. Os custos de assistência à saúde dessa condição são muito elevados e pesquisas que visem contribuir com novas estratégias de enfrentamento são necessárias. Há uma relação clara entre estresse oxidativo e DM2, explicada em parte pela dieta ocidental. Antioxidantes são encontrados abundantemente na uva e derivados e têm despertado crescente interesse devido aos seus potenciais benefícios frente ao DM2. O objetivo dessa revisão foi compilar estudos que evidenciassem os potenciais de *Vitis spp* e/ou subprodutos enológicos no diabetes. Dentre os principais achados, foram reportadas correlações entre o consumo de antioxidantes de extrato de uva e danos oxidativos ligados ao DM2. Adicionalmente, verificou-se que extratos produzidos a partir do bagaço de uva, inibiram as atividades de enzimas α -amilase e α -glicosidase, envolvidas no processo de assimilação dos carboidratos da dieta. Outros mecanismos relatados foram a melhora da sensibilidade à insulina, modulação de Sirtuínas e regulação do metabolismo sistêmico da glicose. Esses achados enfatizam o potencial dos antioxidantes na reversão da memória metabólica associada à hiperglicemia, destacando-os como alternativa adjuvante para pacientes diabéticos.

Palavras-chave: Complicações Diabéticas; Antioxidantes; Produtos Naturais; Extratos Vegetais; Compostos Fenólicos

1 INTRODUÇÃO

A fisiopatologia do Diabetes *Mellitus* (DM) é complexa, tendo a produção insuficiente ou a má utilização de insulina, hormônio que regula a glicose no sangue e garante energia para o organismo, como principais causas. Em caso de falha nesse sistema de regulação, ocorre aumento da taxa de glicose no sangue, o que leva a diversas e sérias complicações. Existem duas principais formas conhecidas de DM. O diabetes tipo 1, que ocorre geralmente na infância ou adolescência, e o tipo 2, que é mais comum na idade adulta (NAM HAN CHO, 2017; PITITTO et al., 2022).

O Diabetes *Mellitus* tipo 2 (DM2), objeto de atenção da presente revisão, ocorre quando o corpo não aproveita adequadamente a insulina produzida. Suas causas estão diretamente relacionadas ao sobrepeso, sedentarismo, triglicerídeos elevados, hipertensão e hábitos alimentares inadequados (CRUZ et al., 2022; PITITTO et al., 2022).

O DM2 ocorre devido à resistência dos tecidos à insulina. Isso causa hiperglicemia crônica acompanhada de dislipidemia, hipertensão e disfunção endotelial. Como consequência, e a longo prazo, pode favorecer o aumento da morbidade e mortalidade por doenças cardiovasculares. Tem sido descrito que a melhor forma de tratamento e prevenção do DM2 é manter uma alimentação adequada, praticar exercícios físicos regularmente e ter

um acompanhamento médico e nutricional (KAUTZKY-WILLER; HARREITER; PACINI, 2016; NAM HAN CHO, 2017; PITITTO et al., 2022).

Estilo de vida sedentário e dieta desbalanceada estão entre os principais fatores para o desenvolvimento da resistência insulínica associada ao DM2. Ainda assim, estudos epidemiológicos, que busquem associações entre consumo alimentar e o diabetes, são limitados. Por outro lado, padrões alimentares com base em baixo consumo de alimentos ultraprocessados e maior ingestão de frutas e vegetais frescos mostram-se eficazes tanto na prevenção quanto no manejo de doenças crônicas não transmissíveis (DCNT), como o diabetes. Considerando a heterogeneidade dos fenótipos da doença, mudanças no estilo de vida como um todo, são necessárias (BORSE et al., 2021; KAUTZKY-WILLER; HARREITER; PACINI, 2016).

O papel dos fitoquímicos presentes nos produtos naturais no manejo do DM2 contempla uma perspectiva biotecnológica promissora. Essa abordagem, utilizando compostos fenólicos (CF) bioativos para modular a expressão gênica, constitui-se numa estratégia epigenética segura e eficaz. Esses compostos atuam na atenuação dos danos oxidativos associados a disfunção endotelial, minimizando o estresse oxidativo celular existente nessa condição (CERBARO et al., 2020; SILVA et al., 2022).

O estresse oxidativo é apontado como um fator chave na chamada “memória metabólica” que está atrelada as complicações do diabetes, e que se mantém, mesmo em pacientes medicados. Essa teoria se apoia num crescente corpo de evidências experimentais que demonstram que o risco de complicações diabéticas macro e microvasculares de longo prazo está associado ao estresse oxidativo, à glicação não enzimática de proteínas, às alterações epigenéticas e à inflamação crônica (TESTA et al., 2017), desfechos não remediados pela farmacologia atual.

Considerando a necessidade de estratégias inovadoras e sustentáveis para complementar o tratamento convencional da DM2, a uva (*Vitis spp*) e seus subprodutos emergem como uma fonte promissora de compostos bioativos, podendo oferecer uma abordagem natural e acessível para reverter a memória metabólica e evitar as complicações da doença.

Nesse contexto, o objetivo dessa revisão foi compilar estudos sobre os usos de CF presentes em extratos de uva e subprodutos enológicos no desenvolvimento de estratégias terapêuticas para o DM2.

Os dados obtidos contribuirão para o entendimento dos mecanismos subjacentes aos potenciais benefícios, permitindo o desenvolvimento de intervenções baseadas em evidências para indivíduos diabéticos.

2 MATERIAIS E MÉTODOS

Para a realização da presente revisão narrativa empregou-se metodologia descritiva baseada em levantamento bibliográfico. A busca foi executada nas seguintes bases de dados: Medline PUBMED, portal de periódicos CAPES e sites institucionais, sem delimitação temporal. Os termos utilizados para a pesquisa foram: “diabetes *mellitus*”; “antioxidants”; “polyphenols” e “grape pomace”. Os unitermos foram pesquisados isoladamente e em combinação, entre março e dezembro de 2023, e sem restrição de idioma. Foram selecionados os trabalhos que apresentavam conteúdo relevante para a pesquisa de uma maneira abrangente e que respondiam a pergunta “São as uvas e seus subprodutos fontes de moléculas bioativas para o manejo do Diabetes *Mellitus* tipo 2”?

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados encontrados demonstram que, dentre os CF presentes nas uvas, ressaltam-se as antocianinas, particularmente encontradas nas variedades de uvas escuras

(CERBARO et al., 2020). Essas desempenham um papel na melhoria da sensibilidade à insulina e na regulação do metabolismo da glicose, além de neutralizar os RL, reduzindo o estresse oxidativo associado ao DM2. Essas demonstram também efeitos promissores na regulação da função mitocondrial. Sua capacidade de modular vias de sinalização intracelular e influenciar a expressão de genes mitocondriais faz delas candidatas interessantes na prevenção e tratamento de condições associadas à disfunção mitocondrial endotelial. A melhora da função endotelial sugere um potencial impacto positivo na prevenção de complicações vasculares (LODI et al., 2023).

As uvas são excelentes fontes de resveratrol, o qual tem sido objeto de muitos estudos devido às suas propriedades anti-inflamatórias, antioxidantes e potencialmente antidiabéticas. Ele atua ativando a proteína Sirtuína 1 (SIRT1), que desempenha um papel importante na regulação do metabolismo e na resposta à insulina secretada (VIANA- MATTIOLI et al., 2020). Outras Sirtuínas também têm sido descritas como alvos de ação dos CF. Por exemplo, estudos anteriores do nosso grupo de pesquisa (CERBARO et al., 2020; RIGOTTI et al., 2020) reportaram modulação de Sirtuína 3 (SIRT3) por extrato fenólico de semente de uva. Essa proteína em específico atua favoravelmente na função mitocondrial, minimizando o estresse oxidativo e suas consequências, como as complicações diabéticas. A melhora nesses parâmetros se deve ao fato de as Sirtuínas agirem favoravelmente na promoção da biogênese mitocondrial e no controle da produção de ATP (RASINES-PEREA; TEISSEDRE, 2017).

A presença desses compostos antioxidantes nas uvas americanas reforça seu potencial frente ao DM2. Eles atuam sinergicamente para combater o estresse oxidativo, proteger as células e melhorar a resposta metabólica à insulina. Além disso, esses compostos também têm demonstrado efeitos positivos na função vascular e na redução da inflamação, aspectos importantes para o manejo adequado do DM2 (JUNIOR et al., 2023).

O trabalho publicado por (HUAMÁN-CASTILLA et al., 2021) investigou os CF extraídos do bagaço de uva, que revelaram-se promissores na redução da atividade de enzimas α -amilase (redução de 56%) e α -glicosidase (redução de 98%). A comparação com a droga sintética acarbose, um inibidor da α -glicosidase, revelou que o extrato produzido por extração líquida pressurizada a quente apresentou capacidade de inibição comparável ou superior ao fármaco convencional, destacando o potencial desses polifenóis na modulação do metabolismo glicêmico e na prevenção do DM2.

A acarbose pertence a uma classe de medicamentos que visam reduzir os níveis de glicose pós-prandial em pacientes com DM2. Essas drogas atuam retardando a assimilação dos carboidratos dietéticos no intestino delgado. Diferentemente de alguns outros fármacos, como sulfonilureias e insulina que atuam secundariamente (em nível plasmático), a acarbose age sob enzimas intestinais, sendo, portanto, um alvo terapêutico primário no combate ao DM2 (LODI et al., 2022).

Diversas fontes de CF, incluindo vinho tinto e semente de uva, têm demonstrado efeitos antidiabéticos em pacientes. Os mecanismos subjacentes a esses efeitos benéficos englobam o aprimoramento no metabolismo da glicose, a melhoria da função vascular, a redução da resistência à insulina e a diminuição dos níveis de HbA1c, indicativo crucial do controle glicêmico a longo prazo. Variedades de *V. Labrusca* se destacam-também por sua atividade antitumoral em linhagem de câncer de mama dependente de insulina, associadas à melhoria do controle energético celular (VÉLEZ et al., 2023).

Esses achados demonstram a importância da interação entre diversos componentes na dieta para alcançar efeitos terapêuticos em diferentes ações no enfrentamento do DM2 (CAO et al., 2019). A redução da inflamação crônica, por exemplo, contribui também para amenizar a resistência dos tecidos insulino-dependentes melhorando o prognóstico do diabetes (LODI et al., 2023).

Estudos sugerem que as antocianinas também podem influenciar a expressão de genes

envolvidos na biossíntese de ácidos graxos e triglicerídeos. Esses achados são relevantes uma vez que disfunções no perfil lipídico são observadas no DM2, podendo acarretar aterosclerose e problemas cardiovasculares. Além disso, elas favorecem a oxidação de ácidos graxos, estimulando a produção de energia a partir desse substrato, reduzindo seu armazenamento nos tecidos. Adicionalmente, extratos antocianínicos parecem modular a biossíntese de óxido nítrico (ON) no endotélio (LODI et al., 2023).

Apesar de sua alta bioatividade, os CF possuem uma biodisponibilidade relativamente baixa. Para contornar essa limitação, eles podem ser associados a nano e microssistemas visando potencialização de seus efeitos farmacológicos. Por exemplo, (CARRA et al., 2022) utilizaram o método de microencapsulação atomizada para encapsular o extrato de subproduto de uva. A identificação das antocianinas foi realizada por Espectrometria de Massa (MRM-ESI-MS), revelando compostos como malvidina-3-*O*-glicosídeo e petunidina-3-*O*-glicosídeo. A estabilidade dessas substâncias, crucial para sua aplicação, mostrou depender de condições específicas de armazenamento, ressaltando a importância de temperatura abaixo de 40 °C (CARRA et al., 2022). Além disso, análises de atividade antioxidante indicaram perspectivas de aplicação dessas antocianinas nas indústrias farmacêutica, cosmética e alimentícia para diferentes fins.

Similarmente, (DRESCH et al., 2018) avaliou a atividade sequestradora de RL dos extratos brutos de folhas secas de *Vitis vinifera* e *Vitis labrusca*, bem como das antocianinas, fração flavonoide e compostos isolados. Os autores descreveram significativa atividade antioxidante dos extratos nos diferentes ensaios realizados, indicando perspectivas de uso, por exemplo, de uso tópico, visando melhora do equilíbrio oxidante/antioxidante.

4 CONCLUSÃO

Os estudos revisados apontam que CF presentes na matriz química de extratos de uva e seus subprodutos atuam sinergicamente para combater o estresse oxidativo, proteger as células e melhorar a resposta hormonal. A inibição de enzimas de digestão de carboidratos, como evidenciado em estudos com CF extraídos do bagaço de uva, sugere potencial na modulação do metabolismo glicêmico e na prevenção do DM2.

A análise da literatura revelou que os CF podem influenciar diversas vias fisiológicas relevantes no diabetes, incluindo a via do receptor de insulina, do fator de crescimento semelhante à insulina-1, a expressão de genes relacionados à biossíntese de ácidos graxos e triglicerídeos e a expressão de Sirtuínas. Tais achados sugerem uma abordagem multifacetada no manejo do DM2 para esses compostos.

Com base nessas evidências, pode-se afirmar que os extratos de uva e seus derivados apresentam-se como fontes promissoras de moléculas bioativas para o diabetes, abrindo caminho para a continuidade de pesquisas e desenvolvimento de estratégias biotecnológicas inovadoras e sustentáveis para essa condição de saúde.

REFERÊNCIAS

- BORSE, S. P. et al. Management of Type 2 Diabetes: Current Strategies, Unfocused Aspects, Challenges, and Alternatives. **Medical Principles and Practice**, v. 30, n. 2, p. 109–121, 2021.
- CAO, H. et al. Dietary polyphenols and type 2 diabetes: Human Study and Clinical Trial. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 59, n. 20, p. 3371–3379, 2019.
- CARRA, J. B. et al. Spray-drying of casein/pectin bioconjugate microcapsules containing grape (*Vitis labrusca*) by-product extract. **Food Chemistry**, v. 368, n. February 2021, 2022.

CERBARO, A. F. et al. Grape seed proanthocyanidins improves mitochondrial function and reduces oxidative stress through an increase in sirtuin 3 expression in EA. hy926 cells in high glucose condition. **Molecular Biology Reports**, v. 47, n. 5, p. 3319–3330, 2020.

CRUZ, M. S. et al. Prevalence of hypertension and obesity in patients with type 2 Diabetes Mellitus. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 58, p. 2014–2015, 2022.

DRESCH, R. R. et al. Potential use of secondary products of the agri-food industry for topical formulations and comparative analysis of antioxidant activity of grape leaf polyphenols. **Natural Product Research**, v. 32, n. 4, p. 486–492, 2018.

HUAMÁN-CASTILLA, N. L. et al. Chemical properties of vitis vinifera carménère pomace extracts obtained by hot pressurized liquid extraction, and their inhibitory effect on type 2 diabetes mellitus related enzymes. **Antioxidants**, v. 10, n. 3, p. 1–14, 2021.

JUNIOR, T. K. et al. Optimization of the Green Chemistry-like Extraction of Phenolic Compounds from Grape (*Vitis labrusca* L.) and Blackberry (*Rubus fruticosus* L.) Seeds with Concomitant Biological and Antioxidant Activity Assessments. **Plants**, v. 12, n. 14, 2023.

KAUTZKY-WILLER, A.; HARREITER, J.; PACINI, G. Sex and gender differences in risk, pathophysiology and complications of type 2 diabetes mellitus. **Endocrine Reviews**, v. 37, n. 3, p. 278–316, 2016.

LODI, K. Z. et al. pre-clinical evidence for the therapeutic effect of Pitaya (*Hylocereus lemairei*) on diabetic intestinal microenvironment. **Natural Product Research**, v. 0, n. 0, p. 1–7, 2022.

LODI, K. Z. et al. Pitaya (*Hylocereus lemairei*) extracts avoid mitochondrial dysfunction and NF- κ B/NLRP-3- mediated inflammation in endothelial cells under high glucose and are in vivo safe. **PharmaNutrition**, p. 100356, 2023.

NAM HAN CHO. **Eighth edition 2017**. [s.l: s.n.].

PITITTO, B. DE A. et al. Metas no tratamento do diabetes. **Diretriz Oficial da Sociedade Brasileira de Diabetes**, 2022.

RASINES-PEREA, Z.; TEISSEDE, P. L. Grape Polyphenols' effects in human cardiovascular diseases and diabetes. **Molecules**, v. 22, n. 1, p. 1–19, 2017.

RIGOTTI, M. et al. Grape seed proanthocyanidins prevent H₂O₂-induced mitochondrial dysfunction and apoptosis via SIRT 1 activation in embryonic kidney cells. **Journal of Food Biochemistry**, v. 44, n. 3, 2020.

SILVA, T. M. et al. Dual effect of the herbal matcha green tea (*Camellia sinensis* L. kuntze) supplement in EA. hy926 endothelial cells and *Artemia salina*. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 298, n. July, 2022.

TESTA, R. et al. The “Metabolic Memory” Theory and the Early Treatment of

Hyperglycemia in Prevention of Diabetic Complications. **Nutrients**, v. 9, n. 5, 2017.

VÉLEZ, M. D. et al. Antioxidant capacity and cytotoxic effect of an optimized extract of isabella grape (*Vitis labrusca*) on breast cancer cells. **Heliyon**, v. 9, n. 6, 2023.

VIANA-MATTIOLI, S. et al. SIRT1-dependent effects of resveratrol and grape juice in an in vitro model of preeclampsia. **Biomedicine and Pharmacotherapy**, v. 131, p. 110659, 2020.



IMPACTO DE POLIMORFISMOS DELETÉRIOS NO GENE *IL7R*: UMA ANÁLISE BIOINFORMÁTICA NA ESCLEROSE MÚLTIPLA

GABRIELA CRISTINA DA SILVA; KARINA COLOMBERA PERES

RESUMO

A esclerose múltipla (EM) é uma doença autoimune que atinge o sistema nervoso central (SNC) causando desmielinização dos axônios, e conseqüentemente dificulta a transmissão do impulso nervoso. A fisiopatologia envolve uma grande produção de linfócitos T reativos, que seguem para a bainha de mielina, causando um processo inflamatório e destrutivo. O gene *IL7R* codifica uma proteína que tem função essencial para a ligação da interleucina 7 (IL-7), sendo esta a responsável pela maturação dos linfócitos B e ativação de células T. Estudos anteriores descreveram que a de sinalização excessiva desta ligação pode ser associada à EM. Polimorfismos (SNPs) são trocas de nucleotídeos único que acontecem no DNA e sua localização pode ter grande influência na produção, tamanho e função da proteína codificada. A identificação de SNPs em genes associados a doenças pode ser útil na verificação da suscetibilidade individual e prognóstico de casos clínicos. O objetivo deste estudo foi investigar o efeito deletério de SNPs na proteína *IL7R*. Foi realizada uma análise bioinformática do gene *IL7R*, por meio de 11 ferramentas diferentes, para avaliar os impactos presença dos SNPs na função e estabilidade da proteína. Vinte e um (21) SNPs foram considerados deletérios por 75% das ferramentas computacionais, com destaque para o SNP rs193922644, deletério em 100%. Análises pós-traducionais demonstram maior estabilidade proteica na presença do novo resíduo e a ferramenta HOPE esclarece que essas modificações danosas envolvem tamanho, carga e hidrofobicidade do novo resíduo. Além disso, a ferramenta gnomAD trouxe uma correlação entre o SNP rs201940568 e a EM. Em conclusão, demonstramos, com o uso de ferramentas computacionais, que 21 SNPs do gene *IL7R* podem acarretar alterações de estrutura e função da proteína, com destaque a dois SNPs como potenciais candidatos para investigação em pacientes com EM.

Palavras-chave: autoimunidade; interleucina; biotecnologia, aminoácidos, SNPs.

1 INTRODUÇÃO

A esclerose múltipla (EM) é uma doença inflamatória autoimune, que age de maneira progressiva no organismo, atingindo o sistema nervoso central, causando a desmielinização dos axônios e dificultando a transmissão do impulso nervoso (OLIVEIRA e SOUZA, 1998; SÁ, 2012). Fatores genéticos e ambientais interferem na manifestação e evolução clínica da doença, contudo, os mecanismos etiológicos e patológicos da EM ainda não são completamente compreendidos. Diversos estudos demonstram ser crucial o envolvimento de linfócitos T CD4⁺ autorreativos direcionados à bainha de mielina e outras proteínas, mas todo o sistema imune parece atuar para a instalação da doença.

O estudo de polimorfismos (SNPs) é fundamental para entender a variabilidade individual na predisposição a doenças e nas respostas aos tratamentos médicos. SNPs localizados em regiões de codificação podem produzir diferentes isoformas de proteínas e gerar interações proteína-proteína disfuncionais, além de interromper caminhos de ação.

Podendo influenciar em diversos processos da produção e função proteica, a identificação de SNPs pode fornecer valiosas informações de suscetibilidade genética e evolução clínica do paciente (KATARA, 2014; (ZIEMSEN, AKGUN e BRUCK, 2019).

O gene *IL7R* está localizado no cromossomo 5 e tem grande participação na ligação da IL-7, responsável pelo crescimento e maturação dos linfócitos B e ativação dos linfócitos T. Esse gene codifica um domínio transmembranar da cadeia α do receptor de IL-7 (HAFLER et. al, 2007). No caso de deficiência na via IL-7, ocorre imunodeficiência, pela linfopenia. Já na sinalização excessiva da via é associada a síndromes autoimunes, como o caso da EM (WINER, 2022).

Nosso objetivo foi investigar o efeito de SNPs deletérios no gene *IL7R*, e seus impactos na estrutura, morfologia e função da proteína codificada, a fim de compreender melhor o seu papel e eventual utilidade clínica no diagnóstico e prognóstico dos pacientes com EM.

2 MATERIAIS E MÉTODOS

Foram coletadas informações dos SNPs e a sequência de aminoácido da proteína nas bases de dados do NCBI dbSNP e Uniprot, respectivamente. A seguir, uma análise morfofuncional da proteína com aminoácidos modificados pela presença de SNPs foi realizada com auxílio do software PredictSNP1.0 que possui um consenso de oito ferramentas de análise (SIFT, PANTHER, PolyPhen-1, PolyPhen-2, MAPP, SNAP, nsSNPAnalyzer e PhD-SNP) prevê se a substituição de um aminoácido específico afeta a função da proteína em suas características bioquímicas e biofísicas. As ferramentas de análise complementar usadas foram a MUpuro e HOPE que fornecem, respectivamente, informações sobre a estabilidade proteica e alterações morfofuncionais da proteína na presença dos SNPs. Por último, foi utilizado o software gnomAD para avaliar o significado clínico e a frequência destes em grupos populacionais e em doenças genéticas.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Cerca de 10138 SNPs do gene *IL7R* foram recuperados do NCBI. Destes, foram filtrados por mutação missense, em que essa alteração de nucleotídeo causa uma alteração na codificação, sintetizando um aminoácido diferente, podendo (ou não) alterar a proteína, sendo encontrados 805 SNPs. Estes foram submetidos para análise no SIFT, onde foram encontradas informações sobre a troca de aminoácido de apenas 426 polimorfismos. Os SNPs em duplicidade foram excluídos, resultando em 157 SNPs diferentes. O PredictSNP1.0 selecionou 112 SNPs válidos (que possuem a troca de aminoácido já registrada), que foram avaliadas em suas 8 ferramentas diferentes. Vinte e um (21) SNPs foram considerados deletérios, em pelo menos 75% das ferramentas, indicando que a alteração pode impactar na conformação da proteína (Tabela 1). Nas análises pós traducionais dos 21 SNPs selecionados (Tabela 2), a ferramenta Mupro, utilizada para prever a estabilidade proteica dessas mudanças, demonstrou menor estabilidade em 20 SNPs, sendo maior apenas em 1 (rs193922644). Na ferramenta HOPE, foi realizado um relatório com previsão de mudanças no tamanho, hidrofobicidade, conservação da proteína e imagens em 3D dessas trocas selecionadas (Tabela 3).

Tabela 1. Resultado dos SNPs de *IL7R* com todas as ferramentas PredictSNP1.0 integradas.

SNP	Troca de aa	Predict SNP	MAPP	PHD-SNP	POLYP HEN1	POLYP HEN2	SIFT	SNAP	PANTHER
rs373694709	Y43C	D	D	N	D	D	D	D	D
rs11567704	S44R	D	D	D	D	D	D	D	D
rs200464578	Q45H	D	D	N	D	D	D	D	D

rs202083738	G50V	D	D	D	D	D	D	D	D
rs147423300	F71Y	D	D	N	D	D	D	D	D
rs201106853	G103R	D	D	D	D	D	D	D	D
rs104893894	P132S	D	D	D	D	D	D	D	D
rs199779006	L135R	D	D	D	D	D	D	D	D
rs372676633	A143T	D	D	D	D	D	D	D	D
rs201940568	T149I	D	D	D	D	D	D	D	D
rs145210284	R170C	D	D	D	D	D	D	D	D
rs193922642	H180P	D	D	N	D	D	D	D	D
rs145810271	Y201C	D	D	N	D	D	D	D	D
rs193922644	R206Q	D	D	N	D	D	D	D	D
rs193922644	R206L	D	D	D	D	D	D	D	D
rs193922645	G215V	D	D	D	D	D	D	D	D
rs374232919	S218N	D	D	D	D	D	D	D	D
rs201412341	T228I	D	D	N	D	D	D	D	D
rs200107390	F303S	D	D	D	D	D	D	D	D
rs374876660	L370Q	D	D	D	D	D	D	D	D
rs141919625	S453P	D	N	D	D	D	D	D	D

Tabela 2. Resultados de estabilidade proteica dos 21 SNPs do gene *IL7R* selecionados pela ferramenta MUpro.

SNP	Troca	Score	Estabilidade
rs373694709	Y43C	-0,56	Menor
rs11567704	S44R	-0,79	Menor
rs200464578	Q45H	-1,36	Menor
rs202083738	G50V	-0,44	Menor
rs147423300	F71Y	-0,85	Menor
rs201106853	G103R	-1,07	Menor
rs104893894	P132S	-0,91	Menor
rs199779006	L135R	-1,63	Menor
rs372676633	A143T	-0,88	Menor
rs201940568	T149I	-0,19	Menor
rs145210284	R170C	-0,31	Menor
rs193922642	H180P	-0,72	Menor
rs145810271	Y201C	-0,43	Menor
rs193922644	R206Q	-0,38	Menor
rs193922644	R206L	0,09	Maior
rs193922645	G215V	-0,77	Menor
rs374232919	S218N	-0,42	Menor
rs201412341	T228I	-0,58	Menor
rs200107390	F303S	-1,24	Menor
rs374876660	L370Q	-1,33	Menor
rs141919625	S453P	-0,88	Menor

Tabela 3. Resultados das alterações no tamanho, carga, conservação e hidrofobicidade dos SNPs selecionados do gene *IL7R*.

SNP	Troca de aa	Tamanho		Carga	Conservação		Hidrofobicidade
		Resíduo novo	Selvagem		Novo	Selvagem	
rs373694709	Y43C	C > Y	-	-	Conservado	-	C < Y
rs11567704	S44R	R > S	Neutra	Positiva	Conservado	-	S > R
rs200464578	Q45H	H > Q	-	-	Conservado	-	-
rs202083738	G50V	V > G	-	-	Conservado	-	V > G
rs147423300	F71Y	Y > F	-	-	Conservado	-	F > Y
rs201106853	G103R	R > G	Neutra	Positiva	Conservado	-	G > R
rs104893894	P132S	P > S	-	-	Conservado	-	P > S
rs199779006	L135R	R > L	-	-	Conservado	-	-
rs372676633	A143T	T > A	-	-	Conservado	-	-
rs201940568	T149I	I > T	-	-	Conservado	-	-
rs145210284	R170C	R > C	Positiva	Neutra	Conservado	-	C > R
rs193922642	H180P	H > P	-	-	Conservado	-	P > H
rs145810271	Y201C	Y > C	-	-	Conservado	-	C > Y
rs193922644	R206Q	R > Q	Positiva	Neutra	Conservado	-	-
rs193922644	R206L	R > L	Positiva	Neutra	Conservado	-	L > R
rs193922645	G215V	V > G	-	-	Conservado	-	V > G
rs374232919	S218N	N > S	-	-	Conservado	-	S > N
rs201412341	T228I	I > T	-	-	Conservado	-	I > T
rs200107390	F303S	F > S	-	-	Conservado	-	F > S
rs374876660	L370Q	Q > L	-	-	Conservado	-	L > Q
rs141919625	S453P	P > S	-	-	Conservado	-	P > S

Esses SNPs foram avaliados individualmente no software gnomAD, e os resultados são apresentados na tabela a seguir (Tabela 4). De acordo com o gnomAD, o SNP rs201940568 (T149I) tem relação com doenças genéticas congênitas, como a EM.

Tabela 4. Resultados das consequências e significados clínicos dos SNPs do gene1 *IL7R*.

SNP	Troca	Consequência	Significado clínico
rs373694709	Y43C	Missense	Incerto
rs11567704	S44R	-	-
rs200464578	Q45H	Missense	Possivelmente patogênico
rs202083738	G50V	Missense	Significado incerto
rs147423300	F71Y	Missense	-
rs201106853	G103R	-	-
rs104893894	P132S	Missense	Patogênico
rs199779006	L135R	Missense	-
rs372676633	A143T	Missense	-
rs201940568	T149I	Missense	Significado incerto
rs145210284	R170C	Missense	Significado Incerto
rs193922642	H180P	Missense	Conflito de resultado
rs145810271	Y201C	Missense	Conflito de resultado
rs193922644	R206Q	Missense	Significado incerto
rs193922644	R206L	-	-
rs193922645	G215V	Missense	Possivelmente patogênico
rs374232919	S218N	Missense	Significado incerto
rs201412341	T228I	Missense	-
rs200107390	F303S	Missense	Significado incerto
rs374876660	L370Q	Missense	-
rs141919625	S453P	Missense	Significado incerto

Dessa forma, visto que a EM é uma patologia autoimune, as interleucinas têm um papel essencial no mecanismo inflamatório. A IL-7, responsável pela maturação dos linfócitos B, e consequentemente dos anticorpos, não é capaz de responder de forma adequada. Dessa forma, ocorre a produção de autoanticorpos, que tem como alvo o tecido nervoso. O gene *IL7R* é o receptor da IL-7 e é encontrado na superfície das células em que acontece a ligação e sinalização da interleucina. Com isso, alterações nesse gene em específico podem afetar diretamente a resposta imunológica.

O primeiro SNP em destaque foi o rs193922644, que apresentou resultado deletério em todas as ferramentas utilizadas pelo PredictSNP1.0. Este, consiste na troca do aminoácido arginina (R) por uma leucina (L) na posição 206. Além disso, segundo o software MUpro, apresenta maior estabilidade proteica diante do resíduo mutado. Sabe-se que a expressão deste se encontra aumentado em casos de EM (RANE, 2010). Em seguida, com o software HOPE, foi possível observar as mudanças químicas da proteína, em que há diminuição da molécula, mudança de carga positiva para neutra e aumento da hidrofobicidade. Essas características dificultam a ligação de hidrogênio da molécula.

O segundo SNP destacado foi o rs201940568 pelo software gnomAD. Este, consiste em uma troca de uma timina (T) por uma isoleucina (I) na posição 149. Apresentou significado incerto para doenças genéticas congênitas, sendo mais comum em homens e no Sul da Ásia. No software HOPE, este SNP apresenta tamanho maior em sua forma mutada. Todas essas alterações podem impactar o funcionamento da proteína, portanto, análises funcionais são necessárias, mas hipotetizamos que esses SNPs possam ter um papel importante na fisiopatologia da EM.

4 CONCLUSÃO

Demonstramos com o uso de ferramentas computacionais que 21 SNPs do gene *IL7R* podem acarretar alterações de estrutura e função proteica, em especial os SNPs rs193922644 e o rs201940568. Essas alterações podem estar correlacionadas com a maior presença dessa proteína em casos de EM, como evidenciado pela literatura. Dessa forma, SNPs de *IL7R*, em especial rs193922644 e rs201940568, são potenciais candidatos para investigação em pacientes com EM.

REFERÊNCIAS

HAFLER, D. A. et. al. **Risk alleles for multiple sclerosis identified by a genomewide study.** *N Engl J Med.* 2007 Aug 30;357(9):851-62.

KATARA, P. **Single nucleotide polymorphism and its dynamics for pharmacogenomics.** *Interdiscip Sci.* 2014 Jun;6(2):85-92.

OLIVEIRA, E. M. L. de; SOUZA, N. A. de. Esclerose Múltipla. **Revista Neurociências, [S. l.]**, v. 6, n. 3, p. 114–118, 1998. DOI: 10.34024/rnc. 1998. v6.10324

RANE, L., et al. Alternative splicing of interleukin-7 (IL-7) and interleukin-7 receptor alpha (IL-7R α) in peripheral blood from patients with multiple sclerosis (MS). **Journal of Neuroimmunology.** Volume 222, Issues 1–2, May 2010, Pages 82-86.

SÁ, M. J. **Esclerose Múltipla.** Universidade Fernando Pessoa; Porto, 2012.

WINER, H. et al. **IL-7: Comprehensive review.** *Cytokine* Volume 160, December 2022, 156049.

ZIEMSEN, T.; AKGÜN, K.; BRÜCK, W. **Molecular biomarkers in multiple sclerosis.** *J Neuroinflammation.* 2019 Dec 23;16(1):272.



INVESTIGAÇÃO DA EFICÁCIA DO TRATAMENTO COM PROBIÓTICOS NA DOENÇA DE PARKINSON

LUANNA D'LUCK FERREIRA GOMES; EDLENE RIBEIRO PRUDENCIO DE SOUZA

RESUMO

Doenças associadas ao envelhecimento, como as neurodegenerativas, estão ganhando cada vez mais relevância no contexto da saúde pública, destacando-se a doença de Parkinson (DP). Apesar de ser conhecida pelos sintomas motores, como tremores em repouso e rigidez muscular, uma variedade de sintomas não motores também caracterizam essa condição, tais como depressão, ansiedade e constipação, os quais podem surgir até 20 anos antes dos sintomas motores. Estudos recentes têm evidenciado o papel das bactérias intestinais na regulação das sinucleinopatias e na disfunção motora associada à DP, sugerindo que elas poderiam ser alvos terapêuticos para mitigar sintomas e melhorar a qualidade de vida dos pacientes. Com o intuito de compreender melhor essa relação, a presente revisão avalia o panorama das publicações relacionadas às palavras-chave "probiotic" e "Parkinson" na base de dados SCOPUS. Buscou-se investigar, detalhadamente, os estudos que analisaram a administração de probióticos em modelos animais e humanos no ano de 2023. Foram encontradas 546 publicações, datando desde o ano de 2004, sendo a maioria revisões. Dessas, 10 artigos avaliaram a administração de probióticos, sendo sete em modelos animais. Estes demonstraram benefícios significativos, especialmente na redução da neuroinflamação e na preservação neuronal. Nos três estudos envolvendo pacientes com DP, observou-se melhora nos sintomas não motores. No entanto, um dos estudos apontou a necessidade de um período de avaliação mais longo para investigar o impacto sobre os sintomas motores em humanos. O uso de suplementos probióticos emerge como uma promissora terapia coadjuvante para o tratamento dos sintomas da DP, especialmente na atenuação dos sintomas não motores.

Palavras-chave: *Lactobacillus*, intestino, neurodegenerativa

1 INTRODUÇÃO

A doença de Parkinson (DP) é uma desordem neurodegenerativa progressiva associada principalmente ao envelhecimento e que, até a atualidade, não tem tratamento que leve a cura. Essa doença atinge cerca de 2-3 % da população mundial acima de 65 anos de idade e 4-5 % acima de 85 anos (MILLER-FLEMING; GIORGINI; OUTEIRO, 2008; LEITE SILVA et al., 2023), sendo a segunda doença neurodegenerativa mais incidente, atrás apenas da doença de Alzheimer (MELO; COPRAY; FERRARI, 2018). Projeções apontam que a expectativa de vida deve aumentar em mais de 10 anos em diversos países, além disso, a proporção de idosos na população deve dobrar nos próximos 30 anos, evidenciando que doenças associadas ao envelhecimento terão relevância cada vez maior no âmbito da saúde pública.

No cérebro dos pacientes acometidos com a DP são encontrados agregados citoplasmáticos insolúveis conhecidos como corpos de Levy. Eles são ricos em uma proteína amiloide chamada α -sinucleína (α -sin). Estes agregados levam a uma variedade de disfunções celulares e sinápticas, que, em última instância, levam a morte celular (POEWE et al., 2017).

A α -sinucleína é uma proteína de 140 aminoácidos, (14 kDa, pKa de 4,7) expressa pelo

gene SNCA no cromossomo humano 4, sintetizada em neurônios em condições fisiológicas. As suas funções celulares ainda não estão totalmente esclarecidas, mas sabe-se que a proteína α -sin interage nos terminais sinápticos que regulam a homeostase da dopamina nos neurônios. Por razões ainda desconhecidas, esta proteína perde sua função fisiológica e forma agregados tóxicos. O defeito na função proteica causa estresse no retículo endoplasmático, contribui para uma disfunção no armazenamento vesicular da dopamina e promove seu acúmulo citoplasmático; resultando em estresse oxidativo e em alterações funcionais do metabolismo intracelular dos neurônios (INGELSSON, 2016).

Entre os vários sintomas da DP destacam-se os sintomas motores; como o tremor em repouso, a rigidez muscular, a bradicinesia (movimentos mais lentos e limitados), a instabilidade postural e a acinesia (dificuldade na iniciação dos movimentos). Embora seja conhecida pelos sintomas motores, uma sequência de sintomas não motores também são característicos da doença, como depressão, ansiedade, sonolência diurna excessiva, anosmia (perda de capacidade olfativa), movimento rápido dos olhos, distúrbios do sono, constipação, dificuldade em engolir e dispepsia (desconforto digestivo); que se apresentam até 20 anos antes dos sintomas motores (PARIHAR et al., 2018; LEITE SILVA et al., 2023).

Embora a doença de Parkinson tenha sido historicamente estudada como uma patologia do sistema nervoso central, há uma crescente valorização dos papéis da função gastrointestinal e de seus microrganismos residentes nesse estado patológico. Após estudos patológicos avaliando a progressão clínica da DP, com sintomas não-motores precedendo os motores, Braak et al. (2003) levantaram a hipótese de que o acúmulo aberrante de α -sin começaria no intestino e progrediria através do nervo vago para o cérebro, de maneira semelhante a um príon após a ingestão de um patógeno neurotrópico, levando à DP.

Estudos demonstraram que metabólitos microbianos, contendo proteínas amiloides chamadas curli, promovem a agregação da α -sin, neuroinflamação e déficits motores em modelos animais. (SAMPSON; MAZMANIAN, 2015; CHEN et al., 2016; SAMPSON et al., 2020). Estes estudos fornecem fortes evidências de que as bactérias intestinais regulam a sinucleinopatia e a disfunção motora da DP. Entretanto, há uma linha tênue entre aceleração e inibição da formação de agregados de α -sin, enquanto alguns microrganismos intestinais podem desempenhar um papel patogênico na DP outros tem ação preventiva na agregação (WERNER; HORVATH; WITTUNG-STAFSHEDE, 2020). É de grande importância expandir as investigações de mecanismos subjacentes a doenças humanas e os metabólitos produzidos pela microbiota intestinal, como caminho para o desenvolvimento de novos tratamentos baseado na promoção de microbiota saudável.

2 METODOLOGIA

Utilizando a base de dados SCOPUS e as palavras-chave “probiotic” e “Parkinson”, combinadas pelo operador booleano “and”, realizou-se inicialmente uma análise das publicações sobre o tema, considerando os documentos por ano, países de origem das publicações, área temática e tipo de publicação.

Em seguida, foram avaliados apenas os artigos publicados no ano de 2023, em língua inglesa, que investigaram a administração de probióticos, isoladamente ou em consórcio, em parâmetros relacionados à doença de Parkinson.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A pesquisa com as palavras-chave “probiotic” e “Parkinson” retornou 546 publicações, sendo a primeira em 2004. As publicações dentro desses parâmetros apresentaram um aumento progressivo ao longo do período, com maiores quantidades em 2022 e 2023 (134 e 129, respectivamente). O aumento nas publicações indica que o uso de probióticos em doenças neurodegenerativas é promissor como estratégia de tratamento.

Os Estados Unidos lideram em quantidade de publicações, com 119 artigos, seguidos pela China com 107 e Índia com 64. Do total de publicações, 53,3% são revisões, 31,7% são artigos de resultados e 4,9% são capítulos de livros.

A maioria das publicações está em revistas de medicina (278 publicações), seguidas por neurociências (172 publicações) e bioquímica, genética e biologia molecular (150 publicações).

No ano de 2023, foram publicados 10 artigos que avaliaram a administração de probióticos em diferentes modelos.

Sete desses artigos utilizaram modelos de ratos para avaliar parâmetros relacionados à doença de Parkinson (CHU et al., 2023; FAN et al., 2023; NÁPOLES-MEDINA et al., 2023; PARK et al., 2023; PARRA et al., 2023; SANCANDI et al., 2023; ZHOU et al., 2023). Os modelos parkinsonianos foram obtidos por a indução com as neurotoxinas 6-hidroxiopropamina ou rotenona.

Entre os estudos em modelos animais, três trabalhos avaliaram sintomas motores (CHU et al., 2023; LEE et al., 2023; PARRA et al., 2023), observando melhora com o tratamento com probióticos. Os demais avaliaram parâmetros histológicos e bioquímicos para investigar a ação neuroprotetora, sendo a redução da neuroinflamação a ação mais frequentemente relatada (CHU et al., 2023; FAN et al., 2023; LEE et al., 2023; PARRA et al., 2023; SANCANDI et al., 2023; ZHOU et al., 2023), seguida de redução de perda neuronal (CHU et al., 2023; FAN et al., 2023; LEE et al., 2023; NÁPOLES-MEDINA et al., 2023; ZHOU et al., 2023); também foi relatado um aumento na produção de ácidos graxos de cadeia curta (SANCANDI et al., 2023).

Em modelos animais, a administração de probióticos mostrou-se promissora como estratégia para mitigar danos relacionados à DP. Três trabalhos utilizaram cepas isoladas para avaliar a eficácia, sendo elas *Lactobacillus murinus* (FAN et al., 2023), *Lactobacillus plantarum* PS128 (LEE et al., 2023) e *L. plantarum* CCFM405 (Chu et al., 2023). O microrganismo probiótico mais recorrente nos estudos isolados e em misturas foi o *L. plantarum*, e apenas um trabalho utilizou cepas lisadas, ou seja, pós-bióticos (FAN et al., 2023). Os estudos que envolveram pacientes humanos (GHALANDARI et al., 2023; NÁPOLES-MEDINA et al., 2023; YANG et al., 2023) observaram melhorias no tratamento com probióticos em sintomas não motores, como constipação e depressão. No entanto, o estudo que avaliou sintomas motores não obteve resultados durante o período do estudo (GHALANDARI et al., 2023). Apenas (YANG et al., 2023) utilizou uma única cepa nos testes, enquanto os demais utilizaram um consórcio microbiano nos testes com pacientes.

4 CONCLUSÃO

A revisão das publicações sobre o uso de probióticos para mitigar as consequências deletérias da progressão da doença de Parkinson mostra que eles são promissores como terapia adjuvante, na forma de suplementação, devido à sua ação na redução de sintomas não motores em estudos com pacientes e significativa ação na redução da neuroinflamação em modelos animais. No entanto, são necessários estudos mais longos em humanos para avaliar os benefícios em sintomas motores.

REFERÊNCIAS

BRAAK, H. et al. Idiopathic Parkinson's disease: Possible routes by which vulnerable neuronal types may be subject to neuroinvasion by an unknown pathogen. *Journal of Neural Transmission*, v. 110, n. 5, p. 517–536, 2003.

CHEN, S. G. et al. Exposure to the Functional Bacterial Amyloid Protein Curli Enhances Alpha-Synuclein Aggregation in Aged Fischer 344 Rats and *Caenorhabditis elegans*. *Scientific reports*, v. 6, 6 out. 2016. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27708338/>>.

Acesso em: 7 maio. 2023.

CHU, C. et al. Lactobacillus plantarum CCFM405 against Rotenone-Induced Parkinson's Disease Mice via Regulating Gut Microbiota and Branched-Chain Amino Acids Biosynthesis. *Nutrients*, v. 15, n. 7, 2023.

FAN, H.-X. et al. Heat-killed Lactobacillus murinus confers neuroprotection against dopamine neuronal loss by targeting NLRP3 inflammasome. *Bioengineering and Translational Medicine*, v. 8, n. 2, 2023.

GHALANDARI, N. et al. Efficacy of Probiotics in Improving Motor Function and Alleviating Constipation in Parkinson's Disease: A Randomized Controlled Trial. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*, v. 22, n. 1, 2023.

INGELSSON, M. Alpha-synuclein oligomers-neurotoxic molecules in Parkinson's disease and other lewy body disorders. *Frontiers in Neuroscience*, v. 10, n. SEP, p. 1–10, 2016.

LEE, Y. Z. et al. Neuroprotective Effects of Lactobacillus plantarum PS128 in a Mouse Model of Parkinson's Disease: The Role of Gut Microbiota and MicroRNAs. *International Journal of Molecular Sciences*, v. 24, n. 7, 2023.

LEITE SILVA, A. B. R. et al. *Premotor, nonmotor and motor symptoms of Parkinson's Disease: A new clinical state of the art* *Ageing Research Reviews* Elsevier Ireland Ltd, , 1 fev. 2023. .

MELO, T. Q.; COPRAY, S. J. C. V. M.; FERRARI, M. F. R. Alpha-Synuclein Toxicity on Protein Quality Control, Mitochondria and Endoplasmic Reticulum. *Neurochemical Research*, v. 43, n. 12, p. 2212–2223, 2018.

MILLER-FLEMING, L.; GIORGINI, F.; OUTEIRO, T. F. Yeast as a model for studying human neurodegenerative disorders. *Biotechnology Journal*, v. 3, n. 3, p. 325–338, 2008.

NÁPOLES-MEDINA, A. Y. et al. Oral Administration of Lactobacillus Inhibits the Permeability of Blood-Brain and Gut Barriers in a Parkinsonism Model. *Behavioural Neurology*, v. 2023, 2023.

PARIHAR, A. et al. Alpha synuclein and parkinson's disease. *Pathology, Prevention and Therapeutics of Neurodegenerative Disease*, p. 1–14, 2018.

PARK, J. M. et al. Effect of probiotic supplementation on gastrointestinal motility, inflammation, motor, non-motor symptoms and mental health in Parkinson's disease: a meta-analysis of randomized controlled trials. *Gut Pathogens*, v. 15, n. 1, 2023.

PARRA, I. et al. Neuroprotective and Immunomodulatory Effects of Probiotics in a Rat Model of Parkinson's Disease. *Neurotoxicity Research*, v. 41, n. 2, p. 187–200, 2023.

POEWE, W. et al. Parkinson disease. *Nature Reviews Disease Primers*, v. 3, p. 1–21, 2017.

SAMPSON, T. R. et al. A gut bacterial amyloid promotes a-synuclein aggregation and motor impairment in mice. *eLife*, v. 9, 1 fev. 2020. . Acesso em: 30 abr. 2023.

SAMPSON, T. R.; MAZMANIAN, S. K. Control of brain development, function, and behavior by the microbiome. *Cell Host and Microbe*, v. 17, n. 5, p. 565–576, 2015.

SANCANDI, M. et al. Effects of a probiotic suspension Symprove™ on a rat early-stage Parkinson's disease model. *Frontiers in Aging Neuroscience*, v. 14, 2023.

WERNER, T.; HORVATH, I.; WITTUNG-STAFSHEDE, P. Crosstalk Between Alpha-Synuclein and Other Human and Non-Human Amyloidogenic Proteins: Consequences for Amyloid Formation in Parkinson's Disease. *Journal of Parkinson's disease*, v. 10, n. 3, p. 819–830, 2020. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32538869/>>. Acesso em: 7 maio. 2023.

YANG, X. et al. Effect of *Lactobacillus paracasei* strain Shirota supplementation on clinical responses and gut microbiome in Parkinson's disease. *Food and Function*, v. 14, n. 15, p. 6828–6839, 2023.

ZHOU, L. et al. Probiotic Formulation VSL#3 Interacts with Mesenchymal Stromal Cells To Protect Dopaminergic Neurons via Centrally and Peripherally Suppressing NOD-Like Receptor Protein 3 Inflammasome-Mediated Inflammation in Parkinson's Disease Mice. *Microbiology Spectrum*, v. 11, n. 2, 2023.



INVESTIGANDO O DESEMPENHO DE CURTO PRAZO DE *EQUISETUM HYEMALE* E *MISCANTHUS GIGANTEUS* EM CÉLULAS A COMBUSTÍVEL MICROBIANAS VEGETAIS (PLANT MICROBIAL FUEL CELLS)

PIETRO CICALÈ; CARLO SANTULLI; FRANCESCO NOBILI

RESUMO

Este estudo destaca a possibilidade de replicar facilmente os sistemas de célula de combustível microbiana vegetal (PMFC) e a importância de obter fontes de energia mais limpas para um futuro sustentável. Três configurações foram construídas para este estudo: uma PMFC simples com *Equisetum hyemale*, uma PMFC simples com *Miscanthus giganteus* e duas PMFCs simples com duas plantas de *Miscanthus* conectadas em série. A tensão máxima de circuito aberto (OCV) obtida neste estudo é de 615 mV, enquanto a maior densidade de potência é de 4,8 mW/m² de área catódica. Por fim, as comparações entre as duas primeiras configurações mostram que uma única planta de *Miscanthus* pode ter maior produção de biomassa do que o *Equisetum*, resultando em maior tensão e maior geração de energia. Além disso, a terceira configuração registrou um aumento na tensão alguns dias após a aplicação do biochar, obtendo os maiores valores desse estudo.

Palavras-chave: Energia Verde; Geração de Bioenergia; Bioeletricidade; Sustentabilidade; Tensão de Circuito Aberto

1 INTRODUÇÃO

A célula de combustível microbiana vegetal (PMFC) é uma tecnologia emergente que funciona transformando a energia solar aproveitada por plantas vivas em energia elétrica, por meio da oxidação de rizo-depósitos por bactérias e interações bioquímicas. A aplicação da tecnologia de PMFC para a geração de pequenas quantidades de energia elétrica está bem consolidada como um processo tecnológico (Rosenbaum et al. 2010). Conforme testado por Nitorisavut e Regmi (2017), uma vantagem adicional das PMFCs é a possibilidade de gerar um fluxo contínuo e bastante constante de energia e ser operada em qualquer local. Além disso, suas vantagens inerentes, como a utilização de recursos renováveis, a neutralidade de carbono e a capacidade de tratamento de resíduos, tornam as PMFCs uma solução atraente para enfrentar os desafios energéticos e, ao mesmo tempo, minimizar o impacto ambiental (Ahirwar et al. 2023). Outra aplicação notável dessa tecnologia vem de Kuleshova et al. (2022) e Maddalwar et al. (2023), que mostraram que as PMFCs podem gerar eletricidade a partir de resíduos ou subprodutos agrícolas, promovendo a agricultura sustentável e reduzindo a dependência de fontes externas de energia, podendo contribuir prospectivamente para as necessidades energéticas de estufas, fazendas e instalações de processamento de alimentos.

Esta pesquisa se concentra em duas espécies de plantas: *Equisetum hyemale* (Carolus Linnaeus, 1753) e *Miscanthus giganteus* (Greef e Deuter ex Hodkinson e Renvoize, 2002). O *E. hyemale* foi escolhido principalmente por causa de seu alto caráter espontâneo, adaptabilidade e alta taxa reprodutiva, que também são mostrados nesta pesquisa. Alguns estudos (Nisa, 2018; Stolzenberg Colares et al. 2021) mediram a voltagem da PMFC envolvendo *E. hyemale* associada à fitorremediação. Por outro lado, embora *Spartina anglica*,

Oryza sativa e *Glyceria maxima* sejam as espécies de plantas mais usadas em sistemas PMFC (Tetteh Kabutey et al. 2019), a *M. giganteus* foi escolhida, em primeiro lugar, porque não foi encontrada na literatura científica sobre PMFC. Em segundo lugar, essa espécie específica de *Miscanthus* foi escolhida porque despertou grande interesse nos últimos dois anos: neste estudo, *M. giganteus* demonstrou grande resistência à seca e alta taxa de reprodução. Além disso, sua capacidade de crescer em terras marginais, sua eficiência hídrica, baixa necessidade de fertilizantes, sequestro significativo de carbono e alto rendimento (Whitaker et al. 2018) levaram alguns a sugerir que ela pode ter propriedades "ideais" de cultura energética (Lewandowski et al. 2000; Anderson et al. 2011; Kowalczyk-Juśko et al. 2022).

Este estudo tem dois objetivos principais: (i) destacar a importância de soluções mais verdes e sustentáveis para uma geração de energia mais limpa; (ii) gerar bioeletricidade a partir de plantas vivas e com materiais de acesso relativamente fácil e de baixo custo, como recipientes plásticos recicláveis, feltro de carbono; (iii) aplicar biomateriais como o biochar, ou carvão vegetal, para aumentar a fertilidade do solo e, ao mesmo tempo, incrementar a produtividade de bioenergia.

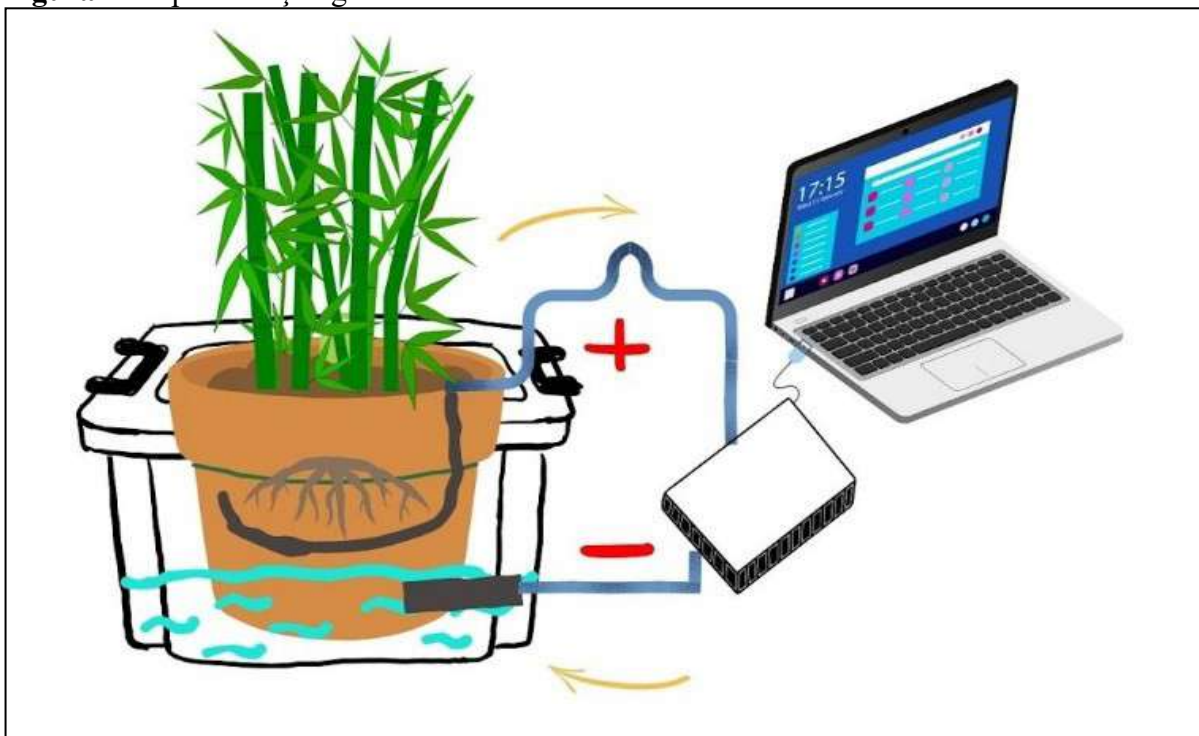
2 MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 Configuração do sistema

Três plantas foram compradas na loja do site www.vivaibambustore.com: dois indivíduos de *M. giganteus* e um indivíduo de *E. hyemale*, já crescidos e enviados para o Departamento de Geologia (UNICAM) de Camerino (MC), via Gentile III da Varano 7. O Equisetum cresceu em um vaso plástico comum (25x17x17 cm) e tinha de 90 a 100 cm de altura no momento do envio, enquanto os dois *Miscanthus* cresceram na terra e foram enviados por meio de torrões com 15 a 20 cm de solo e ambos tinham entre 20 e 30 cm de altura. O processo de preparação foi o mesmo para todas as três células: a planta foi colocada em um segundo momento em um vaso de plástico (50x35x35 cm) e foi adicionado solo orgânico comum (COMPO SANA® Terriccio Universale di Qualit , Ravenna, Itália). O pote   então colocado em uma caixa plástica (25x36x42 cm, 25 L) para a forma o e conexão das duas câmaras de eletrodos diferentes. Após as primeiras etapas, foi inserida água no espaço entre o pote e a caixa até formar uma camada de aproximadamente 15 cm.

Um par de feltros de carbono foi usado como eletrodos para cada célula. O ânodo (0,1x20x20 cm, área de superfície de 0,04 m²), colocado abaixo da superfície do solo em contato com as raízes, adquiriu um formato de cone para envolver os sistemas radiculares de cada planta. O cátodo (0,1x15x5 cm, área de superfície de 0,0075 m²), enriquecido com 0,5 mg/cm² de p  de platina, usado como catalisador para acelerar a rea o de redu o de oxig nio, é colocado no filme de água dentro do espaço entre a caixa plástica externa e o vaso plástico interno. As três configura es são: (1) um indivíduo de Equisetum, (2) um indivíduo de *Miscanthus* e (3) dois indivíduos de *Miscanthus* conectados em série. A Figura 1 apresenta uma representa o gráfica de todo o sistema usado para este estudo.

Figura 1: Representação gráfica dos sistemas utilizados. Fonte: Pietro Cicalè.



2.2 Medições de potencial elétrico

Todas as plantas foram armazenadas à temperatura ambiente (15-24 °C), durante todo o período do estudo, no CHemistry Interdisciplinary Project (CHIP), Centro de Pesquisa (Camerino), com uma entrada de água de 0,5 L a cada dois dias por um período de três meses, de 15/11/2022 a 15/02/2023, sem rega durante as férias de Natal (de 23/12/2022 a 09/01/2023). A água tinha duas funções principais: preencher o espaço entre a caixa externa e o vaso interno e ser absorvida pelas raízes das plantas. Apesar de não terem sido regadas durante as férias de Natal, as plantas não apresentaram nenhum sinal de seca e puderam continuar funcionando na PMFC.

Neste estudo, a tensão de circuito aberto (OCV), a intensidade da corrente (I) e a potência (P) de cada PMFC foram medidas usando um galvanostato potenciostato (Modelo SP-150, BioLogic, França) conectado a um computador que tinha instalado o software Ec-Lab para a coleta e análise de dados brutos. A curva de potência, a curva de polarização e o gráfico OCV-tempo foram construídos para cada célula instalada.

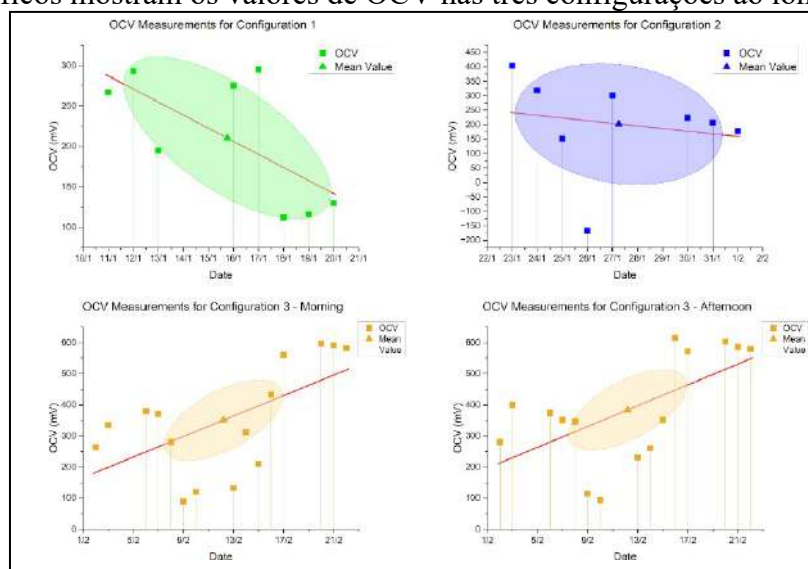
As medições foram feitas uma vez por dia, às 10h30, de acordo com o horário italiano, de 11/01 a 20/01 para a PMFC com o Equisetum e de 23/01 a 01/02 para a segunda configuração, enquanto para a terceira configuração foram feitas duas vezes por dia, de 02/02 a 22/02, às 10h30 e às 16h30, respectivamente.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Este estudo relata a maior potência de saída na segunda configuração, com um valor de 4,8 mW/m² de área catódica. O valor mais baixo, em contraste, foi encontrado na primeira configuração, com um valor de 0,4 mW/m². No entanto, a potência sobre a área da superfície é muito baixa quando comparada a outras: por exemplo, Timmers et al. (2010) registraram até 100 mW/m² de área geométrica do ânodo.

Os gráficos que relatam o desempenho da PMFC são mostrados nos gráficos da Figura 2.

Figura 2: Os gráficos mostram os valores de OCV nas três configurações ao longo do tempo.



Fonte: Pietro Cicalè.

O primeiro gráfico, em alto à esquerda, representa a PMFC com *E. hyemale* que mostra valores de OCV relativamente mais baixos em comparação com as demais, variando de 112 mV a 293 mV, com um valor médio de tensão de aproximadamente 210 mV. O segundo gráfico, em alto à direita, representa a PMFC com *M. giganteus* e exibe valores mais altos, variando de -167 mV a 405 mV, com uma média de 223 mV. O valor negativo se deve ao afundamento do cátodo na água, o que causa a inversão dos processos eletroquímicos, e é considerado inválido. As medições de potencial elétrico na terceira configuração demonstram padrões distintos ao longo do tempo: as medições da manhã mostram um potencial elétrico que varia de 90 mV a 597 mV, com um valor médio de aproximadamente 350 mV, enquanto durante a tarde o potencial elétrico varia de 93 mV a 615 mV, com um valor médio de 430 mV. É mais provável que essa mudança de valores baixos para altos se deva à adição de 2,5 L de biochar ao solo dos dois vasos, em 02/08/2023. Seus efeitos sobre a atividade microbiana da rizosfera (Feng et al., 2012) são visíveis nas últimas medições, quase 7 dias após sua aplicação, nos dois gráficos de manhã e de tarde.

Resumindo, na PMFC única o Equisetum apresentou uma saída relativamente baixa, com um valor máximo de OCV de 293 mV, enquanto o Miscanthus apresentou melhores resultados, com um pico de 405 mV. Em segundo lugar, a conexão de duas PMFCs conectadas em série afetou positivamente a tensão de saída. É interessante notar que, após 7 dias da aplicação do biochar, foi atingido um valor máximo de OCV de 615 mV, que se estabilizou em torno de 590 mV nas últimas 8 medições, enquanto que antes da adição do biochar ele estava oscilando entre 300 mV e 350 mV.

4 CONCLUSÃO

Os resultados da pesquisa permitiram comparar o potencial elétrico nos diferentes sistemas de PMFC. Em primeiro lugar, as medições de potencial elétrico da PMFC de *E. hyemale* e da PMFC de *M. giganteus* apresentam flutuações na OCV ao longo do tempo, sugerindo a ocorrência de processos dinâmicos nos sistemas, como a alteração do teor de água e da distância entre os eletrodos.

As espécies de plantas selecionadas para este estudo apresentaram resultados eletroquímicos significativos em uma configuração muito simples, embora a potência de saída por unidade de área seja muito baixa. Outras investigações precisam considerar os aprimoramentos do sistema e os materiais escolhidos: quanto maior o número de plantas

conectadas em série, maior a produção de voltagem. Por fim, a importância da geração de bioeletricidade e a aplicação de materiais ecologicamente corretos podem melhorar a sustentabilidade geral e o desempenho de projetos futuros com aplicações em escala industrial.

REFERÊNCIAS

AHIRWAR, A.; DAS, S.; YANG, Y. H.; BHATIA, S. K.; VINAYAK, V.; GHANGREKAR, M. M. Photosynthetic microbial fuel cell for bioenergy and valuable production: A review of circular bio-economy approach. *AlgalRes*, 102973, 2023. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2023.102973>.

ANDERSON, E.; ARUNDALE, R.; MAUGHAN, M.; OLADEINDE, A.; WYCISLO, A.; VOIGT, T. Growth and agronomy of *Miscanthus x giganteus* for biomass production. *Biofuels*, 2(1), 71-87, 2011.

FENG, Y.; XU, Y.; YU, Y.; XIE, Z.; LIN, X. Mechanisms of biochar decreasing methane emission from Chinese paddy soils. In: *Soil Biology and Biochemistry*, 46, 80-88, 2012. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2011.11.016>.

GREEF, J. M.; DEUTER, M. Syntaxonomy of *Miscanthus x giganteus* Greef et Deu. *Angewandte Botanik*, 67, 87-90, 1993.

KOWALCZYK-JUŚKO, A.; MAZUR, A.; POCHWATKA, P.; JANCZAK, D.; DACH, J. Evaluation of the Effects of Using the Giant *Miscanthus x giganteus* Biomass in Various Energy Conversion Processes. *Energies*, 15(10), 3486, 2022.

KULESHOVA, T.; RAO, A.; BHADRA, S.; GARLAPATI, V. K.; SHARMA, S.; KAUSHIK, A.; GOSWAMI, P.; SREEKIRSHNAN, T. R.; SEVDA, S. Plant microbial fuel cells as an innovative, versatile agro-technology for green energy generation combined with wastewater treatment and food production. *Biomass and Bioenergy*, 167, 106629, 2022. <https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2022.106629>.

LEWANDOWSKI, I.; CLIFTON-BROWN, J. C.; SCURLOCK, J. M. O.; HUISMAN, W. *Miscanthus*: European experience with a novel energy crop. *Biomass and Bioenergy*, 19(4), 209-227, 2000.

MADDALWAR, S.; KUMAR NAYAK, K.; SINGH, L. Evaluation of power generation in plant microbial fuel cell using vegetable plants. *Bioresource Technology Reports*, 22, 101447, 2023. <https://doi.org/10.1016/j.biteb.2023.101447>.

NITISORAVUT, R.; REGMI, R. Plant microbial fuel cells: A promising biosystems engineering. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 76, 81-89, 2017. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2017.03.064>.

NISA, Khoirun. Pengolahan Air Limbah dan Produksi Biolistrik pada Lahan Basah dengan Metode Plant Microbial Fuel Cell (PMFC) pada Berbagai Tanaman. 2018. Sarjana thesis - Universitas Brawijaya, 2018.

ROSENBAUM, M.; HE, Z.; ANGENENT, L. T. Light Energy to Bioelectricity: Photosynthetic Microbial Fuel Cells. *Current Opinion in Biotechnology*, 21(3), 259-264, 2010.

<https://doi.org/10.1016/j.copbio.2010.03.010>.

STOLZENBERG COLARES, G.; DELL'OSBEL, N.; BARBOSA, C. V.; LUTTERBECK, C.; OLIVEIRA, G. A.; RODRIGUES, L. R.; BERGMANN, C. P.; RODRIGUEZ LOPEZ, D.; LAWISCH RODRIGUEZ, A.; VYMAZAL, J.; MACHADO, E. L. Floating treatment wetlands integrated with microbial fuel cell for the treatment of urban wastewaters and bioenergy generation. *Science of The Total Environment*, Volume 766, 142474, 2021.

<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.142474>.

TETTEH KABUTEY, F.; ZHAO, Q.; WEI, L.; DING, J.; ANTWI, P.; QUASHIE, F. K.; WANG, W. An Overview of Plant Microbial Fuel Cells (PMFCs): Configurations and Applications. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, Volume 110, 402-414, 2019.

<https://doi.org/10.1016/j.rser.2019.05.016>.

TIMMERS, R. A.; STRIK, D. P. B. T. B.; HAMELERS, H. V. M. et al. Long-term Performance of a Plant Microbial Fuel Cell with *Spartina anglica*. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 86, 973–981, 2010. <https://doi.org/10.1007/s00253-010-2440-7>.

WHITAKER, J.; FIELD, J. L.; BERNACCHI, C. J.; CERRI, C. E. P.; CEULEMANS, R.; DAVIES, C. A.; DE LUCIA, E. H.; DONNISON, I. S.; MCCALMONT, J. P.; PAUSTIAN, K.; ROWE, R. L.; SMITH, P.; THORNLEY, P.; MCNAMARA, N. P. Consensus, Uncertainties and Challenges for Perennial Bioenergy Crops and Land Use. *GCB Bioenergy*, 10, 150–164, 2018. <https://doi.org/10.1111/gcbb.12488>.



ISOLAMENTO DE BACTERIÓFAGOS LÍTICOS PARA BIOCONTROLE DE XANTHOMONAS AXONOPODIS PV. PASSIFLORAE

MESSIAS ALVES DOS SANTOS; ANDRÉ RUIZ MARRA; ERICA CRISTINA SANTOS SILVA; VICTOR MANOEL BALCÃO; MARTA MARIA DUARTE CARVALHO VILA

Introdução: A mancha-bacteriana do maracujazeiro é uma doença causada pela bactéria fitopatogênica *Xanthomonas axonopodis* pv. *passiflorae* (Xap), levando a perdas econômicas que afetam o comércio de maracujá. Os tratamentos disponíveis mais comuns, envolvem a pulverização dos pomares com derivados de cobre, em especial hidróxido de cobre e oxicloreto de cobre, assim como o antibiótico kasugamicina. Em geral, o combate a esta doença é uma atividade onerosa e envolvem substâncias tóxicas para o meio ambiente. Dessa forma, deve-se buscar métodos alternativos de controle de fitobactérias, como o uso de bacteriófagos. O uso de bacteriófagos para o biocontrole de fitopatógenos bacterianos permite uma prática mais sustentável com menores impactos ao ambiente. **Objetivos:** Isolar bacteriófagos líticos para o biocontrole da bactéria do *Xanthomonas axonopodis* pv. *passiflorae* responsável pela mancha-bacteriana do maracujazeiro. **Material e Métodos:** Como bactéria hospedeira foi utilizada uma cepa da Coleção de Culturas de Fitobactérias do Instituto Biológico (IBSBF-1384). Para o isolamento dos bacteriófagos foram coletadas amostras ambientais e realizado o enriquecimento com adição de uma suspensão de Xap. Para o teste de verificação da presença de bacteriófagos, nas amostras enriquecidas, foram realizados ensaios de *spot-test*, sob tapete bacteriano da bactéria hospedeira pela técnica de *pour plate*. Por fim, realizou-se o isolamento através da técnica de “paper strip”. **Resultados e Discussão:** Houve o isolamento de um fago lítico contra Xap, o qual mostrou-se eficaz no combate a bactéria fitopatogênica Xap. **Conclusão:** Os resultados foram promissores com o isolamento de um bacteriófago lítico eficaz para o combate da bactéria causadora da mancha do maracujazeiro. Num futuro próximo, o fago isolado poderá permitir o tratamento desta bacteriose, beneficiando os produtores de maracujá com uma tecnologia verde e amiga do meio ambiente.

Palavras-chave: Bacteriofagos, Xantomonas, Bacteriofagos liticos, Terapia fágica, Maracujazeiro.



NANOPARTÍCULAS DE ÓXIDO DE FERRO REVESTIDAS COM ALGINATO COMO POTENCIAL AGENTE DE CONTRASTE PARA IMAGEM POR RESSONÂNCIA MAGÉTICA

LUÍS FERNANDO ANDRADE DA SILVA; JOALEN PEREIRA DO MONTE; GABRIELA MARQUES DE ALBUQUERQUE; MARIA GORETI CARVALHO PEREIRA; GIOVANNIA ARAÚJO PEREIRA DE LIMA

RESUMO

As nanopartículas magnéticas podem melhorar significativamente o contraste nas imagens por ressonância magnética. Elas alteram os tempos de relaxação dos núcleos ^1H de moléculas de água presentes nos tecidos, proporcionando imagens mais nítidas e detalhadas. A utilização de polímeros naturais como o alginato de sódio, além de garantir uma maior estabilidade coloidal da suspensão, também é biocompatível e não tóxico, e assim permite o seu uso enquanto agente de contraste para imagem de ressonância magnética (IRM). Por isso, este trabalho teve como objetivo de preparar e analisar o comportamento das nanopartículas de óxido de ferro (FeNPs) com a finalidade de avaliar a sua aplicação como agente de contraste para diagnóstico por IRM. As FeNPs foram preparadas em água pelo método de co-precipitação. Posteriormente, as nanopartículas foram revestidas com diferentes concentrações de alginato de sódio (2,5; 5,0; 7,5 e 10,0 $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$), um polímero natural, de forma a tornar as FeNPs estáveis em meio aquoso e biocompatíveis. A eficiência das FeNPs (com e sem alginato) como agentes de contraste foi avaliada por medidas de relaxividade (20 MHz a 25 °C). Pelos resultados obtidos foi possível verificar o seu comportamento magnético das FeNPs sem e com adição do alginato. Verificou-se ainda que com a adição do alginato as FeNPs apresentaram uma diminuição do tempo de relaxação transversal (T_2), em comparação com as NPs sem a adição do polímero. Estes resultados podem indicar que com a incorporação do estabilizante houve alteração na mobilidade das moléculas de água, alterando por sua vez o tempo de difusão das moléculas de água próximas ao centro superparamagnético, além de aumentar a estabilidade coloidal das nanopartículas de óxido de ferro em suspensão. Assim, de acordo com os resultados obtidos, as FeNPs-alginato apresentam potencial para serem utilizadas como agentes de contraste biocompatíveis para diagnóstico por imagem.

Palavras-chave: nanopartículas magnéticas; biomateriais; relaxividade; propriedade magnética; diagnóstico por imagem.

1 INTRODUÇÃO

A nanociência é uma área da ciência que estuda a aplicação e propriedades dos sistemas em escala nanométrica, que nas últimas décadas vem tendo notoriedade e despertando cada vez mais o interesse de pesquisadores na área e trata-se do desenvolvimento de nanomateriais com propriedades específicas relacionadas a sua dimensão (ROGERS; ADAMS; PENNATHUR, 2014). Diante disto, nanopartículas têm sido sintetizadas a fim de serem aplicadas em diversas áreas, incluindo medicina para combate ao câncer (MARTINO et al., 2023), eletrônicos (IBRAHIM et al., 2023), cosméticos (MASCARENHAS-MELO et al., 2023), agricultura

(SANTÁS-MIGUEL et al., 2023), sensores (ARAÚJO et al., 2024) e entre outras. Na medicina, as nanopartículas são exploradas de diversas formas, como por exemplo na entrega de medicamentos (drug delivery), na imagem médica e em terapias direcionadas (GHITMAN et al., 2020).

Nanopartículas de óxido ferro (FeNPs), em particular, são uma categoria específica de nanopartículas que consistem em ferro na forma de partículas extremamente pequenas, que apresentam propriedades superparamagnéticas. A magnetita (Fe_3O_4) e a maghemita ($\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$) são duas formas comuns de FeNPs utilizadas em várias aplicações. Dentre suas aplicações, destacam-se no uso biomédico como agente de contraste em imagem por ressonância magnética (IRM) para visualização de órgãos e tecidos, administração de medicamentos, biossensores, e agentes terapêuticos por hipertermia (LINDENBERG; NCHIMI; TERRASCHKE, 2023).

Por sua elevada gama de possíveis aplicações, as FeNPs têm atraído muita atenção para diferentes aplicações devido às suas excelentes propriedades magnéticas, as quais são ajustáveis e que dependem de seu tamanho, composição química e arranjo estrutural (NOQTA et al., 2019). No entanto, a fim de evitar agregação, reações químicas e oxidação das nanopartículas, normalmente são utilizados materiais orgânicos ou inorgânicos para modificar sua superfície dando-lhes maior estabilidade (AL-FANDI et al., 2015). Alguns trabalhos relatam a utilização de ácido cítrico (ALZOUBI et al., 2023), alginato e quitosana como estabilizantes (CASTELLÓ et al., 2015). O alginato é um polissacarídeo muito utilizado na biomedicina por ser um polímero natural, biocompatível e não tóxico (KARIDURAGANAVAR et al., 2014).

A utilização das nanopartículas magnéticas revestidas com polímeros biocompatíveis tem sido estudada para melhorar sua compatibilidade com sistemas biológicos, e assim permitir o seu uso enquanto agente de contraste para IRM. As nanopartículas (super)paramagnéticas podem diminuir o tempo de relaxação dos prótons (^1H) das moléculas de água presentes no microambiente tecidual, aumentando o contraste da imagem observável. Foi relatado que as FeNPs também apresentam a propriedade de encurtar o tempo de relaxação T_1 (longitudinal) da água. Porém, seu efeito dominante é no tempo de relaxação T_2 (transversal) (SHOKROLLAHI, 2013). Três fatores principais podem afetar T_2 : o tamanho das nanopartículas, a estrutura e a cristalinidade (ALZOUBI et al., 2023). Ainda, a eficácia de um agente de contraste (AC) é caracterizada pela relaxividade (r_1 ou r_2), que é dada em função da taxa de relaxação ($1/T_1$ ou $1/T_2$) dividida pela concentração do AC (ASLAN, 2022).

Diante disso, este trabalho teve como objetivo verificar o impacto na eficiência como AC das nanopartículas de óxido de ferro, após a funcionalização com diferentes quantidades de alginato, a fim de garantir uma maior biocompatibilidade e melhorar a estabilidade coloidal destas nanopartículas.

2 MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 Síntese das nanopartículas de óxido de ferro

Para a preparação das FeNPs foi adicionado em um béquer 50 mL de H_2O ultrapura, 25 mL de FeCl_3 (4 mol.L^{-1} , dissolvido em $\text{HCl } 2 \text{ mol.L}^{-1}$) e 25 mL de FeCl_2 ($2,7 \text{ mol.L}^{-1}$, dissolvido em $\text{HCl } 2 \text{ mol.L}^{-1}$). A mistura foi mantida sob agitação e aquecimento a $70 \text{ }^\circ\text{C}$ por 10 minutos. Em seguida foi adicionado gota a gota uma solução de NH_4OH (26% v/v) até atingir o $\text{pH} = 10$, para a formação da magnetita.

O sistema foi levado ao banho de ultrassom por 30 minutos a $50 \text{ }^\circ\text{C}$. Com o auxílio de um ímã de neodímio, as nanopartículas foram decantadas, e foram efetuadas lavagens com água ultrapura até $\text{pH} = 7$. Posteriormente, as FeNPs foram levadas para um volume final de 200 mL com água ultrapura.

2.2 Funcionalização das FeNPs com alginato

Para a adição de alginato (Alg), as FeNPs foram calculadas valores de massa correspondente a 2,5; 5,0; 7,5 e 10,0 mg.mL⁻¹ em 50 mL de água ultrapura. A quantidade de nanopartículas de ferro usada foi 420 µL da suspensão estoque realizada na primeira etapa da síntese, mantendo essa quantidade para todas as concentrações de alginato, ou seja, variando apenas a concentração do polímero.

As massas necessárias de alginato foram dissolvidas em 50 mL de água ultrapura e colocadas sob agitação de 500 rpm a uma temperatura de 50 °C até a dissolver todo o alginato. Em seguida foi adicionado 420 µL da suspensão das FeNPs, mantendo a agitação e temperatura, durante 60 min. Posteriormente, após a suspensão resultante se encontrar a temperatura ambiente (~25 °C), foi realizada a decantação das FeNPs com alginato, para retirar o excesso de polímero. Para finalizar, foram realizadas 3 lavagens com água ultrapura e banhos ultrassônico de 15 min.

2.3 Medição do tempo de relaxação

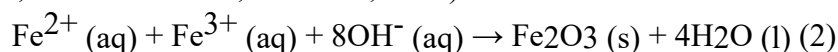
O tempo de relaxação transversal T_2 foi medido no relaxômetro Minispec mq20, da marca Bruker, a 20 MHz e 25 °C. Para determinar a relaxividade foi utilizada a equação 1 (Caravan, 2006, Caravan et al., 2009).

$$r_2 = \frac{\left(\frac{1}{T_2}\right)_p}{[NPs]} = \frac{\left(\frac{1}{T_2}\right)_{obs} - \left(\frac{1}{T_2}\right)_d}{[NPs]}, i = 2 \quad (1)$$

Sendo, r_2 a relaxividade, T_2 o tempo de relaxação transversal e $[NPs]$ a concentração das nanopartículas de óxido de ferro igual a 0,617 mM.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A síntese das nanopartículas de ferro foi verificada qualitativamente, como mostra a Figura 1, visto que a suspensão final apresentou uma coloração preta, característica do ferrofluido (óxido de ferro). A reação de formação das nanopartículas de óxido de ferro envolve várias etapas, mas simplificando a reação global pode ser descrita como demonstra a equação 2 (SERPOUSH; KIYASATFAR; OJAGHI, 2022).



Portanto, ao reagir cloreto de ferro II e cloreto de ferro III com ácido clorídrico e, em seguida, adicionar hidróxido de amônio, a magnetita é formada como parte do processo.

Figura 1 – Suspensão das nanopartículas de óxido de ferro (magnetita, Fe₃O₄) obtidas.



O alginato foi adicionado à superfície das nanopartículas através do preparo das soluções em concentrações de 2,5; 5,0; 7,5; 10,0 mg.mL⁻¹, obtendo-se suspensões coloidais com uma coloração marrom e mais homogênea (Figura 2).

Figura 2 – Nanopartículas de óxido de ferro revestida com alginato



A relaxividade das FeNPs sem revestimento e revestidas com alginato foi investigada através de medidas dos tempos de relaxação. Os resultados obtidos revelaram a diminuição do tempo de relaxação T_2 para as FeNPs-Alg quando comparadas com as FeNPs sem a adição do polímero (Tabela 1).

Tabela 1 – Valores do tempo de relaxação transversal (T_2) e relaxividade r_2 referentes às nanopartículas de óxido de ferro com diferentes concentrações de alginato

Amostra	Concentração das FeNPs (mM)	T_2 (ms)	r_2 (mM ⁻¹ .s ⁻¹)
H ₂ O		2200	-
R1 - FeNPs		138	11,0
R2 - FeNPs + 2,5 mg/mL de Alg	0,617	24,6	65,1
R3 - FeNPs + 5,0 mg/mL de Alg		22,5	71,4
R4 - FeNPs + 7,5 mg/mL de Alg		36,4	43,8
R5 - FeNPs + 10,0 mg/mL de Alg		41,8	38,0

A eficiência de um agente de contraste (AC) é medida através da relaxividade (r_i), sendo $i = 2$ neste caso, que pode ser definida como sendo a variação que ocorre na taxa de relaxação ($R_i = 1/T_i$) dos núcleos ¹H após a adição do AC, sendo influenciada pela variação

na taxa de relaxação por unidade de concentração do íon (super)paramagnético de Fe^{3+} . Em FeNPs, geralmente são utilizadas as sequências ponderadas em T_2 . Para as FeNPs-Alg verificaram-se valores de r_2 de 38 a 71,4 $\text{mM}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$, sendo que a amostra que originou um maior r_2 foi a R3 (preparada com 5,0 $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ de Alg).

Apesar de ser um sistema multifatorial e complexo, em resumo, basicamente o que acontece é que há uma dependência do valor de T_2 com o tempo de difusão das moléculas de água em torno do centro paramagnético, então, um dos parâmetros que é avaliado é o tempo de difusão que por sua vez vai depender da mobilidade das moléculas de água à volta do íon superparamagnético. Ou seja, à medida que se adicionou o polímero (alginate), há uma alteração no tempo de difusão das moléculas de água próxima ao centro superparamagnético, resultante da alteração da mobilidade dessas H_2O circundantes. Isso faz com que haja uma diminuição efetiva do tempo de relaxação transversal, que por sua vez aumenta a relaxividade, sendo que neste caso o sistema R3 (FeNPs + 5,0 mg/mL de Alg) apresentou um melhor valor de relaxividade (r_2).

4 CONCLUSÃO

Pode-se concluir que este trabalho teve êxito no que diz respeito ao revestimento das nanopartículas de óxido de ferro, o qual foi verificado a partir da variação dos valores dos tempos de relaxação T_2 medidos, consequentemente melhorando a relaxividade (r_2). Também foi possível fazer uma avaliação qualitativa da homogeneidade e estabilidade das nanopartículas após a adição do polímero, indicando o potencial das FeNPs-Alg como agentes de contraste para IRM mais biocompatíveis.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem o auxílio financeiro do CNPq (Universal/CNPq-2021, 409319/2021-0), da FACEPE (APQ-1351-1.06/22, IBPG-1528- 3.00/21), e do apoio ao CESAM pelo FCT/MCTES (UIDP/50017/2020+UIDB/50017/2020+LA/P/0094/2020). Os autores agradecem também o apoio da Central Analítica do DQF-UFPE.

REFERÊNCIAS

AL-FANDI, M. et al. A prototype ultraviolet light sensor based on ZnO nanoparticles/graphene oxide nanocomposite using low temperature hydrothermal method. IOP Conference Series: **Materials Science and Engineering**. Anais...Institute of Physics Publishing, 12 out. 2015.

ALZOUBI, F. et al. Exploring the impact of pH on the properties of citric acid-coated iron oxide nanoparticles as high-performance T_2 contrast agent for MRI applications. **Results in Engineering**, v. 18, 1 jun. 2023.

ARAÚJO, M. R. et al. Optimization of nanoparticles for application in optical sensors. **Sensors and Actuators A: Physical**, v. 366, 1 fev. 2024.

ASLAN, T. N. Relaxivity properties of magnetoferritin: The iron loading effect. **Journal of Bioscience and Bioengineering**, v. 133, n. 5, p. 474–480, 1 maio 2022.

CASTELLÓ, J. et al. Chitosan (or alginate)-coated iron oxide nanoparticles: A comparative study. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v. 468, p. 151–158, 5 mar. 2015.

GHITMAN, J. et al. **Review of hybrid PLGA nanoparticles: Future of smart drug delivery and theranostics medicine.** *Materials and Design*. Elsevier Ltd, 1 ago. 2020.

IBRAHIM, N. et al. Stability and conductivity of water-based colloidal silver nanoparticles conductive inks for sustainable printed electronics. *Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers*, v. 153, 1 dez. 2023.

KARIDURAGANAVAR, Mahadevappa Y.; KITTUR, Arjumand A.; KAMBLE, Ravindra R. Síntese e processamento de polímeros. In: **Polímeros biomédicos naturais e sintéticos.** Elsevier, 2014. pág. 1-31.

LINDENBERG, P.; NCHIMI, K.; TERRASCHKE, H. Synthesis, functionalisation, and applications of iron oxide magnetic nanoparticles. Em: **Nanostructured Materials: Applications, Synthesis and In-Situ Characterization.** [s.l.] De Gruyter, 2023. p. 47–71.

MARTINO, E. et al. **MicroRNA-nanoparticles against cancer: Opportunities and challenges for personalized medicine.** *Molecular Therapy Nucleic Acids*. Cell Press, 13 jun. 2023.

MASCARENHAS-MELO, F. et al. **Inorganic nanoparticles in dermatopharmaceutical and cosmetic products: Properties, formulation development, toxicity, and regulatory issues.** *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*. Elsevier B.V., 1 nov. 2023.

MONTE, J. P. et al. Recent advances in hydroxyapatite/polymer/silver nanoparticles scaffolds with antimicrobial activity for bone regeneration. *Materials Letters*, v. 338, 1 maio 2023.

NOQTA, O. A. et al. **Recent Advances in Iron Oxide Nanoparticles (IONPs): Synthesis and Surface Modification for Biomedical Applications.** *Journal of Superconductivity and Novel Magnetism*. Springer New York LLC, 15 abr. 2019.

P. Caravan. Strategies for increasing the sensitivity of gadolinium based MRI contrast agents, *Chemical Society Reviews* (2006).

P. Caravan, C. T. Farrar, L. Frullano, R. Uppal. Influence of molecular parameters and increasing magnetic field strength on relaxivity of gadolinium- and manganese-based T1 contrast agents, *Contrast Media & Molecular Imaging* (2009).

ROGERS, B.; ADAMS, J.; PENNATHUR, S. *Nanotechnology*. [s.l.] CRC Press, 2014.

SANTÁS-MIGUEL, V. et al. **Use of metal nanoparticles in agriculture. A review on the effects on plant germination.** *Environmental Pollution*. Elsevier Ltd, 1 out. 2023.

SERPOUSH, M.; KIYASATFAR, M.; OJAGHI, J. Impact of Fe₃O₄ nanoparticles on wheat and barley seeds germination and early growth. *Materials Today: Proceedings*, v. 65, p. 2915–2919, 1 jan. 2022.

SHOKROLLAHI, H. **Contrast agents for MRI.** *Materials Science and Engineering C*. Elsevier Ltd, 1 dez. 2013.



NAVEGANDO PELOS DILEMAS ÉTICOS: UMA EXPLORAÇÃO DOS PRINCÍPIOS BIOÉTICOS NA ERA DA BIOTECNOLOGIA COM "LILO & STITCH"

REBECA CÉSAR SANTOS GONÇALVES

RESUMO

Este artigo oferece uma análise aprofundada da interseção entre Bioética e Biotecnologia, enfatizando a necessidade de uma formação interdisciplinar que capacite profissionais a examinar as implicações éticas e jurídicas das aplicações científicas e tecnológicas na saúde humana. A Bioética, como disciplina abrangente, demanda a integração de elementos filosóficos e científicos para que os profissionais possam enfrentar as complexidades desse domínio de maneira reflexiva. Uma analogia instigante pode ser traçada com o filme "Lilo & Stitch", onde o personagem "Stitch" emerge como uma representação vívida das preocupações éticas relacionadas à manipulação genética. Em paralelo à Biotecnologia real, os experimentos intergalácticos no filme lançam luz sobre dilemas éticos, especialmente na criação ilegal e destrutiva de "Stitch" pelo Doutor "Jumba Jookiba". A subsequente punição do doutor por um "comitê intergaláctico", que pode ser equiparado a um "comitê bioético", insinua a existência de normas regulatórias, mesmo em um cenário fictício. Retornando à análise Bioética, a revisão sistemática destacada no artigo revela a evolução dos desafios éticos na Biotecnologia. Inicialmente centrada nos riscos da modificação genética, a abordagem ética evolui para uma regulação mais refinada da engenharia genética, incorporando considerações sociais e ecológicas. A Bioética surge como uma mediadora essencial, facilitando consensos sobre questões como equidade, autonomia e uma avaliação equilibrada de riscos e benefícios. Dessa forma, a narrativa envolvente de "Lilo & Stitch" não apenas reflete preocupações éticas reais na manipulação genética, mas também se conecta organicamente à evolução regulatória discutida na análise Bioética. Ambas convergem para enfatizar a importância crucial da ética na condução responsável da Biotecnologia.

Palavras-chave: equidade; desafios; regulamentação; inovações

1 INTRODUÇÃO

A Bioética, como disciplina multifacetada, concentra-se na análise das implicações éticas, Bioéticas e jurídicas decorrentes das aplicações científicas e tecnológicas na saúde humana. Essa área interdisciplinar demanda uma formação que una elementos filosóficos e científicos, capacitando profissionais para análises e reflexões aprofundadas diante das complexas intervenções nesse domínio (SOLANA, 2021). Seu escopo abrange uma análise ética de questões relacionadas à vida, saúde, medicina e biologia, com foco especial nas intervenções tecnológicas e científicas na saúde humana e no meio ambiente. A Bioética visa avaliar as implicações éticas, sociais e filosóficas das práticas científicas, com ênfase na Biotecnologia e manipulação genética (FURTADO, 2019). Por outro lado, a Biotecnologia destaca-se como uma das tecnologias emergentes e convergentes, integrando nanotecnologia, informática e ciências cognitivas. Ao utilizar organismos vivos ou suas partes, a Biotecnologia almeja produzir diversos bens e serviços, desde medicamentos até alimentos e produtos

químicos. Apesar de oferecer um vasto potencial para melhorar a qualidade de vida, é imperativo reconhecer e abordar reflexiva e criteriosamente os desafios bioéticos associados a essa tecnologia (SOLANA, 2021). Esta área engloba um conjunto de técnicas que envolvem a manipulação de organismos vivos ou de suas partes, visando a produção de bens e serviços e a realização de intervenções na saúde humana. Configura-se como um instrumento potencial para a formação humana, instigando reflexões éticas e filosóficas sobre seu uso. Isso é particularmente evidente no contexto do aprimoramento genético, suscitando questões significativas sobre a compreensão da natureza humana e a preservação da autonomia individual (FURTADO, 2019). A Biotecnologia, impulsionada por avanços nas áreas de genômica, terapia gênica, edição de genes e outras disciplinas correlatas, promete transformações profundas na sociedade. No entanto, tais avanços suscitam questões éticas complexas que transcendem os laboratórios de pesquisa e permeiam as esferas da saúde, agricultura e meio ambiente.

Em meio a esse cenário, a necessidade de uma revisão sistemática se apresenta como um instrumento indispensável para mapear, sintetizar e analisar criticamente as evidências existentes. Este artigo pretende abordar lacunas na compreensão atual, oferecendo uma visão consolidada das perspectivas éticas na aplicação da Biotecnologia.

Um dos mecanismos de análise dessas perspectivas é o filme "Lilo & Stitch", uma animação da Disney lançada em 2002, a qual tem sua história em torno de Lilo, uma garota havaiana, e Stitch, uma criatura azul geneticamente modificada para ser destrutiva. O enredo se desenrola quando Lilo adota Stitch, acreditando ser um inocente "cão" de estimação.

Por fim, a intersecção entre Biotecnologia e Bioética oferece um campo de estudo diferenciado através da análise por meio da animação da Disney "Lilo & Stitch", em que pode-se identificar paralelos intrigantes com dilemas éticos contemporâneos, oferecendo uma perspectiva única que enriquece a discussão sobre os limites e responsabilidades associados aos avanços biotecnológicos. Nesta exploração, o presente trabalho busca traçar conexões entre os princípios fundamentais da Bioética e as situações apresentadas no filme, destacando como essa abordagem não convencional pode lançar luz sobre desafios éticos cruciais enfrentados pela sociedade na era da Biotecnologia.

2 MATERIAIS E MÉTODOS

A abordagem metodológica empregada nesta revisão bibliográfica tem como propósito a exploração, análise e síntese dos principais trabalhos acadêmicos e científicos que abordam a intersecção entre Bioética e Biotecnologia. Essa estratégia é essencial para garantir a abrangência e a qualidade da revisão, proporcionando uma compreensão aprofundada do estado atual do conhecimento nesse campo dinâmico. A condução da revisão bibliográfica visou identificar estudos relevantes relacionados ao tema de Bioética em Biotecnologia, sendo utilizada a base de dados acadêmica BVS para este propósito.

Para garantir a relevância e atualidade dos materiais analisados, estabeleceu-se como critério a inclusão de estudos publicados a partir de 2017. As palavras-chave "bioethic" e "biotechnology" foram estrategicamente escolhidas para direcionar a busca, refletindo a ênfase na abordagem ética da Biotecnologia, sendo encontrados 45 artigos, dos quais foi realizado o recorte de 10 para discussão.

Além disso, para a observação e reflexão com o desenho Lilo & Stitch o pesquisador assistiu ao filme e realizou análise e associação com base nos artigos selecionados, sendo que estes foram submetidos a uma análise crítica que abrangeu a avaliação minuciosa dos métodos de pesquisa, resultados e conclusões apresentadas. Esse processo permitiu uma síntese eficaz das informações, destacando tendências, lacunas e desafios éticos na interface entre Bioética e Biotecnologia.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na seção dedicada aos "Resultados e Discussões" deste trabalho, desvela-se as nuances e reflexões que emergiram da meticolosa compilação dos estudos voltados à interseção entre Biotecnologia e Bioética. O exame profundo desses resultados oferece uma perspectiva minuciosa e crítica das complexas dinâmicas éticas e científicas que permeiam esse domínio. Ao explorar essas descobertas, não apenas é possível destacar as convergências e divergências encontradas na literatura revisada, mas também delinear implicações significativas que orientarão as futuras discussões, práticas e avanços nessas esferas interconectadas.

Nos últimos 20 anos, é perceptível uma evolução notável nos desafios éticos relacionados à pesquisa genômica e Biotecnologia. Inicialmente centrados nos riscos da modificação genética, esses desafios deram lugar a uma regulamentação mais refinada da engenharia genética, acompanhada por uma mudança para uma abordagem abrangente que considera não apenas aspectos científicos, mas também impactos sociais e ecológicos. Essa transformação reflete a crescente conscientização sobre a necessidade de abordar dimensões éticas, sociais e ambientais na pesquisa genômica e Biotecnologia. A Bioética desempenha um papel crucial como mediadora nesse cenário em constante evolução, facilitando a busca de consenso em questões como equidade, autonomia e avaliação ponderada dos riscos e benefícios. Sua reflexão proporciona uma abordagem essencial para avaliar projetos biotecnológicos, equilibrando benefícios e riscos, promovendo a equidade no acesso e estabelecendo mecanismos eficazes de participação cidadã. Os dilemas éticos enfrentados pela Bioética na Biotecnologia abrangem desde a equidade no acesso aos avanços biotecnológicos até a distinção entre o natural e o artificial, a gestão confidencial da informação genômica, a análise dos impactos sociais e ecológicos das modificações genéticas, e a promoção de um diálogo ético entre defensores e opositores da Biotecnologia. Estes desafios demandam uma abordagem reflexiva e responsável para garantir o uso ético e equitativo da Biotecnologia. (RODRÍGUEZ YUNTA, 2020).

O autor Saavedera (2018) destaca, em sua análise sobre o risco bioético associado à agricultura transgênica, a interconexão entre Bioética e Biotecnologia, com foco na introdução da tecnologia transgênica na agricultura colombiana. O texto aborda os riscos éticos vinculados a essa adoção e sublinha a necessidade de uma abordagem Bioética para avaliar os impactos sociais e ambientais decorrentes da Biotecnologia. Além disso, são exploradas implicações éticas, como a possível percepção equivocada da tecnologia, a influência política e a responsabilidade na disponibilização de produtos transgênicos para os consumidores. O autor argumenta que é imperativo considerar essas implicações éticas ao avaliar a implementação da tecnologia transgênica na agricultura colombiana. O texto ressalta a importância de uma perspectiva Bioética ao avaliar os efeitos da Biotecnologia na sociedade e no meio ambiente.

Já em CONTI e SOUZA (2021) examina a interconexão entre Bioética e Biotecnologia, sublinhando o avanço técnico-científico que ampliou a capacidade da medicina de intervir no corpo humano. Esse progresso trouxe à tona finalidades além do escopo terapêutico, gerando questionamentos éticos acerca dos limites da aplicação dessas Biotecnologias. O autor ressalta que a revolução biotecnológica tem como foco a remodelagem do ser humano, suscitando incertezas acerca de suas origens individuais e coletivas, bem como sobre os impactos do conhecimento científico e das biotécnicas. No contexto delineado, a Bioética é apresentada como um componente essencial para a resolução de conflitos emergentes. O artigo busca enriquecer a compreensão desse campo, oferecendo uma análise histórica da Bioética e explorando paradigmas teóricos, incluindo o principialismo da ética biomédica, que se revela relevante para a abordagem ética das questões vinculadas à Biotecnologia.

O artigo de Boarini, Alonzo Matamoros e Marcia (2019) destaca os desafios éticos decorrentes da interseção entre Bioética e Biotecnologia, abordando questões complexas relacionadas à manipulação genética, engenharia genética, clonagem, terapia genética, células-

tronco e outros avanços. Privacidade genética, justiça social, segurança alimentar, responsabilidade para com as gerações futuras e obtenção de consentimento informado são aspectos cruciais discutidos. A análise enfatiza a necessidade de uma abordagem ética abrangente que considere perspectivas científicas, sociais, legais e filosóficas diante dos dilemas éticos na interseção da Bioética e Biotecnologia.

LA BARREDA (2020) aborda as aplicações e implicações Bioéticas da transgênese e edição genética, especialmente em contextos agrícolas, como melhorias nas características de cultivos, produção industrial e descontaminação de solos. O método CRISPR-Cas9 desempenha um papel central na discussão, levantando preocupações persistentes e desconfiança, principalmente no âmbito da agricultura geneticamente modificada. Além disso, há apreensão quanto à percepção equivocada da edição genética como uma forma de mutagênese, gerando incertezas sobre seus efeitos. No que diz respeito à Bioética, o autor explora as preocupações éticas associadas à transgênese e à técnica CRISPR-Cas9, destacando as dúvidas persistentes e a desconfiança, especialmente em relação à agricultura geneticamente modificada. A preocupação com a interpretação equivocada da edição genética como um método de mutagênese é também enfatizada, ressaltando as incertezas potenciais sobre seus efeitos. Essas considerações sublinham a importância de abordar não apenas os aspectos científicos, mas também os éticos e sociais da edição genética, promovendo uma análise mais realista dos riscos e benefícios associados.

De acordo com SANTOS (2022) a interação entre Biotecnologia e Bioética é discutida enfatizando a necessidade de uma reflexão ética diante das inovações tecnológicas emergentes. Destaca-se que as novas tecnologias, especialmente as Biotecnologias, demandam uma reflexão Bioética essencial, tanto para os envolvidos diretamente quanto para a sociedade em geral. Além disso, o texto destaca que a pandemia de Covid-19 evidenciou o aumento do uso da tecnologia, exemplificado pelo rastreamento de contágios, isolamento social, mapeamento da doença e expansão da telemedicina, ressaltando a relevância da tecnologia de ponta nos laboratórios para o desenvolvimento de vacinas. O texto identifica diversos dilemas bioéticos na Biotecnologia, abrangendo áreas como engenharia genética (edição genética, clonagem, terapia gênica e modificações genéticas em seres humanos), reprodução assistida, tecnologias médicas avançadas (transplantes de órgãos, uso de próteses avançadas, avanços em cirurgias reconstrutivas), Biotecnologia e meio ambiente (modificação genética de plantas e animais, impacto ambiental de organismos geneticamente modificados, conservação da biodiversidade) e inteligência artificial e robótica (uso de inteligência artificial em medicina, cuidados de saúde e tomada de decisões autônomas por máquinas). Esses exemplos ilustram a diversidade de desafios éticos na Biotecnologia, indicando que a evolução tecnológica contínua apresentará novos dilemas que demandarão reflexão e consideração cuidadosa.

Em Furtado (2019) a Bioética é abordada de maneira abrangente, explorando diversos aspectos da Biotecnologia, com foco especial na edição genética humana. O texto examina questões éticas cruciais, destacando a preocupação com a alteração da linhagem germinativa, capaz de impactar futuras gerações sem consentimento, e a possibilidade de criar "bebês projetados" com base em critérios específicos de beleza, inteligência ou habilidade. Além disso, são discutidas as implicações de justiça relacionadas à edição genética, evidenciando como essa tecnologia pode aprofundar desigualdades sociais e econômicas. O texto também aborda questões relacionadas à segurança da edição genética, levantando preocupações sobre os potenciais efeitos a longo prazo e possíveis consequências não previstas. Em paralelo, são exploradas questões de governança, ressaltando a necessidade de regulamentação internacional para assegurar o uso ético e responsável dessa tecnologia em um cenário globalizado, considerando as variações nas políticas e regulamentações nacionais. Esses dilemas bioéticos emergentes revelam a complexidade e a amplitude das considerações éticas envolvidas na edição genética humana, destacando a importância de uma abordagem reflexiva e cuidadosa

para garantir um desenvolvimento tecnológico alinhado com valores éticos e princípios de justiça.

Ademais, pode-se destacar cinco dilemas bioéticos essenciais relacionados à Biotecnologia agrícola, abordando questões cruciais que exigem atenção e soluções éticas. A proteção da propriedade intelectual, centrada em grandes corporações, pode prejudicar a disponibilidade de tecnologias para comunidades desfavorecidas. A avaliação de riscos e benefícios na produção agrícola com novas tecnologias requer uma ponderação cuidadosa, considerando interesses ao longo das cadeias de produção. Aspectos éticos e socioculturais são fundamentais para garantir acessibilidade, preservar a biodiversidade e obter consentimento informado. Soluções éticas devem ser culturalmente relevantes, comunicadas de forma clara e envolver efetivamente as partes interessadas na tomada de decisões éticas. O artigo destaca a urgência da educação em Bioética para promover responsabilidade ética na interseção entre Biotecnologia e agricultura (HARFOUCHE et al., 2021)

Por conseguinte, IACOMUSSI (2021) debate a convergência entre Bioética e Biotecnologia e destaca um conjunto complexo de dilemas éticos decorrentes do progresso na área da Biotecnologia, especialmente na pesquisa biomédica. Esses dilemas abordam questões cruciais, como a salvaguarda da privacidade e confidencialidade dos dados genéticos, o uso ético das informações genéticas, a equidade no acesso às inovações tecnológicas, as ramificações éticas da manipulação genética e a necessidade de responsabilidade e supervisão ética na pesquisa biomédica que se baseia em dados genéticos e Biotecnologia. Além disso, ao considerar a regulamentação de biobancos, surgem considerações éticas específicas no contexto da pesquisa biomédica orientada por big data. Estas incluem garantir a confidencialidade dos dados, estabelecer procedimentos éticos eficazes para o consentimento informado, ponderar as implicações éticas dos usos secundários de dados e amostras, reavaliar princípios éticos tradicionais como autonomia e dignidade, lidar com potenciais conflitos entre interesses de mercado e o bem comum, e manter uma avaliação ética contínua, mesmo quando a conformidade legal é assegurada. Essas considerações éticas formam a base essencial para o desenvolvimento de regulamentações abrangentes e éticas, proporcionando uma estrutura sólida para enfrentar os desafios emergentes na pesquisa biomédica conduzida por big data, bem como na interseção crucial entre Bioética e Biotecnologia. (2021)

Já em NASCIMENTO e SIQUEIRA-BATISTA (2018) A obra "O cérebro e o robô: inteligência artificial, Biotecnologia e a nova ética" promove uma profunda exploração das implicações Bioéticas decorrentes dos avanços tecnológicos. Central à discussão está o impacto dessas inovações na vida humana e na sociedade, suscitando questionamentos éticos fundamentais sobre o uso responsável de inteligência artificial e Biotecnologia. O autor não se limita à análise do desenvolvimento de máquinas superinteligentes, mas também levanta indagações significativas sobre a possível superioridade ética dessas máquinas em relação aos seres humanos. A reflexão ética se expande à criação de inteligência artificial com emoções simuladas, provocando considerações sobre a inclusão dessas máquinas na esfera da responsabilidade moral. Outro tema abordado é o transumanismo, que destaca as implicações éticas associadas à potencial reforma da natureza humana e à crescente integração da tecnologia no corpo humano. A discussão, por fim, contempla uma avaliação crítica sobre se os avanços tecnológicos verdadeiramente beneficiam a vida humana ou se podem resultar em uma perda de significado, desencadeando uma necessária reavaliação da visão antropocêntrica. Assim, a obra oferece uma análise aprofundada dos desafios éticos complexos que emergem na interseção entre neurociência, inteligência artificial e Biotecnologia, enfatizando a urgência de um novo quadro ético para orientar essas transformações.

No que tange ao filme em questão abordam-se implicações éticas da manipulação genética, em que o personagem "Stitch" é um experimento genético de nome "experimento 626", criado pelo Doutor Jumba Jookiba. No entanto, assim como a Biotecnologia tem seus

dilemas, limites e regulamentações, os experimentos intergalácticos também possuem. Desse modo, o doutor Jookiba realizou experimentos genéticos ilegais ao criar o animal, além de criá-lo com objetivos destrutivos, recebendo punições de um “comitê intergaláctico”, que poderia se assemelhar a um “comitê bioético”.

O paralelo entre a história de "Stitch" e as questões éticas na Biotecnologia fica evidente quando se considera que o Doutor Jookiba é retratado como tendo realizado experimentos genéticos ilegais na criação do animal. Essa ilegalidade na manipulação genética ressoa com as preocupações éticas levantadas na discussão sobre a Biotecnologia, onde a implementação irresponsável de técnicas genéticas pode ter consequências éticas graves. Além disso, a criação de "Stitch" com objetivos destrutivos adiciona outra camada de complexidade ética, lembrando as preocupações relacionadas aos propósitos e potenciais impactos negativos das intervenções biotecnológicas. O fato de o Doutor Jookiba ser punido por um "comitê intergaláctico" no filme, que pode ser comparado a um "comitê bioético", sugere a existência de normas e regulamentações que visam controlar e avaliar ética e legalmente as ações na esfera da Biotecnologia, mesmo em um contexto ficcional.

4 CONCLUSÃO

Ao explorar as intrincadas relações entre Biotecnologia e Bioética, esta revisão lança luz sobre os desafios éticos que permeiam esse campo dinâmico. A implementação de regulamentações rigorosas emerge como uma necessidade crucial, fornecendo um guia normativo para orientar o desenvolvimento responsável da Biotecnologia. O diálogo aberto entre diferentes setores da sociedade se revela essencial para identificar preocupações éticas e forjar consensos, promovendo uma compreensão holística dos desafios enfrentados. A mediação Bioética desempenha um papel central na abordagem de dilemas éticos, como equidade no acesso, distinção entre natural e artificial, avaliação de riscos genéticos e impactos sociais/ecológicos. Assim como no universo fictício do filme "Lilo & Stitch", onde o experimento genético "Stitch" enfrenta dilemas éticos similares, a Bioética atua como uma ferramenta indispensável para equilibrar os avanços tecnológicos com considerações éticas. Os dilemas explorados, desde a manipulação genética até a agricultura transgênica e a segurança alimentar, sublinham a necessidade de uma abordagem ética cuidadosa. Assim como o Doutor Jumba Jookiba, criador do "experimento 626" no filme, enfrenta punições de um "comitê intergaláctico" fictício que se assemelha a um "comitê bioético", a realidade da Biotecnologia exige responsabilidade ética e normas que avaliem ética e legalmente suas ações. A educação em Bioética surge como um pilar fundamental para preparar profissionais e acadêmicos, cultivando uma cultura de responsabilidade ética e tomada de decisão informada. Este estudo não apenas contribui para a compreensão das questões éticas na interseção entre Biotecnologia e Bioética, mas também serve como um recurso crítico e atualizado. Almeja informar não apenas acadêmicos e pesquisadores, mas também profissionais atuantes nesse campo em constante evolução, estimulando futuras pesquisas e discussões éticas. A narrativa de "Lilo & Stitch" oferece uma perspectiva fictícia, porém reflexiva, que ressoa com as preocupações éticas reais na manipulação genética e experimentação, destacando a importância de considerações éticas no avanço responsável da Biotecnologia.

REFERÊNCIAS

BOARINI, S.; ALONZO MATAMOROS, V. A.; MARCIA, K. Biotecnología: Nuevos paradigmas y ruptura de pactos. **Revista de Ciencias Forenses de Honduras**, v. 5, n. 2, p. 36–45, 9 dez. 2019.

CONTI, P. H. B.; SOUZA, P. V. S. D. Bioética e seus paradigmas teóricos. **Revista Bioética**,

v. 29, n. 4, p. 716–726, dez. 2021.

FURTADO, R. N. Edição genética: riscos e benefícios da modificação do DNA humano. **Revista Bioética**, v. 27, n. 2, p. 223–233, jun. 2019.

FURTADO, R. N. Mal-estar no parque humano: da crise do humanismo à Biotecnologia. **Natureza Humana - Revista Internacional de Filosofia e Psicanálise**, v. 21, n. 1, 29 jun. 2019.

HARFOUCHE, A. L. et al. Promoting Ethically Responsible Use of Agricultural Biotechnology. **Trends in Plant Science**, v. 26, n. 6, p. 546–559, jun. 2021.

IACOMUSSI, S. Regulating Biobanks: An ethical analysis of the Spanish law and the new challenges of the big data-driven biomedical research. **Revista de Bioética y Derecho**, p. 215–233, 28 out. 2021.

LA BARREDA, J. DE LA TRANSGÉNESIS A LA EDICIÓN GÉNICA. APLICACIONES Y CONSIDERACIONES BIOÉTICAS. **Cuadernos de Bioética**, n. 31(103), 2020.

LILLO & STITCH. Direção de Dan De Blois e Chris Sanders. Buena Vista Pictures Distribuidora, 2002. Site oficial disponível em: <<http://www.disney.com/stitch>>. Acessado em 10 fev. 2024

NASCIMENTO, E. C. C.; SIQUEIRA-BATISTA, R. THE BRAIN AND THE ROBOT: BIOETHICAL IMPLICATIONS IN TRANSUMANISM. **Ciências & Cognição**, v. 23, n. 2, 31 dez. 2018.

RODRÍGUEZ YUNTA, E. Desafios éticos en investigación genómica y biotecnología. Veinte años de Acta Bioethica. **Acta bioethica**, v. 26, n. 2, p. 137–145, out. 2020.

SAAVEDRA, J. “Agricultura transgênica. Uma avaliação Bioética do caso colombiano” 18, nº 2 (2018).

SANTOS, L. Desafios bioéticos na sociedade tecnológica. **Revista Angolana de Ciências da Saúde / Angolan Journal Of Health Sciences**, v. 3, n. Edição Supl. 1, p. 29–34, 12 ago. 2022.

SOLANA, E. TRANSHUMANISMO, MEJORAMIENTO HUMANO Y DESAFÍOS BIOÉTICOS DE LAS TECNOLOGÍAS EMERGENTES PARA EL SIGLO XXI. **Cuadernos de Bioética**, n. 32(105), 2021.



O IMPACTO DAS INOVAÇÕES TECNOLÓGICAS EM BIOTECNOLOGIA: AVANÇOS, DESAFIOS E PERSPECTIVAS PARA O DESENVOLVIMENTO CIENTÍFICO E INDUSTRIAL

RICARDO FURTADO RODRIGUES

RESUMO

A biotecnologia tem desempenhado um papel cada vez mais importante no desenvolvimento científico e industrial, impulsionada por avanços tecnológicos significativos. Neste estudo, o objetivo foi investigar as principais inovações tecnológicas em biotecnologia e seu impacto em diversos campos, como saúde, agricultura, meio ambiente e indústria farmacêutica. Utilizando uma metodologia de revisão sistemática da literatura, analisou-se artigos científicos e relatórios técnicos relevantes. Os resultados revelaram avanços significativos na edição genética, com destaque para a técnica CRISPR-Cas9, que oferece novas oportunidades para a engenharia genética e o desenvolvimento de terapias genéticas personalizadas. Na indústria farmacêutica, a produção de medicamentos biotecnológicos tem sido otimizada por meio de sistemas de expressão heteróloga em células hospedeiras, permitindo a fabricação em larga escala de terapias avançadas. Na agricultura, a biotecnologia tem contribuído para o desenvolvimento de culturas geneticamente modificadas com características agrônômicas desejáveis, oferecendo soluções para desafios como a segurança alimentar e a sustentabilidade ambiental. Além disso, a biotecnologia tem sido aplicada com sucesso na remediação de ambientes contaminados, oferecendo alternativas mais sustentáveis e econômicas para a limpeza de poluentes. No entanto, desafios éticos, legais e socioeconômicos continuam a desafiar o progresso da biotecnologia, destacando a necessidade de uma abordagem cuidadosa e responsável. Em suma, este estudo destaca a importância das inovações tecnológicas em biotecnologia para o desenvolvimento científico e industrial, fornecendo *insights* valiosos para orientar futuras pesquisas e políticas na área.

Palavras-chave: biotecnologia; inovações; desenvolvimento

1 INTRODUÇÃO

Nos últimos anos, a biotecnologia emergiu como um campo científico multidisciplinar de grande relevância, impulsionado por avanços tecnológicos significativos. A convergência entre biologia, química, física e engenharia tem possibilitado o desenvolvimento de novas abordagens e ferramentas para a manipulação e utilização de organismos vivos ou de seus componentes em processos industriais, agrícolas, médicos e ambientais. Esta interseção entre biotecnologia e tecnologia tem sido fundamental para enfrentar desafios globais, como a busca por soluções sustentáveis, a melhoria da saúde humana e animal, e a segurança alimentar.

No entanto, apesar dos progressos alcançados, ainda existem importantes lacunas a serem preenchidas e desafios a serem superados. Um dos principais problemas enfrentados é a necessidade de traduzir os avanços científicos em inovações aplicáveis e acessíveis, capazes de atender às demandas da sociedade e da indústria. Este desafio é destacado por Sanchis-Gomar *et al.* (2019), que argumentam que a biotecnologia está em um estágio crucial de sua

evolução, no qual a capacidade de traduzir o conhecimento científico em produtos e serviços comercializáveis é essencial para o seu progresso contínuo.

Além disso, a rápida evolução tecnológica na área da biotecnologia também traz consigo questões éticas, legais e socioeconômicas complexas que precisam ser abordadas de maneira cuidadosa e responsável. Por exemplo, a edição genética de organismos, como a técnica CRISPR-Cas9, levanta preocupações sobre questões de segurança e regulamentação, bem como implicações éticas sobre a manipulação do genoma humano (Doudna, 2020).

Diante desse contexto, este estudo tem como objetivo investigar as principais inovações tecnológicas recentes em biotecnologia e seu impacto no desenvolvimento científico e industrial. A análise dos benefícios, desafios e perspectivas futuras relacionadas a essas inovações contribuirá para uma compreensão mais abrangente do papel da biotecnologia na sociedade contemporânea e para o direcionamento de futuras pesquisas e políticas de desenvolvimento tecnológico e científico.

2 MATERIAIS E MÉTODOS

A metodologia adotada neste estudo consistiu em uma revisão sistemática da literatura científica, abrangendo bases de dados renomadas como *PubMed*, *Web of Science* e *Scopus*. Utilizou-se termos de busca específicos relacionados à biotecnologia e inovação tecnológica para identificar artigos relevantes. Em seguida, os artigos selecionados foram analisados, levando em consideração critérios como qualidade metodológica, relevância e impacto das contribuições. A organização e síntese dos dados permitiram a identificação de padrões, tendências e lacunas no conhecimento, subsidiando a discussão dos resultados em relação ao objetivo proposto. Por fim, as conclusões e recomendações foram formuladas com base nos *insights* obtidos, visando orientar futuras pesquisas e políticas de desenvolvimento tecnológico e científico na área da biotecnologia.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A revisão sistemática da literatura revelou uma série de inovações tecnológicas recentes na área da biotecnologia, abrangendo diversos campos de aplicação, tais como saúde, agricultura, meio ambiente e indústria. Entre as principais descobertas destacam-se:

Avanços na Edição Genética: a técnica CRISPR-Cas9 tem sido amplamente explorada como uma ferramenta poderosa para editar o genoma de organismos, incluindo plantas, animais e microrganismos. Estudos como o de Doudna (2020) ressaltam a precisão e eficiência dessa técnica, oferecendo novas oportunidades para a engenharia genética e o desenvolvimento de terapias genéticas personalizadas. No entanto, as preocupações éticas e os desafios técnicos relacionados à especificidade e *off-target effects* permanecem como limitações importantes a serem superadas.

Biotecnologia Farmacêutica: avanços recentes na produção de medicamentos biotecnológicos têm revolucionado a indústria farmacêutica. A utilização de sistemas de expressão heteróloga em células hospedeiras, como bactérias e células de mamíferos, tem permitido a produção em larga escala de proteínas terapêuticas complexas, como anticorpos monoclonais e proteínas de fusão (Walsh, 2018). Isso tem contribuído para o desenvolvimento de novas terapias para uma ampla gama de doenças, incluindo câncer, doenças autoimunes e doenças genéticas raras.

Agrobiotecnologia: no campo da agricultura, avanços tecnológicos têm impulsionado a produção de culturas geneticamente modificadas com características agrônômicas desejáveis, como resistência a pragas e doenças, tolerância a estresses ambientais e maior teor de nutrientes. A utilização de técnicas como a edição genômica e a biologia sintética tem acelerado o desenvolvimento de variedades de plantas com benefícios tanto para os agricultores quanto para o meio ambiente (Li *et al.*, 2019). No entanto, questões relacionadas

à segurança alimentar, impactos ambientais e aceitação pública ainda são objeto de debate e requerem uma abordagem multidisciplinar e precaucionária.

Bioremediação Ambiental: a biotecnologia tem sido aplicada com sucesso na remediação de ambientes contaminados por poluentes orgânicos e inorgânicos. Estratégias como a biorremediação microbiana, a bioestimulação e a bioaugmentação têm demonstrado eficácia na degradação de substâncias tóxicas e na recuperação de ecossistemas afetados pela atividade humana (Pérez-Pantoja *et al.*, 2019). Essas abordagens representam uma alternativa promissora aos métodos tradicionais de remediação química, sendo mais sustentáveis e economicamente viáveis.

A análise e interpretação desses resultados destacam a importância das inovações tecnológicas em biotecnologia para o desenvolvimento científico e industrial em diversas áreas. No entanto, é crucial reconhecer que esses avanços também trazem consigo desafios e limitações que precisam ser abordados de maneira responsável e ética, com base em evidências científicas sólidas e em diálogo com a sociedade.

4 CONCLUSÃO

Os avanços tecnológicos recentes na biotecnologia têm desempenhado um papel fundamental no desenvolvimento científico e industrial, impactando áreas como saúde, agricultura, meio ambiente e indústria farmacêutica. A técnica CRISPR-Cas9 emerge como uma ferramenta poderosa para edição genética, promovendo a criação de terapias genéticas personalizadas e impulsionando a engenharia de proteínas terapêuticas complexas.

Na indústria farmacêutica, a produção de medicamentos biotecnológicos tem sido otimizada por meio de sistemas de expressão heteróloga em células hospedeiras, permitindo a fabricação em larga escala de terapias avançadas para uma variedade de doenças. Na agricultura, a biotecnologia tem contribuído para o desenvolvimento de culturas geneticamente modificadas com características agrônômicas desejáveis, oferecendo soluções para desafios como a segurança alimentar e a sustentabilidade ambiental.

Além disso, a biotecnologia tem sido aplicada com sucesso na remediação de ambientes contaminados, oferecendo alternativas mais sustentáveis e econômicas para a limpeza de poluentes. No entanto, apesar dos avanços promissores, questões éticas, legais e socioeconômicas continuam a desafiar o progresso da biotecnologia, exigindo uma abordagem multidisciplinar e precaucionária.

Posto isso, esta pesquisa demonstra a importância das inovações tecnológicas em biotecnologia para o desenvolvimento científico e industrial, destacando tanto os benefícios quanto os desafios associados a esses avanços. A compreensão desses aspectos é essencial para orientar futuras pesquisas e políticas de desenvolvimento tecnológico e científico na área da biotecnologia, visando maximizar os benefícios sociais, econômicos e ambientais.

REFERÊNCIAS

DOUDNA, J. A. (2020). The promise and challenge of therapeutic genome editing. *Nature*, 578(7794), 229-236.

SANCHIS-GOMAR, F., LUCIA, A., & PAREJA-GALEANO, H. (2019). The keys for translational success in the emerging field of exercise and the human microbiome. *Current Pharmaceutical Design*, 25(8), 888-893.

LI, T., Huang, S., & ZHAO, X. (2019). Genome editing in plants: Advancing crop transformation and overview of tools. *Nature Plants*, 5(8), 739-749.

PÉREZ-PANTOJA, D., DONOSO, R., JUNCA, H., & GONZÁLEZ, B. (2019). Advances in the biotechnological potential of inorganic pollutant bioremediation. *Current Opinion in Biotechnology*, 57, 40-46.

WALSH, G. (2018). Biopharmaceutical benchmarks 2018. *Nature Biotechnology*, 36(12), 1136-1145.



O POTENCIAL DAS CACTÁCEAS E DOS ECOCOMPÓSITOS SOB UMA PERSPECTIVA BIBLIOMÉTRICA

THÂMARA MACHADO E SILVA; EDUARDO FERNANDES BARBOSA

RESUMO

O desenvolvimento de novas tecnologias e processos tecnológicos possibilitam a utilização de diversos materiais e produtos com o propósito de reduzir o impacto ambiental, melhorar a sustentabilidade e gerar uma economia eficiente e sustentável. O termo “química verde” surge fazendo com que processos, recursos e produtos sejam aplicados em um ambiente mais limpo, saudável e desenvolvidos com alto grau de sustentabilidade. Processos biotecnológicos, quer para uso na tecnologia quer para uso na saúde humana, tem surgido com o intuito de promover melhores condições de diagnósticos e de melhorias. Nesse sentido, o Brasil destaca-se no aproveitamento de toda a sua diversidade vegetal, tendo em vista que abrange um terço da flora mundial. Os biomas Cerrado e Caatinga apresentam-se ricos em biodiversidade, ricos em espécies vegetais, muitas das quais endêmicas ao bioma, utilizadas para vários fins. Nesta temática, pesquisas e trabalhos na área de polímeros naturais estão sendo realizados para garantir a preservação ambiental e proporcionar um melhor padrão de vida à sociedade como um todo. Assim, justifica-se a preparação do presente trabalho, voltado ao levantamento de dados bibliográficos de cactáceas (com destaque para palma forrageira (*Opuntia ficus indica*) e mandacaru (*Cereus jamacaru*)) como fontes para aplicação como ecocompósitos. O custo reduzido, os métodos de desenvolvimento não abrasivos, as técnicas de não-irritação para a pele, baixo consumo de energia, menor risco para a saúde, capacidade de reciclagem e biodegradabilidade tornam estes materiais aplicáveis em diversas áreas no campo tecnológico e de maneira sustentável e, ainda, reforçam a preservação das espécies e o desenvolvimento da economia local.

Palavras-chave: Ecoeconomia; Sustentabilidade; Biotecnologia; Palma forrageira; Mandacaru

1 INTRODUÇÃO

A Caatinga é um bioma caracterizado por florestas secas, com biodiversidade adaptada a temperaturas elevadas e baixa umidade. Este bioma é encontrado exclusivamente no Brasil e compreende uma área de 826.411 km², recobrindo 11% do território nacional e abrangendo todos os estados da região Nordeste do Brasil, além de parte do norte de Minas Gerais (BARBOSA e GOMES-FILHO, 2022). Segundo Hauff (2010), a Caatinga abriga as florestas secas mais ricas do mundo com alta biodiversidade e endemismo. A diversidade botânica encontrada no Brasil favorece o uso de plantas medicinais, sendo a Caatinga o único domínio brasileiro exclusivo que contém essas plantas.

Neste cenário, espécies como a palma forrageira (*Opuntia ficus indica*) e mandacaru (*Cereus jamacaru*) merecem destaque. Atualmente, a demanda por nutrientes, componentes naturais e alimentos que melhoram a saúde está aumentando consideravelmente (ALQURASHI et al., 2022). Ambas cactáceas são bastante utilizadas na alimentação de bovinos nos longos períodos de seca que ocorrem na região devido ao seu enorme teor água; e na medicina popular,

principalmente como antibiótico, diurético, analgésico e anti-inflamatório, para tratar problemas intestinais, tosse, afecções cardíacas e nervosas, dor de dente, curar alguns tipos de úlceras e para tentar o controle de diabetes e colesterol, ações estas que são justificadas pela sua diversidade de metabólitos (SILVA et al., 2018). Os medicamentos botânicos são amplamente utilizados devido à sua eficácia confiável, efeitos colaterais reduzidos e custo econômico relativo.

Ainda que tenhamos uma vasta perspectiva para pesquisas e aplicações biotecnológicas, a Caatinga ainda sofre com a escassez de estudos etnofarmacológicos e/ou caracterização científica (MARTINS et al., 2022). Existe uma demanda cada vez maior pela utilização de compostos naturais quer na área de suplementos (farmacêuticos e alimentares), quer na aplicação destes em processos industriais, uma vez que materiais sustentáveis abrem novas tecnologias e perspectivas no campo da ciência, tendo como propriedades morfológicas e químicas sintonizáveis, abrangendo eficiência verde, seletividade, simplicidade e flexibilidade (CRUZ-RUBIO et al., 2021).

Em virtude da quantidade crescente e da complexidade de informações na área da saúde, tornou-se imprescindível o desenvolvimento de artifícios, no contexto da pesquisa cientificamente embasada, capazes de delimitar etapas metodológicas mais concisas e de propiciar, aos profissionais, melhor utilização das evidências elucidadas em inúmeros estudos (CARVALHO et al., 2018). As metodologias compreendem técnicas estatísticas básicas e avançadas (ou seja, análise de texto e de rede) que podem revelar descobertas benéficas e orientar pesquisadores e, neste ambiente, a análise bibliométrica a incorporação da aplicabilidade de resultados de estudos significativos permite a inclusão de métodos diversos.

Neste sentido, justifica-se o desenvolvimento deste trabalho com o objetivo de apresentar, através de dados cienciométricos e uma revisão descritiva de literatura, as cactáceas palmas forrageiras (*O. ficus indica*) e mandacaru (*C. jamacaru*) como fontes para aplicação como ecocompósitos.

2 MATERIAIS E MÉTODOS

Para a elaboração do presente trabalho formulou-se a seguinte questão: As cactáceas palmas forrageira (*O. ficus indica*) e mandacaru (*C. jamacaru*) podem ser fontes para utilização em biocompósitos? Para a seleção dos artigos foi utilizada a base de dados Portal Periódicos CAPES, utilizando os seguintes descritores e suas combinações nas línguas portuguesa e inglesa: “*Cereus jamacaru*” OR “*Opuntia ficus indica*”, AND “”. Os critérios de inclusão definidos para a seleção dos trabalhos foram artigos publicados em português, inglês e espanhol e artigos na íntegra que retratassem a temática, sem escala temporal.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A busca foi realizada pelo acesso on-line, totalizando 10 artigos, estando estes inseridos nas seguintes categorias da *Web of Science: Materials Science Composites* (3), *Materials Science Multidisciplinary* (2), *Polymer Science* (3), *Chemistry Inorganic Nuclear* (1), *Engineering Environmental* (1), sendo todas as publicações em inglês.

Considerando as dez publicações, o país de destaque foi a Itália, com 4 trabalhos na temática apresentada, seguidos de Argélia (2), Índia (2), África do Sul (1) e Espanha (1).

Ainda que, durante a busca, não houvesse delimitação de intervalo temporal, os 10 trabalhos foram publicados nos anos de 2013 (1), seguidos de 2019 (2), 2021 (4), 2022 (2), 2023 (1) (Tabela 1).

Os artigos descritos estão distribuídos em assuntos como Ciência de Materiais (5), Engenharia (3), Ciência de polímeros (3), Química (1) e Ciências Ambientais e Ecologia (1). Destaca-se, com este resultado, a importância do investimento em estudos nesta área, utilizando-se da biodiversidade disponível.

Tabela 1. Apresentação dos artigos, seus autores e ano de publicação.

Título	Autores	Ano de Publicação
Opuntia ficus indica fibers as reinforcement in PHBV biocomposites	Alane, Arezki; Zembouai, Idris; Benhamida, Aida; Zaidi, Lynda; Touati, Naima; Kaci, Mustapha	2022
Structure-property relationship of PLA-Opuntia Ficus Indica biocomposites	Scaffaro, Roberto; Maio, Andrea; Gulino, Emmanuel Fortunato; Megna, Bartolomeo	2019
Thermal degradation kinetics of Opuntia Ficus Indica flour and talc- filled poly (lactic acid) hybrid biocomposites by TGA analysis	Gharsallah, A; Layachi, A; Louaer, A; Satha, H	2021
A Comparative Study Between Biocomposites Obtained with Opuntia ficus indica Cladodes and Flax Fibers	Greco, A; Gennaro, R; Timo, A; Bonfantini, F; Maffezzoli, A	2013
Green Composites Based on PLA and Agricultural or Marine Waste Prepared by FDM	Scaffaro, Roberto; Maio, Andrea; Gulino, Emmanuel Fortunato;	2021
Fabrication of a novel bioactive chitosan based biocomposite from Opuntia ficus-indica fruit gum and evaluation of anticancer activity in bone MG63 cancer and L929 normal cell lines	Jaganathan, G; Sithique, MA	2023
Valorization of biowaste derived nanophase yttrium substituted hydroxyapatite/citrate cellulose/ opuntia mucilage biocomposite: A template assisted synthesis for potential biomedical applications	Sridevi, S; Sutha, S; Kavitha, L; Gopi, D	2021
Opuntia spp. Fibre Characterisation to Obtain Sustainable Materials in the Composites Field	Castellano, J; Marrero, MD; Ortega, Z; Romero, F; Benitez, AN; Ventura, MR	2021
Opuntia Ficus Indica based green composites for NPK fertilizer controlled release produced by compression molding and fused deposition modeling	Scaffaro, R; Citarrella, MC; Gulino, EF	2022
Alien Plants in the Eastern Cape Province in South Africa: Perceptions of Their Contributions to Livelihoods of Local Communities	Atyosi, Z; Ramarumo, LJ; Maroyi, A	2019

4 CONCLUSÃO

O trabalho desenvolvido remete a importância de se investir no desenvolvimento das espécies *O. ficus indica* e *C. Jamararu* tanto no aspecto científico e ambiental quanto tecnológico. Tal análise deve ser conduzida reconhecendo a fato de que, dada a natureza destas espécies, a análise da cadeia de valor local deve ser combinada com análise de subsistência contextualizada. Várias tentativas de pesquisa para fornecer abordagens inovadoras de “alta tecnologia” para aumentar a produção e a produtividade têm um impacto significativo. Não

obstante, os métodos tradicionais e culturais de melhorar e estabilizar rendimentos evoluíram ao longo dos anos e precisam de padronização, favorecendo estudos e ampliações da bioatividade, biodisponibilidade e toxicologia de fitoquímicos que precisam ser cuidadosamente avaliados por estudos *in vitro* e *in vivo* ampliando assim a possibilidade de utilização destas espécies em biotecnologia.

REFERÊNCIAS

ALQURASHI AS, AL MASOUDI LM, HAMDI H, ABU ZAID A. Chemical Composition and Antioxidant, Antiviral, Antifungal, Antibacterial and Anticancer Potentials of *Opuntia ficus-indica* Seed Oil. **Molecules**. Aug 25;27(17):5453. 2022

BARBOSA, TAÍSA ANDRADE, GOMES FILHO-RAIMUNDO RODRIGUES Biodiversidade e conservação da Caatinga: revisão sistemática. **Journal of Environmental Analysis and Progress** V. 07N. 04177-189; 2022.

CARVALHO, C. B. M.; EDVAN, R. L.; CARVALHO, M. L. A. M.; REIS, A. L. A.; NASCIMENTO, R. R. Uso De Cactáceas Na Alimentação Animal E Seu Armazenamento Após Colheita. **Archivos de Zootecnia**, 2018.

CRUZ-RUBIO, JOSÉ M. MONIKA MUELLER, HELMUT VIERNSTEIN, RENATE LOEPPERT, WERNER PRAZNIK, Prebiotic potential and chemical characterization of the poly and oligosaccharides present in the mucilage of *Opuntia ficus-indica* and *Opuntia joconostle*, **Food Chemistry**, Volume 362, , 130167, ISSN 0308-8146, 2021

HAUFF, S. N. Representatividade do Sistema Nacional de Conservação de Unidades de Conservação na Caatinga. PNUD, **Programa das Nações Unidas para o Desenvolvimento**, Brasília. pp.1-54. 2010.

MARTINS, A.C.S.; MEDEIROS, G.K.V.D.V.; SILVA, J.Y.P.D.; VIERA, V.B.; BARROS, P.D.S.; LIMA, M.D.S.; SILVA, M.S.D.; TAVARES, J.F.; NASCIMENTO, Y.M.D.; SILVA, E.F.D. Physical, Nutritional, and Bioactive Properties of Mandacaru Cladode Flour (*Cereus jamacaru* DC.): An Unconventional Food Plant from the Semi-Arid Brazilian Northeast. **Foods**, 11, 3814. 2022

SILVA, U. B. T.; DELGADO-JARAMILLO, M.; AGUIAR, L. M. S.; BERNARD, E. Species richness, geographic distribution, pressures, and threats to bats in the Caatinga drylands of Brazil. **Biological Conservation**, 221, 312-322. 2018



O REFLEXO DA PANDEMIA NO COMÉRCIO VIRTUAL DAS LOJAS DE INFORMÁTICA NO MUNICÍPIO DE CAPANEMA – PA

ALEXANDRE ALENCAR DE OLIVEIRA FERNANDES; GEOVANA DA COSTA DA SILVA; HEMILI LARISSA NASCIMENTO; ANA KARLLA MAGALHÃES NOGUEIRA

RESUMO

Defronte da crise de emergência sanitária causada pela pandemia de COVID-19, sucedeu-se medidas restritivas para frear a disseminação do vírus, dentre elas, o fechamento de lojas físicas consideradas como não essenciais, causando uma crise econômica severa no Brasil. Contudo, houve a adoção a uma nova modalidade de vendas, o *e-commerce* que potencializou negócios, acarretando mudanças no comportamento de empreendedores. Este trabalho teve como objetivo investigar os reflexos da pandemia de COVID-19 no comércio virtual das lojas de informática do município de Capanema, Nordeste Paraense. Para tanto, foi realizado um estudo quantitativo, através de pesquisa presencial, de modo a entendermos os aspectos que levaram as mudanças de comportamento dos proprietários das lojas de informática situadas no município de Capanema. Atestou-se que todas as lojas analisadas passaram por adversidades durante o período pandêmico, que nos aspectos gerais, a pandemia de COVID-19 afetou as vendas físicas e transformou o meio digital, fazendo crescer as compras através da internet no município. Observou-se também, que as mudanças no comportamento dos proprietários das lojas analisadas em questão da modalidade de vendas virtuais, foi devido ao fato ao impulsionamento gerado por este período atípico. Concluímos que os reflexos da pandemia no comércio virtual das lojas de informática no município de Capanema foram mínimos. E não foram feitas mudanças estruturais nas lojas pesquisadas, assim como não sofreram uma drástica diminuição em suas vendas no segmento estudado. Sabemos que, com a implantação do comércio virtual, as empresas que mais cresceram neste segmento, foram as que mais se adaptaram à nova realidade do mundo. Porém, apesar de haver um esforço na adaptabilidade das lojas de informática no município de Capanema, a questão cultural e a falta de prática, conhecimento específico e o contexto social em que a cidade se encontra, fizeram que o notório e maculado acontecimento que mudou como vemos o mundo e a nós mesmos, que foi a pandemia do COVID-19, não introduzisse no cotidiano popular capanemense, a confiança necessária para realização da compra *on-line*.

Palavras-chave: COVID-19; Lojas de informática; *E-commerce*; Modalidade de vendas; Estado do Pará.

1 INTRODUÇÃO

O comércio, sendo uma das atividades mais antigas e provecas do homem, transforma-se em meio ao desenvolvimento da informação e da tecnologia. Com o processo contínuo de inovação tecnológica e o surgimento da internet, criou-se uma gama de possibilidades no meio comercial, podendo-se dizer que os níveis de produção industrial no mundo cresceram, almejando atender demandas com níveis de exigência cada vez maior em um ambiente cada vez mais competitivo (Lima; Pinto, 2019). Neste sentido Galinari *et al.* (2015, p. 2) acrescentam que: “milênios separam o escambo do pagamento com cartões de crédito, as pequenas tendas

dos hipermercados e os produtos artesanais dos conteúdos digitais”.

O chamado *e-commerce*, traduzido como comércio eletrônico, pode ser definido como a relação de compra e venda, realizada por meios digitais (O'Brien, 2004). De acordo com Mendonça (2016, p. 2) “o *e-commerce* faz com que os consumidores façam transações eletronicamente a qualquer momento independente do dia, horário e lugar. Sua expansão exponencial acontece a cada dia desde a sua criação e futuramente pode alcançar e até mesmo ultrapassar a venda convencional”. Também, é possível caracterizar o *e-commerce* como a transformação do comércio tradicional em contato com a tecnologia no contexto tecnológico-informacional do século XXI.

Nesse contexto de crescimento do *e-commerce* no país, em dezembro de 2019, surgiu no mundo os primeiros casos de COVID-19, por meio de pessoas diagnosticadas com o vírus Sars-CoV2. A pandemia do COVID-19 foi decretada em 11 de março de 2020 pela Organização Mundial da Saúde (OMS, 2020), gerando medidas de isolamento social, visando a diminuição da proliferação do vírus. Uma dessas medidas, o *Lockdown* obrigou as pessoas a ficarem em casa, inviabilizando, em parte, o comércio físico. De acordo com Serviço Brasileiro de Apoio às Micro e Pequenas Empresas (SEBRAE, 2020) nesse período os estabelecimentos comerciais não-essenciais ficaram impedidos de funcionar, tornando o comércio eletrônico uma opção para vendas no período pandêmico. Este ano iniciou como um ano totalmente incerto para o comércio físico, sendo um período de adversidades para muitas empresas.

Contudo, além das ameaças, também devemos analisar as oportunidades do mundo contemporâneo e do atual contexto, para nos reformularmos e mudarmos de hábitos e costumes, e nos adequarmos da melhor maneira possível a situação do *Lockdown*, que é descrita como o confinamento como medida de restrição de movimento populacional para conter a proliferação do vírus. Foi em meio a este contexto que as vendas no comércio eletrônico tiveram um salto recorde, refletindo em um substancial aumento da demanda devido à pandemia (Lamonier, 2021).

As vendas *on-line* já eram uma prática antes mesmo de 2020, mas estimam que, no mesmo ano, 20,2 milhões de consumidores realizaram uma compra *on-line* pela primeira vez e 150 mil lojas começaram a vender por meio das plataformas digitais (SEBRAE, 2021). Em 2020, os consumidores também estavam priorizando a compra *on-line* de itens essenciais como as vendas de supermercados, que tiveram um aumento de 16%, e a taxa de conversão média no setor aumentaram 8,1%, além disso, todos os tipos de *delivery* tiveram uma alta taxa de procura (SEBRAE, 2020). As relações interpessoais são constantes e sofrem mudanças necessárias, e o *e-commerce* é um exemplo disso pois pretende adequar as novas tecnologias e necessidades, impulsionados pelo capitalismo global (Sobrinho, 2017).

Nesta conjuntura, percebeu-se que as lojas de informática são desafiadas a enfrentarem novos contextos, e foram capazes de utilizar novos métodos, como a implantação do *e-commerce*, que pode trazer muitos benefícios para seu desenvolvimento e permanência no mercado.

Neste contexto, parte-se do pressuposto que a pandemia de COVID-19 motivou o aumento da utilização do comércio virtual no setor de informática no município de Capanema, mais do que proporcional ao comércio físico. Assim, surge a problema de pesquisa: como a pandemia impactou no comércio virtual das lojas de informática no município de Capanema?

É importante analisar os potenciais benefícios da realização da pesquisa, tanto com relação a sua relevância científica nos contextos atuais, quanto para o estudo comercial da região capanemense, para servir como base de inspiração de futuras pesquisas englobadas a economia, juntamente com os aspectos da pandemia relacionadas ao comércio eletrônico. Nesta circunstância, o objetivo do trabalho foi analisar os impactos e a mudança de desempenho gerados pelo período pandêmico nas lojas de informática em relação as vendas virtuais no

município de Capanema, uma vez que, estas lojas tiveram que reduzir seu atendimento presencial devido ao *Lockdown* ocorrido neste período, tendo reflexos positivos ou negativos.

2 MATERIAIS E MÉTODOS

O estudo foi realizado no município de Capanema, localizado no Nordeste Paraense, onde situam-se as lojas de informática analisadas. A pesquisa utilizada para a coleta de dados foi de caráter quantitativo, sendo que para realizar o estudo, foi realizada a aplicação de questionário para a coleta de informações mais assertivas.

Para a melhor compreensão do objetivo da pesquisa, o questionário foi aplicado junto aos gerentes de cada loja de informática presente no município, totalizando a quantidade de seis lojas atuando nesse setor atualmente, dentre elas: “Megatec - Informática e Segurança Eletrônica”, “Inovadora Informática”, “Sagais Tech”, “Checkup Tecnologia”, “Softcomp: Comércio e Serviço de Informática” e “Link Informática e Papelaria”. As informações fornecidas foram sobre os resultados negativos ou positivos da Pandemia para as vendas virtuais das lojas do setor de informática.

Com o propósito de analisar os reflexos da Pandemia para as vendas, o questionário aplicado continha perguntas fechadas e abertas para o responsável de cada estabelecimento. A partir dos resultados, foram elaboradas tabelas com intuito de verificar se houve crescimento ou diminuição do comércio eletrônico após o *Lockdown* de 2020. Realizou-se ainda, a contextualização sobre a nova realidade do comércio eletrônico no município e o comportamento de cada uma dessas lojas com o surgimento de possíveis oportunidades no mercado virtual.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Com a coleta de dados foi possível adquirir informações para analisar elementos sobre os reflexos da Pandemia nos estabelecimentos de informática. Foram resguardadas as respostas individuais de cada loja contribuinte para a pesquisa, mantendo-as anônimas, sendo diferidas apenas com uma enumeração não correspondente a qualquer respectiva já citada.

Perfil geral das lojas de Informática

Após o desenvolvimento da análise de dados dos questionários aplicados, analisou-se o perfil geral das seis lojas do ramo de informática do município de Capanema. Destas lojas, 67% já está atuando no mercado a mais de 5 anos, e 33% a menos tempo. Além disso, a grande maioria, representando 83% das lojas, desenvolve suas atividades de negócio de forma virtual em conjunto com o presencial, enquanto 17% operam exclusivamente com vendas *on-line*. Ademais, apenas 17% também, não se prepararam, mesmo que minimamente, para entrar no mercado virtual. Apesar disso, todos os entrevistados utilizam das mídias digitais e o *marketplace* como ferramentas de operação para seu negócio, empregando-os para os diversos tipos de serviço, como contato com clientes, divulgação dos produtos, vendas e inclusive pagamentos.

Para tanto, ao serem questionados sobre o modo de entrega de seus produtos vendidos via *on-line*, 50% responderam ter um tipo próprio de logística para enviar seus produtos, enquanto os outros 50% responderam utilizar-se apenas da retirada na loja física de imediato.

De acordo com os dados apresentados na Tabela 1, foi averiguado que 17% das lojas de informática do município priorizam as vendas virtuais, 33% preferem apenas as vendas presenciais e 50% optam ambas as modalidades. Levando em consideração os resultados, é possível afirmar que o mercado eletrônico ainda não é totalmente prioridade para estes empreendedores.

Tabela 1 – Modalidade de venda priorizada pelas lojas de informática em período pandêmico no município de Capanema/PA.

Loja	Modalidade de venda	Justificativa da escolha da referida modalidade
Loja 1	Vendas presenciais	Preferiu não especificar
Loja 2	Ambas	Preferiu não especificar
Loja 3	Vendas presenciais	Preferiu não especificar
Loja 4	Vendas virtuais	Pela comodidade do cliente e da loja
Loja 5	Ambas	Preferiu não especificar
Loja 6	Ambas	Preferiu não especificar

Fonte: Elaborado pelos autores (2022).

Percebeu-se, que os lojistas, apesar de conhecerem o mercado eletrônico utilizando-o para suas estratégias de vendas, não o prioriza como sua modalidade venda principal, tanto que, apenas 17% afirmaram que suas vendas virtuais se sobressaem sobre suas vendas convencionais e 83% afirmaram que seu percentual de faturamento com essa modalidade de venda em relação ao seu faturamento da loja física é de 10% ou menos até no máximo de 30%. Nesse sentido, entendeu-se que, há uma necessidade de que as empresas se inserirem nesse modelo de comércio eletrônico, com a finalidade de não perder a sua competitividade de mercado em relação às outras (Silva, 2010), uma vez que se atestou que a maioria dos lojistas faz uso desta modalidade somente como um adendo a sua rotina de caixa.

Apesar disso, todos os proprietários dos estabelecimentos entrevistados revelaram acreditar que as vendas virtuais facilitam a vida do cliente devido a diversos fatores como a comodidade, facilidade e praticidade. Fazendo uma comparação com os dados observados por Biesek (2022) sobre o comportamento do consumidor no *e-commerce*, antes e durante a pandemia na região do estado do Rio Grande do Sul, percebeu-se uma semelhança entre seus resultados, onde, ressalta que a população entrevistada se sente atraída pelo comércio virtual, também pela facilidade, praticidade, preço e rapidez. Atestou-se, ainda, que 67% deles afirmaram continuar a implementar a modalidade de vendas *on-line* em seu negócio a partir de investimento em mídias digitais.

Um fato que deve ser posto em análise é o fator cultural regional que a população prefere ver aquele determinado produto fisicamente para decidir se irá comprar ou não, evidenciado no senso comum da fala de um dos gerentes entrevistados como exposto a seguir:

“As aquisições virtuais ainda é algo novo para a população capanemense, muitas pessoas gostam de ver e tocar no produto para comprar”. EVI

A aquisição de produtos via internet é uma prática nova para a população capanemense e a dúvida ou o receio para efetuar a compra, se torna um desafio para as lojas de informática, por isso, alguns empreendedores e gerentes preferem por optar por esta modalidade como um auxílio às receitas.

O reflexo da pandemia sobre as lojas de informática

Revelou-se, através das informações obtidas, o comportamento dos proprietários dos estabelecimentos diante do período pandêmico. Em que, 50% dos lojistas revelaram terem sido afetados negativamente, por serem obrigados a parar suas atividades durante o *Lockdown*, impedindo o contato com seus clientes e não podendo utilizar outros meios de comercializar seus produtos. Por outro lado, 33% foram neutros em relação ao efeito da pandemia, por possuir clientes fidelizados. E, apenas 17% afirmaram que tiveram impactos positivos por haver se beneficiados das vendas virtuais, adequando-se rápido em relação a outros lojistas.

Antes do período pandêmico, apenas 17% dos lojistas afirmaram não faziam uso da modalidade de vendas *on-line* em seu negócio, enquanto 87% deles o faziam, porém a procura por essa modalidade era considerada baixa (67%) e/ou mediana (34%). Em oposição a isso, após a diminuição de casos de COVID-19, todos responderam continuar ainda com as vendas *on-line* e que sua procura passou a ser baixa (33%), mediana (50%) e/ou alta (17%). Portanto, atestou-se que a procura por essa modalidade de venda passou a aumentar após a diminuição de casos. Pois, as restrições nas compras físicas fizeram com que as pessoas ficassem mais em casa, mas não quer dizer que não foram economicamente ativas, a tecnologia já havia mudado os hábitos de consumo, e a pandemia impulsionou este processo (Lamonier, 2021).

Com isso, atestou-se que vendas *on-line* aumentaram durante esse período, não pelo esforço demasiado dos lojistas, mas muito pela preocupação dos consumidores em não sair de suas residências, o que revelou tanto aos populares quanto aos empreendedores, os benefícios que se pode obter através do *e-commerce*.

Dessa forma, a partir das informações contidas na Tabela 2, constatou-se que todas as lojas analisadas passaram por adversidades durante o período pandêmico, e que em aspectos gerais, a pandemia de COVID-19 afetou em demasia as vendas físicas e transformou o meio digital, fazendo crescer as compras realizadas por meio da internet.

Tabela 2 – Dificuldades e desafios enfrentados pelos proprietários das lojas de informática durante a pandemia no Município de Capanema/PA.

Loja	Resposta
Loja 1	Vendas baixas e dificuldade para entrega
Loja 2	Pelo motivo de não poder abrir normalmente, e a ausência de compradores por motivo do vírus
Loja 3	Dificuldade na compra de mercadorias
Loja 4	Falta de clientes na loja física
Loja 5	Devido ao <i>Lockdown</i>
Loja 6	Preferiu não especificar

Fonte: Elaborado pelos autores (2022).

Nesse contexto, há dificuldade para o comércio eletrônico pela falta de prática da população e até mesmo das lojas, pois muitos clientes preferem ver o produto e checar se o mesmo é de sua preferência, principalmente por serem materiais eletrônicos, surge uma segurança maior para o cliente se for adquirido pessoalmente. Os lojistas por sua vez, procuram sempre atender as maiores necessidades e preferências dos clientes, utilizando todos os meios possíveis, logo, se adequando para isso. As vendas virtuais cresceram após a diminuição dos casos de COVID-19, mas segundos os dados coletados, não cresceram o suficiente para que as lojas priorizem a adequação de suas vendas para o comércio virtual.

4 CONCLUSÃO

Concluimos que os reflexos da pandemia no comercio virtual das lojas de informática no município de Capanema, foram mínimos. E não foram feitas mudanças estruturais nas lojas pesquisadas, assim como não sofreram uma drástica diminuição em suas vendas no segmento estudado.

Sabemos que, com a implantação do comércio virtual, as empresas que mais cresceram neste segmento foram as que mais se adaptaram à nova realidade do mundo. Porém, apesar de haver um esforço na adaptabilidade das lojas de informática no município de Capanema, a questão cultural e a falta de prática, conhecimento específico e o contexto social em que a cidade se encontra, fizeram que o notório e maculado acontecimento que mudou como vemos o mundo

e a nós mesmos, que foi a pandemia do COVID-19, não introduzisse no cotidiano popular capanemense, a confiança necessária para realização da compra *on-line*.

O comércio eletrônico, já popularmente conhecido como *e-commerce*, não afetou as empresas de informática de Capanema de forma drástica, o que seria uma saída para a redução das vendas, em período pandêmico. Mas foi um meio de não ficarem esquecidas, em meio ao momento incerto onde a maioria, para não dizer todos, não sabia exatamente o que fazer para manter as vendas em um nível minimamente razoável, o que não confirma nossa hipótese que a pandemia de COVID-19 possa ter aumentado a vendas eletrônicas, mais que proporcional ao comércio físico.

Sendo assim, o que provavelmente tenha sido uma questão econômica crucial em outras localidades do Brasil, ou do imenso estado do Pará, no micro realidade estudada, não houve essa mudança drástica nas vendas.

REFERÊNCIAS

BIESEK, A. K. **Comportamento do Consumidor no E-commerce: Antes e Durante a Pandemia da COVID-19**. Orientadora: Dionéia Dalcin. 2022. 77 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Administração) - Universidade Federal da Fronteira Sul, Campus Cerro Largo, Cerro Largo, 2022.

GALINARI, R. et al. Comércio eletrônico, tecnologias móveis e mídias sociais no Brasil. **BNDES Setorial**, Rio de Janeiro, n. 41, p. 135-180, mar. 2015.

LIMA, A. G.; PINTO, G. S. INDÚSTRIA 4.0: um novo paradigma para a indústria. **Revista Interface Tecnológica**, [S. l.], v. 16, n. 2, p. 299–311, 2019.

LAMONIER, G. A. **Impacto da pandemia no comércio eletrônico brasileiro**. Orientador: Eugenio de Britto Jardim. 2021. 21 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Administração) - Pontifícia Universidade Católica de Goiás, Escola de Gestão e Negócios, Goiânia, 2021.

MENDONÇA, H. G. E-Commerce. **Revista Inovação, Projetos e Tecnologias**, [S.L.], v. 4, n. 2, p. 240-251, 1 dez. 2016.

O'BRIEN, J. A. **Sistemas de Informação e As Decisões Gerenciais na Era da Internet**. 2. ed. São Paulo: Saraiva, 2004. 355 p.

Organização Mundial da Saúde. Coronavirusdisease (COVID-19). c2023.

PARÁ. Decreto nº 729/2020. **Boletim Epidemiológico**. Capanema: Governo do Trabalho, 2022.

Serviço Brasileiro de Apoio às Micro e Pequenas Empresas. Coronavírus: como a pandemia impactou as vendas on-line. como a pandemia impactou as vendas on-line. 2020.

Serviço Brasileiro de Apoio às Micro e Pequenas Empresas. O e-commerce é indispensável para o seu negócio. 2021.

SILVA, E. C. A. **O uso do comércio eletrônico no ramo de flores tropicais em Pernambuco**. Orientador: Tales Wanderley Vital. 2010. 116 f. Dissertação (Programa de Pós-

Graduação em Administração e Desenvolvimento Rural) - Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, 2010.

SOBRINHO, M. V. A. As normas do Código de Defesa do Consumidor aplicadas ao comércio eletrônico. Orientadora: Daniela Ferreira Dias Batista. 2017. 51 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Direito) - Fundação de Ensino “Eurípides Soares da Rocha”, Centro Universitário Eurípides de Marília, Marília, 2017.



OS IMPACTOS DA BIOTECNOLOGIA NA SAÚDE HUMANA, PERSPECTIVAS E INOVAÇÕES NO DESENVOLVIMENTO DA ÁREA

PEDRO TÉRCIO NÓBREGA DE FARIA; ARTHUR MEDEIROS FURTADO AMARAL;
ANA LUISA REIS FRAIHA; JOSÉ LÁZARO DA SILVA FERNANDES; PEDRO
AUGUSTO BATISTA DE ARAÚJO

RESUMO

Neste artigo, é abordado a evolução das técnicas da biotecnologia nas últimas duas décadas, enfatizando suas principais vertentes, como exemplo as terapias gênicas, imunoterapias com *CAR T CELLS* e o desenvolvimento de biofármacos como as principais inovações e realizações desta área com impacto significativo na saúde humana. A terapia gênica consiste na introdução de genes para corrigir irregularidades genéticas, usando vetores como transportadores, visando o tratamento de doenças causadas por genes danificados ou ausentes. As imunoterapias com *CAR T CELLS* conseguem explorar capacidades do sistema imunológico, especialmente das células T, para o combate contra o câncer. As células *T CAR* são geneticamente modificadas para expressar receptores quiméricos, melhorando a ativação e a sua eficácia. A aprovação da FDA para essa terapia evidencia progressos, embora desafios como reações adversas e uma atividade antitumoral moderada persistam. Os biofármacos, gerados por meio da engenharia genética, constituem uma classe revolucionária de medicamentos, cujo ponto de partida foi a produção de insulina em 1982. Esses fármacos são fundamentados em proteínas de origem humana, proporcionando uniformidade e segurança, superando os perigos associados às proteínas purificadas provenientes de amostras biológicas humanas. Foi destacado, por meio dessa revisão de literatura, utilizando dados publicados entre os anos de 2009 e 2023, a vasta gama de aplicações dessas tecnologias na medicina, incluindo o tratamento de doenças complexas como esclerose múltipla, câncer, e mal de Alzheimer. Entretanto, a baixa eficácia em doenças multifatoriais, altos custos e barreiras de aprovação são desafios que limitam sua expansão no mercado. Em conclusão, a compreensão, diagnóstico e tratamento de doenças complexas tem tido sua compreensão transformada pela biotecnologia, promovendo avanços notáveis na medicina. Apesar dos desafios, o futuro da biotecnologia na saúde humana é bem promissora, e exige inovação contínua para superar obstáculos e maximizar seu impacto na medicina e na indústria farmacêutica global.

Palavras-chave: Terapia gênica; Imunoterapias; Biofármacos.

1 INTRODUÇÃO

A evolução das técnicas de biotecnologia ao longo das últimas duas décadas aumentou a compreensão sobre os processos biológicos em nível molecular e permitiu a reprodução artificial ou modificada de processos, antes restritos a modelos naturais. As possibilidades de aplicação da biotecnologia na área da saúde são vastas, despertando interesse não apenas entre os cientistas, mas também na indústria, entre investidores privados e gestores de políticas públicas em escala global (REIS *et al*, 2009). Algumas técnicas inovadoras que estão em desenvolvimento ou em aplicação são as terapias gênicas, as imunoterapias com *CAR T*

CELLS e o desenvolvimento de biofármacos.

A terapia gênica é uma vertente significativa da biotecnologia, que envolve a introdução de genes nas células e tecidos de um indivíduo para corrigir irregularidades ocasionadas por genes danificados ou ausentes. Comumente, a substituição de um gene defeituoso ou a inserção de um gene ausente é realizada por meio de um vetor, que atua como um transportador, "infectando" as células-alvo com o gene terapêutico (REIS, 2010).

Nosso sistema imunológico possui várias células de defesa com múltiplas funções, sendo as células T uma das principais. Assim, pode ser usada como a principal célula no tratamento da imunoterapia para combater o câncer. A imunoterapia com *CAR T CELLS* visa combater o avanço da doença pela ativação do próprio sistema imunológico do paciente. A hipótese é que, com o uso de medicamentos, o organismo do paciente elimine a doença de forma mais eficiente e com menos toxicidade (OLIVEIRA, 2016, MARTHO; *et al* 2017).

Como a inovação é à base do progresso no setor de saúde, as indústrias farmacêuticas mundiais investem milhões de dólares a cada ano na pesquisa e desenvolvimento de novos medicamentos. Os biofármacos são produzidos por meio dos métodos usados na biotecnologia, com a utilização de um sistema biológico vivo. (CARREIRA *et al*, 2013). O desenvolvimento dos biofármacos permitiu encontrar opções de tratamento para algumas das doenças mais complexas e de grande incidência como a esclerose múltipla, o mal de Alzheimer, os tumores cerebrais, a leucemia linfocítica crônica, o câncer, entre muitas outras. (MADEIRA *et al*, 2013).

Diante o exposto, o objetivo deste artigo é analisar e contextualizar as principais técnicas e aplicações da biotecnologia na saúde humana, com foco nas terapias gênicas, imunoterapias utilizando *CAR T CELLS* e no desenvolvimento de biofármacos. Buscamos elucidar as contribuições dessas inovações para a compreensão e tratamento de doenças, explorando suas aplicações práticas e o impacto na medicina e na indústria farmacêutica mundial.

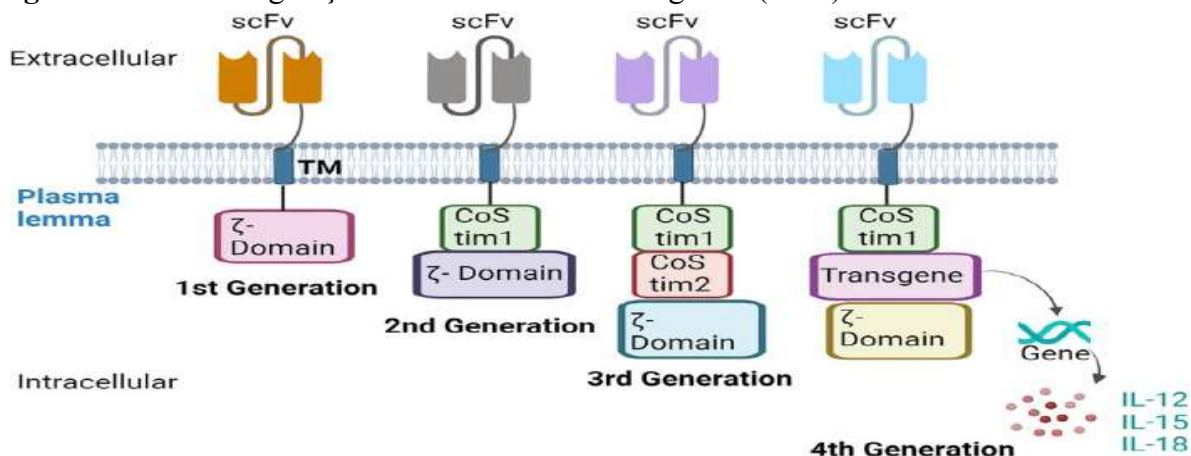
2 MATERIAIS E MÉTODOS

Foi feita uma revisão de literatura objetivando a identificação de estudos relevantes e atualizados sobre os temas em questão. A busca foi feita em bases de dados eletrônicas, como o "Google Acadêmico" e "SciELO" publicados nos períodos de 2009 a 2023.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

As células *T CAR* (receptor de antígeno quimérico) são uma forma avançada de terapia celular desenvolvida por imunologistas como Gideon Gross e Zelig Eshhar entre 1989 e 1993. Essas células são geneticamente modificadas para expressar receptores quiméricos, compostos por domínios extracelulares de ligação ao alvo derivados de anticorpos de cadeia única, domínios transmembrana, espaçadores e domínios intracelulares de sinalização como *CD3z*. As gerações de células *T CAR* evoluíram para incluir domínios coestimuladores intracelulares, melhorando a ativação e eficácia (HUANG *et al*, 2023). Como ilustrado na Figura 1, retirada do trabalho de Huang *et al*. (2023), a primeira geração dessas células apresenta seletividade citolítica. Posteriormente, a segunda geração introduziu domínios coestimuladores, enquanto a terceira combinação incluiu duas moléculas coestimuladoras. A mais recente, quarta geração conhecida como *TRUCK*, incorpora um cassete de expressão transgênica adicional para a síntese de citocinas e ativação do sistema imunológico inato.

Figura 1. Diferentes gerações de CARs Fonte: Huang *et al* (2023)

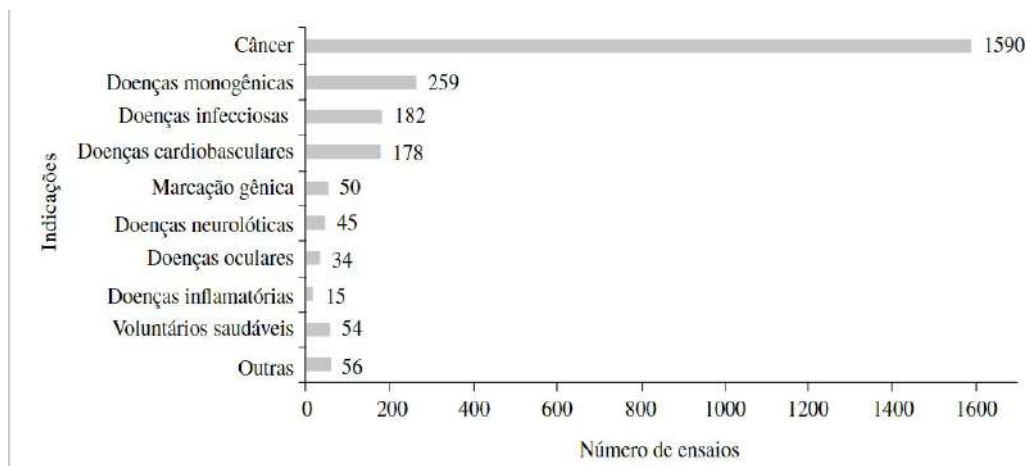


A terapia com células *T CAR* recebeu aprovação da FDA, destacando o *brexucabtagene autoleucl* (Tecartus, KTE-X19) para pacientes com leucemia linfoblástica aguda. No entanto, apesar dos avanços, a terapia enfrenta desafios significativos, como reações adversas graves, atividade antitumoral moderada, retirada de alérgenos, escape de antígeno, infiltração tumoral limitada e tráfico. Estes desafios destacam a necessidade contínua de pesquisas e melhorias para garantir o sucesso e segurança da terapia com células *T CAR* que podem mudar a vida de milhares de pessoas (HUANG *et al*, 2023).

Como já foi citado acima, outro segmento da biotecnologia com grande potencial é terapia gênica, que pode ser descrita como a modificação da expressão de um gene ou alterar as propriedades biológicas das células em um sentido terapêutico, por meio da administração de material genômico em um tecido biológico hospedeiro. Inicialmente, era aplicada exclusivamente para os distúrbios hereditários monogênicos, entretanto, com o avanço de tecnologias de engenharia genética o uso de terapias gênicas tem sido mais facilitado para a prevenção e manejo de algumas doenças intratáveis. A realização da terapia gênica começou a se mostrar possível a partir de desenvolvimentos da tecnologia do DNA recombinante, com a introdução de genes humanos em bactérias para a produção de proteínas humanas, como por exemplo, a insulina (GERALDO, 2022; REIS, 2010).

A terapia gênica possui dois métodos distintos de tratamento, sendo um voltado para doenças monogênicas e o outro direcionado a doenças multifatoriais. No tratamento de doenças monogênicas, é essencial identificar o gene responsável pela enfermidade, seguido pela edição e/ou inserção de cópias funcionais do gene para efetuar a correção. Por outro lado, o tratamento de doenças multifatoriais enfrenta desafios adicionais devido à interação combinada de vários genes que contribuem para a doença. Nestes casos, a complexidade é ampliada não apenas pela interação genética, mas também pela influência de fatores ambientais e epigenéticos (Silva, 2018). Avanços tecnológicos, como indicado na Figura 2, retirada do trabalho de Silva (2018), estão começando a demonstrar alguma eficácia na terapia gênica para doenças multifatoriais, onde indicações para o tratamento de câncer chegaram a 1590.

Figura 2. Indicações terapêuticas dos atuais ensaios clínicos de terapia gênica Fonte: Silva (2018)



Um aspecto relevante das terapias gênicas é a possibilidade de estabelecer a reversibilidade na modulação da expressão gênica de uma função celular inibida. Atualmente, os protocolos de tratamento para essas doenças enfrentam uma taxa de sucesso de cerca de 10%, apesar da relativa facilidade de aplicação em comparação com as doenças monogênicas. Esta baixa eficácia ressalta a necessidade de uma compreensão mais profunda da interação entre os fatores genéticos, ambientais e epigenéticos, visando o desenvolvimento de estratégias terapêuticas mais eficazes (GERALDO, 2022).

Outras dificuldades que já foram identificadas da terapia gênica foram as seguintes: A adesão dos pacientes, pois em alguns casos os pacientes podem ter que se submeter a várias sessões de terapia genética, seja por problemas do DNA terapêutico dentro das células-alvo ou pela curta vida útil das células; Doenças causadas por alterações em vários genes, as quais dificultam ainda mais o tratamento eficaz via geneterapia; Risco de surgimento de tumores, pois se o DNA for integrado no lugar errado do genoma, por exemplo, em um gene supressor tumoral, poderá induzir o surgimento de um tumor, e, por fim, há a possibilidade de rejeição pelo sistema imunológico, por não reconhecer o novo gene e rejeitar as células portadoras do mesmo. Realidades e perspectivas do uso de terapia gênica no tratamento de doenças (SILVA,2018).

Na esteira das terapias gênicas, os biofármacos vêm se expandindo de forma acelerada. Segundo Porto (2021), o financiamento desse tipo de área possibilita a ascensão da Biotecnologia, que será o centro de interesse dos demais setores científicos. Estes terão um papel fundamental em aumentar o arsenal de medicamentos a serem utilizados, o que, por sua vez, eleva os lucros e auxilia na disseminação do conhecimento científico.

Os biofármacos representam uma categoria inovadora de medicamentos produzidos a partir da Engenharia Genética, utilizando técnicas de DNA recombinante para criar proteínas terapêuticas. Estes agentes farmacêuticos têm como base proteínas que podem ser idênticas ou muito similares às produzidas pelo corpo humano. Esta similaridade permite que sejam utilizados para a reposição de proteínas em pacientes, representando uma revolução no tratamento de diversas doenças complexas. A grande vantagem dos biofármacos reside na sua homogeneidade e segurança, ao contrário das proteínas purificadas de amostras biológicas humanas, que podem apresentar riscos, como a possibilidade de conter vírus desconhecidos não detectados pelos testes disponíveis. A história dos biofármacos iniciou-se com a produção de insulina em 1982, utilizando a bactéria *Escherichia coli*, e desde então, a evolução tecnológica permitiu o desenvolvimento de diferentes gerações de biofármacos(CARREIRA *et al*,2013).

Como demonstrado no Quadro 1, abaixo, retirado do trabalho de Carreira *et al.* (2013),

este avanço tecnológico resultou na aprovação de diversos biofármacos e tratamentos ao longo dos anos, cada um com sua especificidade e impacto significativo na medicina moderna. Este quadro detalha diferentes biofármacos e seus respectivos anos de aprovação, destacando a crescente variedade de terapias geradas pela Engenharia Genética e seu uso para tratar uma ampla gama de condições médicas.

Quadro 1. Diferentes biofármacos e tratamentos Fonte: Carreira *et al* (2013)

Biofármaco	Tratamento	Ano de Aprovação
Insulina	Diabetes	1982
Interferon α	Leucemia	1986
Ativador de plasminogênio tecidual (tPA)	Infarto	1986
Hormônio do crescimento humano	Deficiências no crescimento	1987
Eritropoítina	Anemia	1989
G-CSF	Neutropenia	1991
Interleucina 2	Carcinoma renal	1992
Proteína morfogenética óssea (BMP2)	Reparo ósseo	1992
Fator de coagulação VIII	Hemofilia A	1994
Hormônio folículo estimulante (FSH)	Infertilidade feminina	1995
Interferon β	Esclerose múltipla	1996
Fator de coagulação IX	Hemofilia B	1999
Anticorpo monoclonal	Câncer de mama	1998
Anticorpo monoclonal	Leucemia	2001
Anticorpo monoclonal	Asma	2003

O processo de produção e aplicação dos biofármacos é multifacetado, variando desde a manipulação dos segmentos de DNA que codificam as proteínas desejadas até a escolha de organismos e células adequadas para a expressão e replicação do DNA recombinante. Essa tecnologia possibilita a criação de biofármacos de diferentes gerações, desde os de primeira geração, representados por cópias fiéis das proteínas humanas de interesse, até os de segunda e terceira geração, caracterizados por modificações estratégicas na estrutura molecular para conferir maior eficácia, estabilidade e especificidade. No entanto, a aprovação e os altos custos desses produtos ainda representam desafios significativos para sua expansão no mercado, limitando o acesso e consumo em larga escala. A constante busca por inovação e aprimoramento técnico visam superar esses desafios, impulsionando a evolução e aplicação dos biofármacos no tratamento de doenças complexas e proporcionando uma perspectiva promissora no cenário da saúde e da indústria farmacêutica (CARREIRA *et al*,2013).

4 CONCLUSÃO

Pode-se concluir, com base na revisão bibliográfica, que a biotecnologia está revolucionando a compreensão, diagnóstico e tratamento de doenças complexas, trazendo avanços notáveis como as terapias gênicas e as imunoterapias com *CAR T CELLS*. Estas inovações têm o potencial de corrigir irregularidades genéticas e combater o câncer, enquanto os biofármacos, produzidos pela engenharia genética, oferecem promissoras opções para tratar condições como esclerose múltipla e câncer. No entanto, é crucial reconhecer os desafios que acompanham essas inovações. Questões como a baixa eficácia das terapias gênicas em doenças multifatoriais e os elevados custos e barreiras de aprovação dos biofármacos representam obstáculos significativos. O futuro da biotecnologia na saúde humana é promissor, mas sua maximização exige uma abordagem contínua de pesquisa, inovação e

desenvolvimento.

REFERÊNCIAS

BURGALETA ALONSO DE OZALLA, C. Visión actual de la terapia con células CAR-T. **Revista de Investigación y Educación en Ciencias de la Salud (RIECS)**, v. 7, n. 1, p. 83–90, 30 maio 2022.

CAR-T: primeiro tratamento individualizado contra o câncer ganhará espaço no SUS. Disponível: <<https://www.oncoguia.org.br/conteudo/cart-primeiro-tratamento-individualizado-contra-o-cancer-ganhara-espaco-no-sus/15985/7/>>. Acesso em: 16 dez. 2023.

CARREIRA, A. C. O. et al. Biofármacos: sua importância e as técnicas utilizadas em sua produção. **Genética na Escola**, v. 8, n. 2, p. 168–177, 28 set. 2013.

GERALDO, J. M. VALENCIA, C. J. M. USO DE SISTEMAS NANOESTRUTURADOS NO TRATAMENTO DO CÂNCER: DA RADIOTERAPIA À TERAPIA GENÉTICA. **Mário Penna Journal**, v. 1, n. 1, p. 18–33, 24 fev. 2023.

HUANG, Z. et al. CAR T-Cell therapy for the management of mantle cell lymphoma. **Molecular Cancer**, v. 22, n. 1, 31 mar. 2023.

MADEIRA, L.; BORSCHIVER, S.; PEREIRA, N. **Identificação de Biofármacos para Produção no Brasil.** [s.l.: s.n.]. Disponível em: <http://iis.org/CDs2011/CD2011CSC/CIIT_2011/PapersPdf/NA822WU.pdf>. Acesso em: 16 dez. 2023.

MARTHO, L. J.; DEGASPERI, G. R.; TARSITANO, C. A. B. Imunoterapia com células t-car: bioengenharia contra a leucemia linfoblástica aguda car-t cells. **CuidArte, Enferm**, p. 168–173, 2017.

NATIONAL CANCER INSTITUTE. **CAR T Cells: Engineering Patients' Immune Cells to Treat Their Cancers.** Disponível em: <<https://www.cancer.gov/about-cancer/treatment/research/car-t-cells>>.

OLIVEIRA, T. A. **Imunoterapia de Células T CAR em Neoplasias Linfoides: Aplicações e Limitações.** [s.l.:s.n.]. Disponível: <<https://repositorio-aberto.up.pt/bitstream/10216/90761/2/173585.pdf>>.

REIS C. et al. **Biotecnologia para saúde humana: tecnologias, aplicações e inserção na indústria farmacêutica.** BNDES Setorial, n. 29, p. 359-392, mar. 2009, 2009.

REIS C. et al. **Biotecnologia para saúde no brasil.** BNDES Setorial, n.32, p. 193-230, mar. 2010.

SILVA, A. C. R. E; JÚNIOR, J. B. Realidades e perspectivas do uso de terapia gênica no tratamento de doenças. **Revista da Faculdade de Ciências Médicas de Sorocaba**, v. 20, n. 3, p. 122–127, 3 dez. 2018.

SOUZA, J. et al. **A NANOTECNOLOGIA DOS BIOFÁRMACOS NO TRATAMENTO**

DE PACIENTES COM DIABETES TIPO I E TIPO II . [s.l: s.n.]. Disponível em:
<https://revistas.unipacto.com.br/storage/publicacoes/2021/627_a_nanotecnologia_dos_biofarmacos_no_tratamento_de_pacientes_com_diabet.pdf>. Acesso em: 16 dez. 2023.



OS RISCOS AMBIENTAIS E SEUS IMPACTOS NA SAÚDE DA POPULAÇÃO RESIDENTE NA BACIA HIDROGRÁFICA DO BACANGA EM SÃO LUIS-MA

MILENA OLIVEIRA JORGE PEREIRA

RESUMO

Introdução - Uma das metas dos Objetivos de Desenvolvimento Sustentável (ODS) é alcançar, até 2030, o acesso universal e equitativo à água potável, segura e acessível para todos. Observa-se que na bacia hidrográfica do Bacanga as intervenções humanas sobre o ambiente têm ocasionado alterações que influenciam no nível de saúde da população residente na região da referida bacia. A relação entre o ambiente, o saneamento básico e as doenças de veiculação hídrica, nos possibilitou identificar situações que expõem a população a contrair doenças. Por meio desta pesquisa, busca-se responder: qual a relação entre saúde e ambiente enfrentada pela população residente na região da Bacia Hidrográfica do Bacanga? Parte-se da hipótese de que as intervenções antrópicas têm atuado diretamente na qualidade ambiental da bacia, e a poluição decorrente dessas intervenções, interfere diretamente na saúde desta população. **Objetivo** - Como objetivo geral buscou-se analisar os riscos ambientais e os seus impactos na saúde da população residente na bacia hidrográfica do Bacanga. **Metodologia** - Na abordagem metodológica, trata-se de um estudo ecológico, de abordagem sistêmica, pesquisa observacional e descritiva. No procedimento metodológico, a amostragem de população do estudo é pautada em dados secundários de acesso e domínio público, extraídos do Sistema de Informações Hospitalares (SIH) dispensando aprovação pelo Comitê de Ética em Pesquisa e cujos critérios de inclusão foram a ocorrência de registros de internações hospitalares, com diagnóstico principal de diarreia e gastroenterite de origem infecciosa presumível, código de endereçamento postal dentro dos limites da bacia, no período de 2020 a 2022. **Resultados** - Quando observado direta e sistematicamente o ambiente e aplicado a metodologia da matriz de risco ambiental na bacia hidrográfica do Bacanga, os principais perigos encontrados foram a supressão de áreas verdes, a intensificação dos processos erosivos, deterioração da qualidade da água, o assoreamento dos corpos de água da bacia, além da proliferação de doenças. E ainda, quando analisados os dados extraídos do SIH evidenciou-se um total de sessenta e nove notificações desses agravos à saúde. **Conclusão** - Enquanto os indicadores de acesso à água potável e coleta e tratamento dos esgotos não avançarem no município de São Luís - MA, as internações por doenças de veiculação hídrica seguirão crescendo, com poucas ou nenhuma perspectiva de diminuição. Dessa forma, a pauta do saneamento básico deveria ser acelerada com mais investimentos, para que possamos cumprir uma das metas dos Objetivos de Desenvolvimento Sustentável (ODS) de alcançar, até 2030, o acesso universal e equitativo à água potável, segura e acessível para todos.

Palavras-chave: Doenças Transmitidas pela Água; Análise Espacial; Vulnerabilidade em Saúde.

1 INTRODUÇÃO

A Organização das Nações Unidas (ONU) reconhece que a água potável segura e o saneamento adequado são fundamentais para a redução da pobreza, da garantia da dignidade

humana e do desenvolvimento sustentável (ONU, 2011).

Dessa forma, a contaminação das águas naturais representa um dos principais riscos à saúde pública, sendo amplamente conhecida a estreita relação entre a qualidade de água e inúmeras enfermidades que acometem às populações, especialmente aquelas não atendidas por serviços de saneamento (LIBÂNIO et al., 2005).

O acesso à água potável é um direito humano básico e componente eficaz de política de proteção da saúde, além de importante aspecto para o desenvolvimento em níveis nacional, regional e local (WHO, 2011).

De acordo com o Diagnóstico Temático Geral divulgado pelo Sistema Nacional de Informações sobre Saneamento (SNIS), no ano de 2022, 99,3% da população teve acesso ao abastecimento de água no Brasil, ou seja 201,7 milhões de brasileiros, apenas 171 milhões tiveram acesso a água no país. No Nordeste, o índice de atendimento total de água foi de 76,9%, o correspondente a 41,3 milhões de pessoas. No Maranhão apenas 59,5% da população foi atendida com o abastecimento de água (BRASIL, 2023).

Em se tratando de saneamento básico, em 2022, no Maranhão apenas 13,3% da população foi atendida com rede de esgoto e 75,2% foi atendido com cobertura de coleta domiciliar de resíduos sólidos (BRASIL, 2023).

Conforme dados da 14ª edição do Ranking do Saneamento, publicados pelo Instituto Trata Brasil, em março de 2022, o município de São Luís o abastecimento de água atendeu 85,3% da população, o atendimento com rede de esgoto atendeu apenas 49,78% e 20,78% de esgoto tratado referido à água consumida pela população (BRASIL, 2022).

Com vistas a enfrentar esse cenário de vulnerabilidade sanitária, uma das metas dos Objetivos de Desenvolvimento Sustentável (ODS) é alcançar, até 2030, o acesso universal e equitativo à água potável, segura e acessível para todos (ONU, 2015). O Brasil firmou um compromisso com a Agenda 2030 ao assinar os 17 Objetivos do Desenvolvimento Sustentável (ODS), ainda no ano de 2015.

Dentre eles, destaca-se o ODS 6 (Água Potável e Saneamento) e o ODS 3 (Saúde e Bem-Estar). Até 2030, o Brasil precisa alcançar o acesso universal à água e oferecer condições de esgotamento sanitário adequadas para todos, e também promover ambientes mais seguros para a manutenção do bem-estar e a saúde humana. Para auxiliar os países em desenvolvimento a atingir estes ODS, sobretudo o que concerne o acesso à água e esgotamento sanitário, a ONU criou o Ação da década para água 2018-2028, cujo intuito é oferecer objetivos claros de uma agenda mais acelerada para cumprir a meta.

No entanto, o Brasil tem um compromisso interno estipulado pelo novo Marco Legal do Saneamento (Lei Federal 14.026/2020) até 2033 de oferecer água potável para 99% da população e coleta e tratamento dos esgotos para 90% da população. Isso significa que o país poderá chegar em 2030 sem cumprir com o compromisso de oferecer o acesso universal aos serviços de saneamento básico preconizado pelos ODS.

Nesse contexto, torna-se importante a análise de dados, especialmente os produzidos pelo setor saúde, que propiciem um conhecimento mais amplo das situações de vulnerabilidade sanitária e suas correlações com a saúde da população.

Na bacia hidrográfica do Bacanga, observa-se que as intervenções humanas sobre o ambiente, ao longo do tempo, têm ocasionado alterações das características naturais pela intensificação das ocupações em áreas inadequadas, lançamento inadequado de resíduos líquidos e sólidos nas águas, retirada da vegetação ripária, entre outros (SOARES, 2021). Por consequência, esses fatores contribuem para a existência de condições ou situações de riscos e vulnerabilidades que vão influenciar no padrão e nível de saúde da população residente nessa região.

Nesse sentido, a análise da relação entre o ambiente, o saneamento básico e as doenças de veiculação hídrica na bacia hidrográfica do Bacanga, em São Luís - MA, nos possibilitará

identificar situações que expõem a população aos riscos de contrair doenças de veiculação hídrica. Para tanto, a presente pesquisa tem por objetivo responder ao seguinte questionamento: qual a relação entre saúde e ambiente enfrentada pela população residente na região da Bacia Hidrográfica do Bacanga? Trata-se de uma pesquisa que busca compreender qual a relação das doenças de veiculação hídrica, com recorte para o diagnóstico principal de diarreia, e qualidade ambiental da bacia hidrográfica do Bacanga em São Luís – MA, para a população que reside nessa região.

Como hipótese, a presente pesquisa considera que as intervenções antrópicas, isto é, as ações realizadas pelo homem têm atuado diretamente na qualidade ambiental da bacia hidrográfica do Bacanga, e que a poluição decorrente dessas intervenções, interferem diretamente na saúde da população, com recorte para as doenças de veiculação hídrica que acometem a população que reside na região da bacia hidrográfica do Bacanga em São Luís - MA.

O objetivo geral da pesquisa é analisar os riscos ambientais e os seus impactos na saúde da população residente na bacia hidrográfica do Bacanga, onde se encontram aproximadamente 64.000 domicílios, o que corresponde a uma estimativa populacional de aproximadamente 256.000 habitantes, distribuídos por cerca de 60 bairros, entre conjuntos habitacionais e aglomerados urbanos (SOARES, 2021).

Os objetivos específicos delimitados foram descrever as condições de saúde população residente na bacia hidrográfica do Bacanga; distribuir espacialmente as internações hospitalares por doenças de veiculação hídrica; e identificar as variáveis ambientais e de saúde intervenientes nas internações hospitalares por doenças de veiculação hídrica.

2 MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 População do Estudo

Dados secundários de acesso e domínio público, extraídos do Sistema de Informações Hospitalares (SIH) e disponibilizados pelo Departamento de Informática do Sistema Único de Saúde (DATASUS).

2.2 Critérios de Inclusão

Todos os registros de internações hospitalares contidos no SIH, independente de faixa etária, com o diagnóstico principal A09 (Diarreia e gastroenterite de origem infecciosa presumível), baseado na 10ª revisão da Classificação Estatística Internacional de Doenças e Problemas Relacionados à Saúde (CID-10), que possuem Código de Endereçamento Postal (CEP) dentro dos limites da bacia hidrográfica do Bacanga, no período de 2020 a 2022.

2.3. Critérios de Exclusão

Registros que não possuem informações claras do Código de Endereçamento Postal (CEP) e com localização fora dos limites da bacia hidrográfica do Bacanga.

2.4 Delineamento do Estudo

Através de uma abordagem sistêmica, a pesquisa se fundamentou por um estudo ecológico, aliado a uma investigação que utiliza a pesquisa observacional e descritiva.

Uso de métodos quantitativos, atrelados a bases de dados secundários – DATASUS e IBGE (malhas territoriais).

Primeiramente foi realizada uma busca em banco de dados do SUS, disponibilizado pelo DATASUS, no SIH. Em se tratando da área de estudo ser uma bacia hidrográfica, a busca teve como foco o diagnóstico principal das doenças de veiculação hídrica, a diarreia e gastroenterite de origem infecciosa presumível (A09) e no Estado do Maranhão, posteriormente

refinada para o município em que está localizada a referida bacia hidrográfica.

Em seguida foi criado um banco de dados no programa Excel contendo os registros descritos anteriormente, separados mensalmente e anualmente ao período a que se refere a pesquisa.

Utilizando a ferramenta Google Planilhas e lançando mão da extensão ezGeocode, conseguimos georreferenciar os códigos de endereços postais em coordenadas geográficas (latitude e longitude).

Com o shapefile da bacia hidrográfica do Bacanga disponibilizado pelo IBGE em seu sítio eletrônico, fizemos a importação do arquivo ao programa ArcMaps e dessa forma foi possível localizar espacialmente os registros de diarreia e gastroenterite de origem infecciosa presumível dentro dos limites da bacia hidrográfica.

Em paralelo, foram realizadas visitas em diversos pontos da região da bacia hidrográfica do Bacanga (barragem do bacanga, coroadinho, vila isabel, tamancão), de forma aleatória, para observação direta e sistemática de padrões de comportamentos da população residente nessa região, além de fenômenos ambientais naturais.

2.5 Aspectos Éticos

Por utilizar dados secundários de acesso público e sem possibilidade de identificação individual, o presente estudo dispensou aprovação pelo Comitê de Ética em Pesquisa, conforme previsto na resolução nº 510, de 07 de abril de 2016.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

No Brasil, atualmente, é considerada água para consumo humano aquela que é potável e destinada à ingestão, preparação e produção de alimentos e à higiene pessoal, independentemente da sua origem. Para ser considerada potável, a água deve atender ao padrão de potabilidade estabelecido pela Portaria do Ministério da Saúde nº 2.914 de 2011, e não oferecer riscos à saúde. (BRASIL, 2012).

Em regra, pode-se afirmar que embora o abastecimento de água por rede geral encontre-se propagado pelo território nacional, a garantia da qualidade desta água ainda é deficiente, prevalecendo, também, contrastes regionais (IBGE, 2011).

No Brasil, a Resolução CONAMA 01, de 23/01/1986, estabelece que a bacia hidrográfica deve ser considerada como área de estudo em avaliações de impacto ambiental, uma vez que as pressões exercidas por atividades humanas repercutem diretamente sobre a qualidade das águas, do solo, da vegetação e de vida de populações residentes em bacias hidrográficas.

A bacia hidrográfica compreende estruturas e processos funcionais que resultam da interação entre a geomorfologia, hidrologia e os seus aspectos socioeconômicos. A conservação das bacias hidrográficas vem se tornando cada vez mais relevante, pois a proteção inadequada de seus recursos hídricos pode ocasionar a contaminação de águas subterrâneas e superficiais devido à poluição por metais e matéria orgânica, ocasionando a degradação ambiental e problemas para o desenvolvimento social e econômico da região.

3.1 Internações hospitalares relacionadas às doenças de veiculação hídrica, com recorte para o diagnóstico principal de diarreia

De acordo com as informações de internações hospitalares contidas no Sistema de Internações Hospitalares (SIH) do Sistema Único de Saúde (SUS), disponibilizadas pelo Departamento de Informática do Sistema de Único de Saúde (DATASUS), com diagnóstico de diarreia e gastroenterite de origem infecciosa presumível (A09), o município de São Luís registrou no período de 2020 a 2022 um total de duzentas e sessenta e nove notificações.

A utilização de ferramenta ezGeocode, para geolocalização por meio do código de

endereço postal (CEP) nos permitiu excluir setenta registros de internações hospitalares da análise, devido inconsistência nesse dado.

Dado esse, bastante preocupante, haja vista a existência da Portaria nº 1570/GM/MS, de 29 de setembro de 2015, que em seu artigo 3º, inciso III, qualifica a competência do estabelecimento de saúde em efetuar o correto preenchimento dos dados do paciente no SIH/SUS e/ou no Sistema de Informações Ambulatoriais de Saúde (SIA/SUS).

Atualmente existe uma grande preocupação no que tange ao correto preenchimento dos dados do paciente nos sistemas de informações. Inúmeras secretarias municipais de saúde têm produzido cartilhas educativas e promovido treinamentos sobre esse assunto aos profissionais de saúde.

Os registros de internações hospitalares no município de São Luís com diagnóstico A09 no período de 2020 a 2022, com CEP válido, perfazem o total de cento e noventa e nove.

3.2 Avaliação dos Riscos Ambientais na Região da Bacia Hidrográfica do Bacanga

Um ambiente poluído, segundo a Política Nacional do Meio Ambiente, apresenta degradação da qualidade ambiental resultante de atividades que direta ou indiretamente prejudiquem a saúde, segurança e bem-estar da população, afetando desfavoravelmente a biota, e lançam materiais em desacordo aos padrões estabelecidos.

De forma que o gerenciamento ambiental das bacias hidrográficas perpassa por um planejamento integrado em que haja a compreensão de indicadores de diferentes áreas, a possibilidade de avaliação sistêmica da dinâmica socioambiental, além da busca pela redução de conflitos e manejo ecossistêmico, visando sempre a melhoria da qualidade de vida da população residente na região.

De acordo com Cardella (2011), a avaliação preliminar de risco é uma técnica de identificação de perigos e análise de riscos que consiste em identificar eventos perigosos, causas e consequências e estabelecer medidas de controle. Preliminar, porque é utilizada como primeira abordagem do objeto de estudo. Num grande número de casos é suficiente para estabelecer medidas de controle de riscos. O objeto da avaliação pode ser área, sistema, procedimento, projeto ou atividade e seu foco são todos os perigos do tipo evento perigosos ou indesejável.

A Matriz de Risco Ambiental da Bacia Hidrográfica do Bacanga, resultante da observação direta e sistemática do ambiente, evidenciou como principais perigos a supressão de áreas verdes, a intensificação dos processos erosivos, deterioração da qualidade da água, o assoreamento dos corpos de água da bacia, além da proliferação de doenças.

4 CONCLUSÃO

O panorama atual da bacia hidrográfica do Bacanga repercute diretamente na qualidade de vida da população residente nessa região. A existência de cenários de degradação ambiental e carência na oferta de serviços públicos essenciais, reflete de maneira pontual na saúde, segurança e bem-estar da população.

Cenários esses que elevam a população residente nessa região a uma condição de vulnerabilidade a doenças, principalmente a doenças de veiculação hídrica, em se tratando de uma bacia hidrográfica localizada em região central do município de São Luís, capital do Estado do Maranhão.

Expondo, portanto, um velho problema relacionado à precariedade de saneamento básico no município.

Enquanto os indicadores de acesso à água potável e coleta e tratamento dos esgotos não avançarem no município de São Luís - MA, as internações por doenças de veiculação hídrica seguirão crescendo, com poucas ou nenhuma perspectiva de diminuição.

Dessa forma, a pauta do saneamento básico deveria ser acelerada com mais

investimentos, para que possamos cumprir uma das metas dos Objetivos de Desenvolvimento Sustentável (ODS) de alcançar, até 2030, o acesso universal e equitativo à água potável, segura e acessível para todos.

REFERÊNCIAS

BRASIL. Ministério da Saúde. **Portaria nº 2.914, de 12 de dezembro de 2011**. Dispõe sobre os procedimentos de controle e de vigilância da qualidade da água para consumo humano e seu padrão de potabilidade. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília, DF, 2012.

BRASIL. **Lei Nº 14.026, de 15 de julho de 2020**. Atualiza o marco legal do saneamento básico e dá outras providências. Brasília, DF: Diário Oficial da União, 2020.

BRASIL. Ministério do Desenvolvimento Regional. **Ranking do Saneamento**. Instituto Trata Brasil, 14ed., 2022.

BRASIL. Ministério das Cidades. **Diagnóstico Temático Serviços de Água e Esgoto: Visão Geral ano de referência 2022**. Sistema Nacional de Informações sobre Saneamento – SNIS, Brasília, DF: 2023.

CARDELLA, Benedito. **Segurança no trabalho e prevenção de acidentes: uma abordagem holística**. 1ª Ed. São Paulo: Atlas, 2011.

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística **Atlas de saneamento 2011**.

LIBÂNIO, P. A. C.; CHERNICHAROI, C. A. L.; NASCIMENTO, N. D. O. **A dimensão da qualidade de água: avaliação da relação entre indicadores sociais, de disponibilidade hídrica, de saneamento e de saúde pública**. Engenharia Sanitária e Ambiental. v. 10, n. 3, p. 219-28, 2005.

ONU- Organização das Nações Unidas. **Programa da Década da Água da ONU-Água sobre Advocacia e Comunicação (UNW-DPAC)**. O Direito Humano à Água e Saneamento: Comunicado aos Media. 2011. 8p.

SOARES, Leonardo Silva et al. **Análise Integrada e Problemas Socioambientais da Bacia Hidrográfica do Bacanga, São Luís - MA**. REDE - Revista Eletrônica do PRODEMA, Fortaleza, v. 1, n. 15, p. 138-150, ago. 2021.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Guidelines for Drinking-water Quality**. 4th ed. Geneva: World Health Organization, 2011.



POTENCIAL DE EMULSÕES DE ÓLEO ESSENCIAL DE CITRUS SINENSIS E DO LIMONENO PARA O CONTROLE DE MUSCA DOMESTICA L. (DIPTERA: MUSCIDAE)

ROCIO YANET FARRO BARBARÁN; VIVIANA CAROLINA BOJACÁ LÓPEZ; JULIE KENNYA DE LIMA FERREIRA; KHALID HADDI

Introdução: A *Musca domestica* L. (Diptera: Muscidae) é um inseto sinantrópico responsável pela propagação de numerosas doenças e associado a perdas econômicas por contaminar produtos destinados ao consumo humano. Os óleos essenciais e seus componentes majoritários tornaram-se uma alternativa promissora, sustentável e ecologicamente aceitável para o controle de insetos pragas.

Objetivo: Avaliar a toxicidade de emulsões do óleo essencial (OE) da laranja *Citrus sinensis* e do seu composto majoritário o limoneno para a *M. domestica*. **Material e métodos:** As moscas foram expostas às emulsões de OE de laranja doce e do limoneno em três proporções diferentes (água : tween 80). O conteúdo das emulsões correspondeu a 2,5% (1:1), 5% (1:2) e 7,5% (1:3) de OE ou limoneno. As moscas foram obtidas de uma população (POPNEP) mantida no Laboratório de Entomologia Molecular e Ecotoxicologia (MEET), do Departamento de Entomologia (DEN) da Universidade Federal de Lavras (UFLA). A população POPNEP apresenta resistência comprovada a piretróides e neonicotinóides. Foram aplicados 2,2 mL de emulsão em roletes de algodão (2 cm) colocados em potes de vidro de 200 mL antes da liberação de 15 moscas dentro cada pote. Os potes foram vedados com esponja. Os tratamentos foram realizados em triplicatas (15 moscas cada) para cada emulsão. No controle foi utilizada água açucarada a 20%. Os potes com moscas foram mantidos sob condições controladas de T°:25±2°C, UR:60±5% e fotofase 12H e a mortalidade foi avaliada após 48 horas. **Resultados:** A análise estatística dos dados mostrou diferenças significativas (F=12,8; df=1; p=0,004) entre a mortalidade nos tratamentos OE de laranja e o limoneno e quando comparada com a mortalidade no controle. As emulsões do OE de laranja e do limoneno nas três proporções testadas causaram mortalidades igual ou acima de 50% e superando as 93% para a proporção (1:3). As emulsões do limoneno foram mais tóxicas com mortalidades superiores a 80% em todas as proporções. **Conclusão:** Esses resultados demonstraram alta mortalidade de *M. domestica* após a exposição à emulsões de OE de laranja doce e de limoneno, indicando que seu uso pode ser promissor no controle de insetos.

Palavras-chave: Laranja doce, Limoneno, Biotecnologia, Controle de pragas, Emulsão.



POTENCIAL FUNGIOSTÁTICO E FUNGICIDA DO EXTRATO DE FOLHAS DA CASSUTINGA (*Croton heliotropiifolius*) NO CONTROLE DO *Aspergillus welwitschiae* CAUSADOR DA PODRIDÃO VEMELHA DO SISAL

IZABEL MOTA PEREIRA GOMES; LETÍCIA LIMA CARNEIRO; RAFAEL MOTA DA SILVA

RESUMO

A caatinga é um bioma exclusivamente brasileiro, no qual desenvolve-se uma vegetação diversa, dentre elas, o sisal (*Agave sisalana*), que sofre de problemas em sua produção como a podridão vermelha do sisal, causada principalmente pelo fungo *Aspergillus welwitschiae*. A cassutinga (*Croton heliotropiifolius*), vegetação também presente no bioma da caatinga, possui um potencial fungiostático e fungicida contra do *A. welwitschiae*. Portanto, o objetivo dessa pesquisa foi analisar o potencial do extrato de *C. heliotropiifolius* na inibição do crescimento micelial do fungo causador da podridão vermelha do sisal. Para a produção dessa pesquisa foi utilizado um método experimental com a inoculação do fungo em meios de cultura com diferentes concentrações do extrato da folha da cassutinga para a análise do diâmetro do seu crescimento micelial a cada 48 horas. Os resultados obtidos foram que nas concentrações 20% e 40% obtiveram 100% de inibição do fungo e as concentrações de 5% e 10% obtiveram a percentagem de inibição respectivamente de 72,22% e 67,22%, e além disso, nas concentrações 20% e 40% não houve crescimento micelial, já nas concentrações 5% e 10% o crescimento micelial foi de respectivamente 2,5 e 2,95 cm de diâmetro. Em conclusão, nota-se a importância da eficiência do extrato da *C. heliotropiifolius*, pois por ser uma planta que faz parte da vegetação da caatinga é de fácil acesso aos produtores da *A. sisalana* para realizarem o uso no combate à podridão vermelha do sisal.

Palavras-chave: Inibição; Crescimento micelial; Extrato vegetal.

1 INTRODUÇÃO

A caatinga é um bioma exclusivamente brasileiro, que possui um clima semiárido no qual desenvolve-se uma vegetação diversa, dentre elas, o sisal (*Agave sisalana*), presente principalmente na região sisaleira, que abrange uma área de 21.256,50 Km² e é composto por 20 municípios: Monte Santo, Nordestina, Queimadas, Quijingue, Serrinha, Teofilândia, Valente, Barrocas, Biritinga, Conceição do Coité, Ichu, Lamarão, Retirolândia, Santaluz, São Domingos, Tucano, Araci, Candeal, Cansanção e Itiúba. (Cunha *et al*, 2021). Diante disso, o sisal está presente em grande parte da economia desse território, atualmente a Bahia é responsável por 90% da produção de fibra de sisal do Brasil, a maior parte da fibra de sisal é destinada para o mercado externo, seja na forma de fibra bruta, seja na forma manufaturada. (Santos; Brandão, 2021). Além disso, a cultura do sisal possui grande importância socioeconômica para o Brasil, principalmente no semiárido baiano, pois é a maior geradora de emprego, cerca de 850 mil empregos diretos e indiretos por meio de sua cadeia de serviços (Silva *et al.*, 2021).

Sendo o sisal de grande importância econômica para a região, diversos problemas que afetam o cultivo trazem quedas na produtividade e grandes perdas econômicas, dentre os

problemas pode-se citar a podridão vermelha do sisal, causada principalmente pelo fungo *Aspergillus welwitschiae*. Esta doença encontra-se disseminada em quase todos os plantios, com incidências variando entre 5 e 35% (Coutinho et al., 2006).

Os fungicidas sintéticos largamente utilizados na agricultura são eficientes e rápidos no controle de doenças de plantas, contudo, o uso contínuo causa danos à saúde humana e ao ambiente (Gama et al., 2015). Os produtos extraídos de plantas, como os óleos essenciais, apresentam potencial na substituição aos fungicidas sintéticos, pois apresentam degradação mais rápida do que a maioria dos produtos sintéticos, e esta degradação pode ocorrer em alguns dias ou até mesmo horas, além de serem menos propensos a matar pragas benéficas (Al-Samarrai et al., 2012).

As plantas medicinais além de outorgar um tratamento efetivo e natural, traz também a vantagem de ser uma terapia de baixo custo e fácil acesso podendo ser cultivadas em hortas residenciais, quintais, sítios e até mesmo ser encontradas em feiras livres e lojas especializadas (BOCHNER et al., 2012).

Além disso, as espécies do gênero *Croton* formam um grupo taxonomicamente complexo, com ampla diversidade e reconhecido uso popular como potencial fonte de recursos fitoterápico e inseticida (Vunda, 2011). A cassutinga (*Croton heliotropiifolius*), vegetação também presente no bioma da caatinga está dentro do conjunto de plantas desse bioma que possuem um potencial fungicida e fungicida contra o *A. welwitschiae*, possuindo características e propriedades importantes como a presença de alcaloides e 12 polifenóis em *C. heliotropiifolius* (Randau, 2004). A *Croton heliotropiifolius* possui atividades antifúngicas, de acordo com Brito et al., (2018) a variante apresentou atividade antifúngica 2 vezes superior ao antifúngico Fluconazol. (Cavalcanti, Silveira, Silva, 2020).

Portanto, o objetivo dessa pesquisa foi analisar o potencial do extrato de *C. heliotropiifolius* na inibição do crescimento micelial do fungo causador da podridão vermelha do sisal, *A. welwitschiae*.

2 MATERIAL E MÉTODOS

Para a produção do experimento foram realizados cinco tratamentos sendo um deles controle, cada um possuindo diferentes concentrações do extrato de *C. heliotropiifolius*. Para a produção do extrato de *C. heliotropiifolius* foram utilizados 10g de folha de *C. heliotropiifolius* imersa em 400ml de solução hidroalcoólica de 1/1, após a maceração ao abrigo da luz por 3 dias o extrato foi coado em filtro de papel e funil e armazenado em Erlenmeyer de 500 ml.

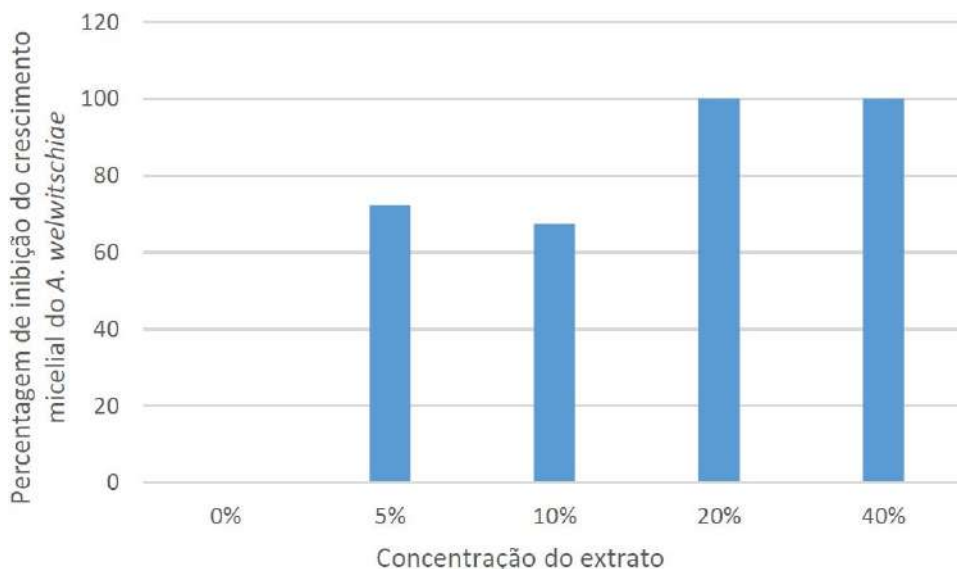
Para a preparação do meio de cultura para o cultivo do fungo em extrato foi utilizado para cada tratamento 3,12g de meio BDA (ágar batata dextrose) e 0,5g de ágar adicionados em Erlenmeyer de 125 ml com a quantidade de água destilada necessária para as diferentes concentrações dos tratamentos sendo: T1, 5% de concentração do extrato e 95% de meio de cultura; T2, 10% de concentração do extrato e 90% de meio de cultura; T3, 20% de concentração do extrato e 80% de meio de cultura; T4, 40% de concentração do extrato e 60% de meio de cultura e; Controle, 0% de concentração do extrato. Além disso, foi realizada a evaporação dos solventes presentes no extrato em uma chapa aquecedora misturando-se regularmente, para que fosse adicionado ao meio de cultura.

Após autoclavagem dos meios de cultura foi realizada a distribuição em placas de petri de acordo com a quantidade de cada tratamento descrita acima, sendo 4 placas de petri para cada tratamento. Após verter todos os meios, foi realizada a inoculação do fungo *A. welwitschiae* em todas as placas de petri.

Por fim, a cada 48 horas foram realizadas as medições do diâmetro do fungo na placa contendo extrato para determinar o crescimento micelial em cada concentração.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

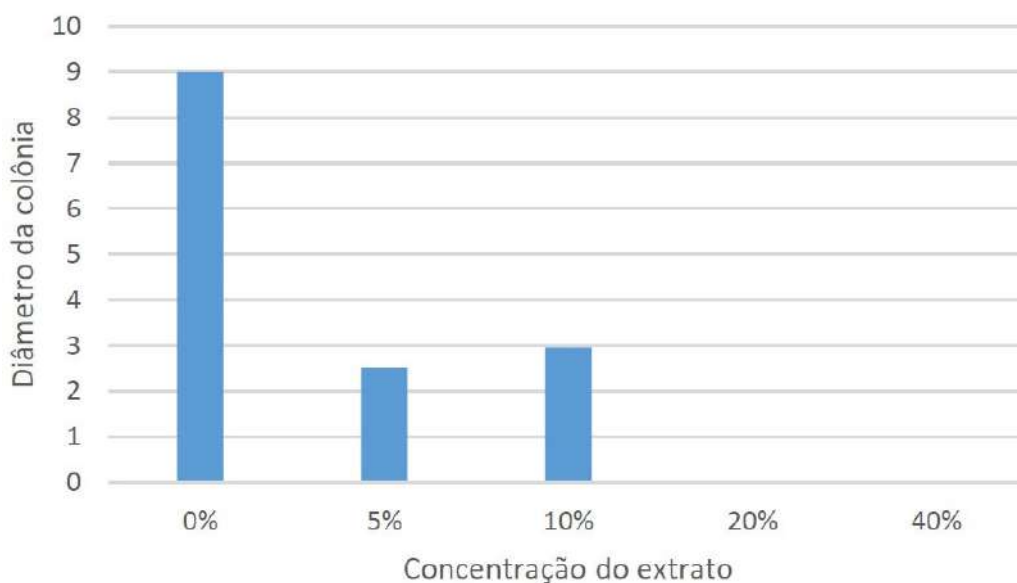
Gráfico 1: Percentagem de inibição do crescimento micelial do *A. welwitschiae* (%) nas diferentes concentrações do extrato de folhas de *C. heliotropiifolius*



A partir dos dados dispostos no gráfico 1 pode-se analisar a percentagem de inibição do fungo *A. welwitschiae* no extrato de *C. heliotropiifolius* em diferentes concentrações. As concentrações 20% e 40% obtiveram 100% de inibição do fungo e as concentrações de 5% e 10% obtiveram a percentagem de inibição respectivamente de 72,22% e 67,22%.

De acordo com Leal *et al* (2016), a percentagem de inibição do fungo *A. niger* em extrato de *Pimenta dioica* L. nas concentrações de 10% e 25% foram de respectivamente 5,55% e 73,33%. Em comparação com o extrato de *C. heliotropiifolius* a taxa de inibição foi maior em 20% (100%) que em 25% do extrato de *P. dioica* (73,33%), sendo também maior em 5% (72,22%) no extrato de *C. heliotropiifolius* do que na concentração de 10% (5,55%) do extrato de *P. dioica*. Com isso, mostra-se que o extrato de *C. heliotropiifolius* possui um maior potencial de inibição do fungo quando comparado ao extrato de *P. dioica*.

Gráfico 2: Diâmetro da colônia do *A. welwitschiae* (cm) em diferentes concentrações do extrato de folhas de *C. heliotropiifolius*



Além disso, nos dados apresentados no gráfico 2 pode-se observar o crescimento micelial do fungo *A. welwitschiae* no extrato de *C. heliotropiifolius* em diferentes concentrações. Nas concentrações 20% e 40% não houve crescimento micelial, já nas concentrações 5% e 10% o crescimento micelial foi de respectivamente 2,5 e 2,95 cm de diâmetro. De acordo com Fumagali, *et al* (2008), as plantas possuem metabólitos secundários que são substâncias que têm papel ecológico como atração de polinizadores, defesa contra microrganismos, insetos e predadores, e também contra outras plantas.

As concentrações estudadas [extrato de *P. dioica*] 0%, 10% e 25% apresentaram os diâmetros finais de 9,0; 8,77 e 1,98 cm respectivamente, enquanto que no tratamento com 50% do extrato, não houve crescimento do *A. niger* (Leal *et al*, 2016). Em comparação ao extrato de *C. heliotropiifolius* as concentrações 20% e 40% não houve crescimento micelial assim como na concentração de 50% do extrato de *P. dioica*. Já as concentrações de 5% e 10% do extrato de *C. heliotropiifolius* possuíram um crescimento micelial menor (2,5 e 2,95 cm) do que as concentrações de 10% e 25% do extrato de *P. dioica* (8,77 e 1,98 cm). Diante disso, de acordo com Aquino *et al* (2017), na prospecção fitoquímica realizada com os extratos etanoicos das folhas de *C. heliotropiifolius* foram identificados a presença de taninos condensados, flavonoides, flavononas, flavonóis, catequinas e xantonas. Os quais são metabólitos secundários presentes, que possuem um papel ecológico, também na defesa contra microorganismos como o *A. welwitschiae*.

4 CONCLUSÃO

Em conclusão, nota-se a importância da eficiência do extrato da *C. heliotropiifolius*, pois por ser uma planta que faz parte da vegetação da caatinga é de fácil acesso aos produtores da *A. sisalana* para realizarem o uso no combate à podridão vermelha do sisal. Sendo mais eficientes, como demonstram os dados, os extratos nas concentrações de 20% e 40%, pois tiveram uma percentagem de inibição de 100% e não houveram crescimento micelial.

Por fim, faz se necessário um estudo mais aprofundado, pois para comprovar a eficiência, é necessária a realização de testes *in vivo* em casa de vegetação ou em campo, pois estes experimentos com extratos vegetais foram realizados de forma *in vitro*.

REFERÊNCIAS

Al-Samarrai, G., Singh, H., & Syarhabil, M. (2012). **Evaluating eco-friendly botanicals (natural plant extracts as alternatives to synthetic fungicides)**. *Annals of Agricultural and Environmental Medicine*, 19 (4), 673-676. Disponível em: https://www.aem.pl/pdf-71842-9068?filename=Evaluating%20eco_friendly.pdf. Acesso em: 11 de fevereiro de 2024.

AQUINO, Vitória Viviane Ferreira et al. Metabólitos secundários e ação antioxidante de *Croton heliotripifolius* e *Croton blanchetianus*. *Acta Brasiliensis*, v. 1, n. 3, p. 28-31, 2017. Disponível em: <http://revistas.ufcg.edu.br/ActaBra/index.php/actabra/article/view/30>. Acesso em: 13 de fevereiro de 2024.

BRITO, S. S. S. et al. *Croton argyrophyllus* Kunth and *Croton heliotropiifolius* Kunth: Phytochemical characterization and bioactive properties. *Industrial crops and products*, v. 113, p. 308-315, 2018. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S092666901830044X>. Acesso em: 11 de fevereiro de 2024.

CAVALCANTI, D. F. G.; DA SILVEIRA, Diocielma Maria; DA SILVA, Gabriela Cavalcante. Aspectos e potencialidades biológicas do gênero *Croton* (Euphorbiaceae). **Brazilian Journal of Development**, v. 6, n. 7, p. 45931-45946, 2020. Disponível em: <https://ojs.brazilianjournals.com.br/ojs/index.php/BRJD/article/view/13079/0>. Acesso em: 11 de fevereiro de 2024.

COUTINHO, W. M.; SUASSUNA, N. D.; Luz, C. M.; SUINAGA, F. A.; SILVA, O. F. E. **Bole rot of sisal caused by *Aspergillus niger* in Brazil. Fitopatologia Brasileira**, 2006, 31, 6, 605. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/fb/a/54PvSVLXSv65czFq98TwGGt/?lang=en>. Acesso em: 05 de fevereiro de 2024.

CUNHA, T. J. F. *et al.* Características do território. **EMBRAPA**, 2021. Disponível em: <https://www.embrapa.br/agencia-de-informacao-tecnologica/territorios/territorio-sisal/caracteristicas-do-territorio>. Acesso em: 05 de fevereiro de 2024.

FUMAGALI, E.; GONÇALVES, R. A. C.; MACHADO, M. F. P. S.; VIDOTI, G. J.; DE OLIVEIRA, A. J. B. Produção de metabólitos secundários em cultura de células e tecidos de plantas: o exemplo dos gêneros *Tabernaemontana* e *Aspidosperma*. *Revista Brasileira de Farmacognosia*. v. 18, n. 4, p. 627-641, 2008. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/rbfar/a/mPzdV8hnt9FyVJBksnRTgWd/?lang=pt&format=html>. Acesso em: 13 de fevereiro de 2024.

GAMA, Erasto VS *et al.* Homeopathic drugs to control red rot disease in sisal plants. **Agronomy for Sustainable Development**, v. 35, p. 649-656, 2015. BOCHNER, R., FISZON, J. T., ASSIS, M. A., AVELAR, K. E. S. Problemas associados ao uso de plantas medicinais comercializadas no Mercado de Madureira, município do Rio de Janeiro, Brasil. *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais*, v. 14, n. 3, p. 537-547, 2012. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s13593-014-0255-0>. Acesso em: 11 de fevereiro de 2024.

LEAL, T. T. B. *et al.* Extrato de *Pimenta dioica* no controle *in vitro* de *Aspergillus niger*, patógeno da cultura do sisal. **Magistra**, v. 28, n. 2, p. 254-260, 2016. Disponível em: <https://periodicos.ufrb.edu.br/index.php/magistra/article/view/3946>. Acesso em: 09 de fevereiro de 2024.

RANDAU, K.P.; FLORÊNCIO, D.C.; FERREIRA, C.P.; XAVIER, H.S. Estudo farmacognóstico de *Croton rhamnifolius* H.B.K e *Croton rhamnifolioides* Pax e Hoffm. (Euphorbiaceae). **Revista Brasileira de Farmacognosia** 14:89-96, 2004. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/rbfar/a/QKg8grz6h3QMGv6RfpDcF6M/?lang=pt>. Acesso em: 05 de fevereiro de 2024.

SANTOS, R. A.; BRANDÃO, W. N. Sisal. **EMBRAPA**, 2021. Disponível em: <https://www.embrapa.br/agencia-de-informacao-tecnologica/territorios/territorio-sisal/atividades-economicas/cultivos/sisal#:~:text=Na%20Bahia%2C%20a%20produção%20de,bruta%2C%20seja%20na%20forma%20manufaturada>. Acesso em: 05 de fevereiro de 2024.

SILVA, R. R. F., *et al.* (2021). Sisal: importância socioeconômica. **Embrapa**. Disponível em: <https://www.embrapa.br/agencia-de-informacao-tecnologica/cultivos/sisal/pre-producao/socioeconomia/importancia-socioeconomica>. Acesso em: 11 de fevereiro de 2024.

VUNDA, S.L.L. Estudo químico e biológico de espécies de Croton (Euphorbiaceae) nativas do Rio Grande do Sul. Dissertação (Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas) p.75. **Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre**, 2011. Disponível em: <https://www.lume.ufrgs.br/handle/10183/40406>. Acesso em: 05 de fevereiro de 2024.



PRODUÇÃO SUSTENTÁVEL DE ÉSTERES DE SOLKETILA POR HIDROESTERIFICAÇÃO ENZIMÁTICA DO ÓLEO DE SOJA USADO

JOÃO VITOR BERNARDES DIMAS; JOSÉ MIGUEL JÚNIOR; MILSON SANTOS BARBOSA; CLEIDE MARA FARIA SOARES; ADRIANO AGUIAR MENDES

RESUMO

O presente estudo propõe uma nova abordagem na produção enzimática de ésteres de solketila, uma classe de compostos de grande interesse na indústria oleoquímica, por hidroesterificação enzimática do óleo de soja usado. Este processo consistiu na hidrólise completa do óleo de soja usado catalisado por lipase de *Candida rugosa* (LCR) para a produção de ácidos graxos livres (AGL), seguido da esterificação enzimática dos AGL obtidos com solketal em meios isentos de solventes. O biocatalisador empregado nesta etapa foi a lipase Eversa[®] Transform 2.0 (ET2.0) imobilizada em partículas pré-tratadas do epicarpo (casca) de *Acrocomia aculeata* (macaúba). A etapa de produção dos AGL por hidrólise enzimática foi conduzida em um sistema isento de emulsificantes e agentes tamponantes empregando razão mássica óleo:água de 40% m.m⁻¹, concentração de LCR de 3,2 g do preparado comercial em pó por Kg de meio, 40°C e agitação mecânica de 1500 rpm. O biocatalisador empregado na etapa de esterificação (ET2.0 imobilizada) foi preparado via adsorção física de ET2.0 a 25°C em pH 5,0 (tampão acetato de sódio – 5 mmol.L⁻¹) empregando um carregamento de proteína de 40 mg.g⁻¹ de suporte. Máxima concentração de proteína imobilizada de 25,2 ± 1,3 mg.g⁻¹ foi obtida em 15 h de imobilização. As reações de esterificação foram conduzidas em frascos abertos contendo 6 g de meio reacional constituído por uma mistura de AGL e solketal, agitação mecânica de 240 rpm e tempo de 20 min de reação. Nesta etapa, a influência de relevantes fatores na etapa de esterificação como razão molar solketal:AGL (1:1 a 1:4), temperatura de reação (40 a 70°C), e concentração de biocatalisador (5 a 20% m.m⁻¹) foi avaliada por delineamento composto central rotacional (DCCR). De acordo com os resultados, máxima conversão do ácido da ordem de 35% foi alcançada após 20 min de reação conduzida a 46°C, 17% m.m⁻¹ de biocatalisador e razão molar AGL:solketal de 1:1,6. Estes resultados mostram que a estratégia proposta é altamente atrativa para a indústria química para o estabelecimento de processos eficientes e sustentáveis a partir de resíduos agroindustriais (casca de macaúba e óleo residual).

Palavras-chave: Ésteres de solketila; Hidroesterificação; Óleo de soja usado; Otimização.

1 INTRODUÇÃO

Ésteres de solketila são uma classe de compostos químicos de grande interesse industrial amplamente usados como aditivos em combustíveis (BARBOSA *et al.*, 2019; MARIAM *et al.*, 2022) e emulsificantes com propriedades antimicrobianas (MENDOZA-ORTIZ *et al.*, 2020; YANG *et al.*, 2014). Estes compostos são convencionalmente produzidos por reações de esterificação e/ou transesterificação catalisadas por catalisadores homogêneos ácidos ou básicos como metóxido de sódio (KENAR e KNOTHE, 2008), metóxido de potássio (NEAMTU *et al.*, 2019), carbonato de sódio (MARIAM *et al.*, 2022), ácido *p*-toluenossulfônico

(PEROSA *et al.*, 2016; YANG *et al.*, 2014) ou uma mistura de trifetilfosfina/iodo/imidazol (SULTANOVA *et al.*, 2023). Além disso, partículas ácidas de sílica amorfa (BARBOSA *et al.*, 2019) e óxidos derivados de materiais naturais ricos em cálcio (SANKARANARAYANAN *et al.*, 2017) também têm sido utilizados como catalisadores heterogêneos ácidos ou básicos desta reação de esterificação, respectivamente. Em geral, esses sistemas reacionais são conduzidos em altas temperaturas – de 90 a 150°C. Além disso, são necessários complexos esquemas de reação que empregam grandes volumes de solventes orgânicos perigosos ou líquidos iônicos para melhorar a miscibilidade das matérias-primas (BARBOSA *et al.*, 2019; KENAR e KNOTHE, 2008; MARIAM *et al.*, 2022; NEAMTU *et al.*, 2019; YANG *et al.*, 2014). Estes estudos também foram conduzidos sob atmosferas inertes para evitar a formação de subprodutos indesejáveis causados por oxidação, polimerização e outras reações, a fim de obter altos rendimentos e purezas.

Com o intuito de solucionar estas limitações, a substituição de catalisadores químicos clássicos por biocatalisadores como lipases é uma alternativa promissora na produção de valiosos compostos para diferentes setores industriais devido à crescente demanda por produtos ambientalmente corretos, requerimento de condições brandas de temperatura e pressão, menor consumo de energia no processo e formação de produtos com elevada pureza que minimiza a geração de resíduos nas etapas de separação/purificação (BOLIVAR *et al.*, 2022).

Neste contexto, o objetivo principal deste estudo foi desenvolver um processo inédito para a produção de ésteres de solketa por hidroesterificação enzimática do óleo de soja usado, um subproduto do processamento doméstico e industrial de alimentos (fritura). Este processo consiste na inicial hidrólise enzimática do óleo residual, seguido da esterificação enzimática dos AGL produzidos com solketal. Nesta etapa, foi avaliada a influência de importantes fatores na esterificação empregando uma ferramenta estatística (DCCR). Este é um estudo pioneiro na produção destes ésteres de grande relevância na indústria oleoquímica.

2 MATERIAIS E MÉTODOS

2.1. Materiais

Lipases de *Thermomyces lanuginosus* expressa em *Aspergillus oryzae* (ET2.0) e de *Candida rugosa* foram adquiridas da Sigma Aldrich Co. (St. Louis, MO, EUA). Solketal (DL-1,2-Isopropilideno-glicerol) também foi obtido da Sigma-Aldrich Co. Óleo de soja usado na fritura de batatas fritas foi obtido do Restaurante Universitário da Universidade Federal de Alfenas (Alfenas, MG). Frutos da macaúba foram coletados no bioma Cerrado na Universidade Federal de São João del-Rei – *Campus Sete Lagoas* (Sete Lagoas, MG). Todos os outros reagentes e solventes usados foram de grau analítico obtidos da Synth[®] (São Paulo, SP).

2.2. Pré-tratamento do epicarpo de macaúba

O suporte foi preparado pela remoção das cascas do fruto da macaúba, seguido de moagem em moinhos de facas e separação por sistemas de peneiras rotativas para a obtenção de tamanho de partículas entre 75 e 120 µm. O suporte obtido foi submetido duas vezes a um tratamento termoquímico (solução de HCl a 3,5% m.m⁻¹ por 4 h a 120°C em sistema de refluxo) e imerso duas vezes em solução de etanol a 70% m.m⁻¹ por 15 h a 25°C. O suporte pré-tratado obtido foi usado na imobilização de ET2.0 usado na etapa de esterificação.

2.3. Hidrólise enzimática do óleo de soja usado

A produção de AGL por hidrólise completa do óleo de soja refinado foi conduzida em reatores de 350 mL de capacidade contendo 50 g de meio reacional preparado na razão mássica óleo:água de 40% m.m⁻¹ (SABI *et al.*, 2022). O processo de hidrólise foi realizado

empregando 3,2 g do extrato bruto comercial de LCR por Kg de meio reacional, agitação mecânica de 1500 rpm, 40°C e tempo de reação de 180 min. Os AGL obtidos foram separados em funil de separação e a parte superior foi lavada 3 vezes com água destilada a 50°C para a remoção de glicerol residual e os AGL obtidos foram empregados na etapa de esterificação.

2.4. Preparação do biocatalisador por imobilização de ET2.0 por adsorção física

A imobilização de ET2.0 foi realizada em pH 5,0 (tampão fosfato de sódio 5 mM) por 15 h de contato com contínua agitação (240 rpm) a 25°C empregando um carregamento inicial de proteína de 40 mg.g⁻¹ de suporte (ALVES *et al.*, 2017; MACHADO *et al.*, 2019). A imobilização foi acompanhada pela determinação da concentração de proteína imobilizada empregando o método proposto por Bradford (1976). A máxima concentração de proteína imobilizada foi de 25,2 ± 1,3 mg.g⁻¹.

2.5. Otimização da etapa de esterificação enzimática

As reações de esterificação foram realizadas em frascos abertos de vidro (capacidade de 100 mL) contendo 6 g de meio reacional sob constante agitação mecânica (240 rpm) e tempo de reação (20 min). Neste estudo, um DCCR foi proposto para a avaliação do efeito da temperatura de reação (40 a 70°C), razão molar AGL:solketal (1:1 a 1:4) e concentração de biocatalisador (5 a 20% m.m⁻¹) na reação. Alíquotas do meio de reação (50 µL) foram retiradas em tempos pré-determinados e diluídas em solução de etanol a 70% (m.m⁻¹) para a quantificação de AGL residual por titulação com solução de NaOH 40 mM. A porcentagem de conversão dos AGL em ésteres (Y) foi determinada conforme mostrado na Eq. (1) (SABI *et al.*, 2022):

$$Y(\%) = \left(\frac{AGL_0 - AGL_t}{AGL_0} \right) \times 100 \quad (1)$$

Em que: AGL_0 e AGL_t são as concentrações inicial e residual de AGL no meio (mol. L⁻¹).

Os resultados experimentais foram analisados ao nível de 95% de confiança, utilizando o software Protimiza Experimental Design (<https://experimental-design.protimiza.com.br>). A significância estatística dos coeficientes de regressão foi determinada pelo teste *t* de Student. O ajuste do modelo foi expresso pelo coeficiente de determinação (R²) e os níveis de significância dos parâmetros do modelo foram verificados por análise de variância (ANOVA). As superfícies de contorno e de resposta foram plotadas para encontrar as condições ótimas de reação.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A Tabela 1 mostra os fatores independentes, níveis em termos reais e codificados, em conjunto com os resultados experimentais. Os dados experimentais apresentados mostram que a porcentagem de conversão dos AGL variou de 2,07% (Ensaio 1) a 37,33% (Ensaio 7). Os valores experimentais e preditos da variável resposta avaliada neste estudo (porcentagem de conversão) foram bastante semelhantes, mostrando que o modelo proposto pode ser usado para descrever a relação entre as variáveis independentes avaliadas e a resposta. Utilizando os dados experimentais apresentados na Tabela 1 e o software Protimiza Experimental Design, foi possível avaliar o efeito da variação dos parâmetros investigados na reação.

Na Tabela 2, verifica-se que a média, os termos lineares de temperatura (x2) e concentração de biocatalisador (x3) e a interação razão molar AGL:solketal e temperatura de reação (x1.x2) apresentaram influência significativa na produção dos ésteres de EG ao nível

de 95% de confiança. Entretanto, o termo linear da razão molar AGL:solketal (x_1), termos quadráticos dos parâmetros avaliados (x_1^2 , x_2^2 , x_3^2) e as interações entre razão molar AGL:solketal e concentração de biocatalisador ($x_1.x_3$) e temperatura de reação e concentração de biocatalisador ($x_2.x_3$) não foram estatisticamente significativos ($p > 0,05$) e excluídos do modelo.

Tabela 1 – Matriz DCCR para a avaliação de parâmetros na esterificação dos AGL com solketal catalisada por ET2.0 imobilizada em partículas do epicarpo da macaúba.

Ensaio	Variáveis independentes Valores codificados (Reais)			Variável resposta Conversão (%)	
	Razão molar AGL:solketal	Temperatura (°C)	Biocatalisador (% m.m ⁻¹)	Experimental	Predito
1	-1 (1:1,6)	-1 (46)	-1 (8)	2,07	2,81
2	+1 (1:3,4)	-1 (46)	-1 (8)	3,41	5,56
3	-1 (1:1,6)	+1 (64)	-1 (8)	18,24	13,88
4	+1 (1:3,4)	+1 (64)	-1 (8)	21,58	19,76
5	-1 (1:1,6)	-1 (46)	+1 (17)	35,32	35,63
6	+1 (1:3,4)	-1 (46)	+1 (17)	16,67	19,52
7	-1 (1:1,6)	+1 (64)	+1 (17)	37,33	33,36
8	+1 (1:3,4)	+1 (64)	+1 (17)	22,93	20,67
9	-1.68 (1:1)	0 (55)	0 (12,5)	14,15	17,56
10	+1.68 (1:4)	0 (55)	0 (12,5)	10,23	8,95
11	0 (1:2,5)	-1.68 (40)	0 (12,5)	24,15	19,82
12	0 (1:2,5)	+1.68 (70)	0 (12,5)	23,63	30,10
13	0 (1:2,5)	0 (55)	-1.68 (5)	3,28	4,50
14	0 (1:2,5)	0 (55)	+1.68 (20)	31,96	32,87
15	0 (1:2,5)	0 (55)	0 (12,5)	20,98	19,46
16	0 (1:2,5)	0 (55)	0 (12,5)	22,30	19,46
17	0 (1:2,5)	0 (55)	0 (12,5)	17,84	19,46
18	0 (1:2,5)	0 (55)	0 (12,5)	17,10	19,46

Tabela 2 – Coeficiente de regressão, erro padrão e valores de p para os parâmetros significativos na produção enzimática de ésteres de solketal.

Parâmetro	Coeficiente de regressão	Erro padrão	p
Média	19,46	2,15	0,0000 ^a
x_1	-2,56	1,17	0,0597
x_1^2	-2,19	1,21	0,1083
x_2	3,06	1,17	0,0308 ^a
x_2^2	1,94	1,21	0,1481
x_3	8,43	1,17	0,0001 ^a
x_3^2	-0,27	1,21	0,8270
$x_1.x_2$	0,78	1,53	0,6225
$x_1.x_3$	-4,72	1,53	0,0149 ^a
$x_2.x_3$	-3,26	1,53	0,0652

x_1 , x_2 , e x_3 são razão molar AGL:solketal, temperatura e concentração de biocatalisador. a:

parâmetros significativos a 95% do nível de confiança.

Os coeficientes de regressão dos parâmetros significativos reportados na Tabela 2 foram utilizados para compor a Eq. (2) que expressa o efeito das variáveis significativas na conversão (resposta) em termos codificados:

$$Y(\%) = 19,46 + 3,06x_2 + 8,43x_3 + 4,72x_1 \cdot x_2 \tag{2}$$

Em que: Y é a porcentagem da conversão dos AGL, x_1 , x_2 e x_3 representam os valores codificados de razão molar AGL:solketal, temperatura de reação e concentração do biocatalisador, respectivamente.

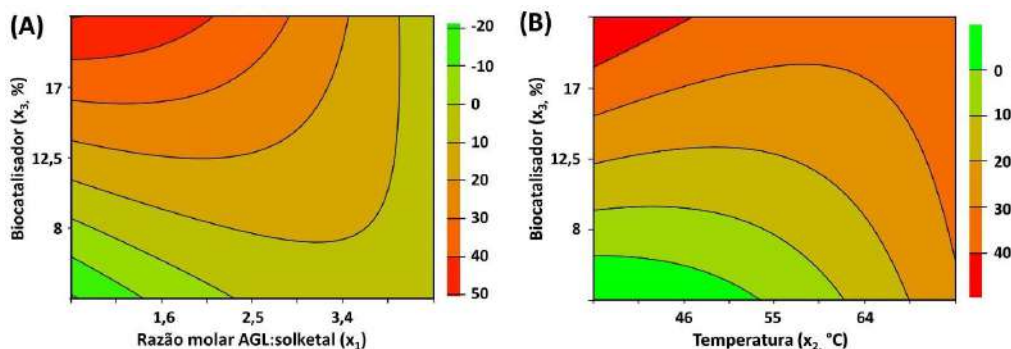
Tabela 3 – Análise de variância (ANOVA).

Fonte de variação	Soma dos quadrados	Grau de liberdade	Media quadrática	Teste - F
Regressão	1594,2544	9	177,14	9,51
Residual	149,0225	8	18,63	
Falta de Ajuste	130,4886	5	26,10	4,22
Erro Puro	18,5339	3	6,18	
Total	1743,2768	17		

$R^2=0,9145$; $F_{0,05;9;8}=3,39$

A análise de variância – ANOVA (Tabela 3) mostra que o valor de R^2 do modelo proposto foi utilizado para demonstrar a sua adequação. O valor encontrado foi de 91,45%. A adequação do modelo também foi confirmada pelo teste F de Fisher – o valor $F_{calculado}$ (9,51) foi quase 3 vezes maior que o valor $F_{tabelado}$ ao nível de significância de 5% (3,39), mostrando assim a sua significância. Portanto, estes resultados mostram que o modelo proposto pode ser usado para prever e explorar as superfícies de contorno para determinar as condições ótimas de reação (Figura 1(A) – (B)).

Figura 1 – Superfícies de contorno para a produção enzimática de ésteres de solkétala. Efeito da concentração de biocatalisador e razão molar AGL:solketal (A) e concentração de biocatalisador e temperatura de reação (B) na porcentagem de conversão dos AGL.



A Figura 1 (A) mostra o efeito da razão molar AGL:solketal e da concentração do biocatalisador e sua interação na reação. Foi observado um aumento na porcentagem de conversão dos AGL com o aumento da concentração de biocatalisador de $5\% \text{ m.m}^{-1}$ (valor codificado = $-1,68$) para 20 m.m^{-1} (valor codificado = $+1,68$). Isto é devido ao aumento de sítios catalíticos existentes no meio de reação (SABI *et al.*, 2022). O maior valor do coeficiente

reportado na Eq. (2) foi obtido para o termo linear da concentração do biocatalisador (+8,43x3), mostrando seu efeito positivo e significativo na produção de ésteres. Além disso, estes resultados mostram que a conversão máxima de AGL pode ser obtida usando razão estequiométrica – 1:1 (valor codificado = –1,68) de materiais de partida e com um ligeiro excesso de solketal no meio de reação – razão molar AGLs:solketal de 1:1,6 (valor codificado = –1). A interação entre estes parâmetros não foi significativa ao nível de confiança de 95%. Um aumento na temperatura melhora positivamente a miscibilidade das matérias-primas e reduz a viscosidade da mistura de reação. Portanto, é esperado um aumento dos efeitos de transferência de massa de materiais de partida para o microambiente do biocatalisador (SABI *et al.*, 2022). Conforme pode ser observado na Figura 1(B), máxima produção do éster pode ser alcançada em condições brandas de reação, entre 40 °C (valor codificado = –1,68) e 46 °C (valor codificado = –1). Também é possível notar que a porcentagem máxima de conversão dos AGL pode ser alcançada acima de 17% m.m⁻¹ de biocatalisador (valor codificado ≥ +1). A interação entre esses dois parâmetros individuais também não foi significativa ao nível de confiança de 95%. Com base nestes resultados, máxima conversão dos materiais de partida em ésteres pode ser alcançada com concentração de biocatalisador acima de 17% m.m⁻¹ (valor codificado ≥ +1) e temperatura entre 40°C e 46°C (valor codificado ≤ –1).

Na validação do planejamento proposto, foi realizado um ensaio para a produção dos ésteres de solketal empregando razão molar AGLs:solketal de 1:1,6 (valor codificado = –1), concentração de biocatalisador acima de 17% m.m⁻¹ (valor codificado ≥ +1) e temperatura de reação de 46°C (valor codificado ≤ –1). Estas condições reacionais são as mesmas empregadas no Ensaio 5 descrito na Tabela 1 que obteve elevada porcentagem de conversão, muito similar ao ensaio 7 que apresentou o máximo valor da variável resposta. Nestas condições, os valores experimental e predito (teórico, determinado pela Eq. (2)), foram da ordem de 35%, na qual confirmam a adequação do modelo proposto para a etapa de esterificação.

4 CONCLUSÃO

Este estudo mostrou claramente que o biocatalisador heterogêneo preparado a partir de um material lignocelulósico (epicarpo de macaúba) é altamente ativo na reação de esterificação conduzidas em condições experimentais moderadas. Este é um aspecto relevante do processo proposto, uma vez que possui baixa demanda energética para a produção de uma importante classe de compostos oleoquímicos (ésteres de solketal). O desenvolvimento de um processo eficiente e sustentável utilizando um óleo residual como matéria-prima e um resíduo de biomassa lignocelulósica como suporte para a imobilização da lipase pode ser uma alternativa promissora para a indústria química. Novos estudos serão realizados em nosso grupo de pesquisa visando a aplicação de ésteres de solketal como plastificantes para a produção de filmes flexíveis de materiais poliméricos.

AGRADECIMENTOS

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) – Código de Financiamento 001. Os autores também agradecem à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais – FAPEMIG (Processo APQ-01691-21) pelo suporte financeiro. A.A.M. também agradece o Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – CNPq (Processo 306253/2023-2) pela sua bolsa PQ 2 – CA BI.

REFERÊNCIAS

BARBOSA, S.L.; LIMA, P.C.; DOS SANTOS, W.T.P.; KLEIN, S.I.; CLOSOSKI, G.C.;

CAIRES, F.J. Oxygenated biofuels: Synthesis of fatty acid solketal esters with a mixture of sulfonated silica and (Bu₄N) (BF₄) catalyst. **Catalysis Communications**, v. 120, p. 76-79, 2019.

BOLIVAR, J.M.; WOODLEY, J.M.; FERNANDEZ-LAFUENTE, R. Is enzyme immobilization a mature discipline? Some critical considerations to capitalize on the benefits of immobilization. **Chemical Society Reviews**, v. 51, p. 6251-6290, 2022.

BRADFORD, M.M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical Biochemistry**, v. 72, p. 248-254, 1976.

KENAR, J.A.; KNOTHE, G. 1,2-isopropylidene glycerol carbonate: Preparation, characterization, and hydrolysis. **Journal of the American Oil Chemist's Society**, v. 85, p. 365-372, 2008.

MARIAM, N.M.D.N.S.; HOONG, S.S.; ARNIZA, M.Z.; ADNAN, S.; ISMAIL, T.N.M.T.; YEONG, S.K.; YUSOP, M.R. Optimisation of reaction parameters for the synthesis of solketal levulinate as potential biodiesel additive. **Journal of Oil Palm Research**, v. 34, p. 524-534, 2022.

MENDOZA-ORTIZ, P.A.; GAMA, R.S.; GÓMEZ, O.C.; LUIZ, J.H.H.; FERNANDEZ-LAFUENTE, R.; CREN, E.C.; MENDES, A.A. Sustainable enzymatic synthesis of a solketal ester - Process optimization and evaluation of its antimicrobial activity. **Catalysts**, v. 10, p. 218, 2020.

NEAMTU, C.; STEPAN, E.; PLESU, V.; BOZGA, G.; TULUC, A. Synthesis and characterization of new solketal alkylesters usable as diesel biobased fuel additives. **Revista de Chimie**, v. 70, p. 1167-1172, 2019.

PEROSA, A.; MORASCHINI, A.; SELVA, M.; NOÈ, M. Synthesis of the fatty esters of solketal and glycerol-formal: Biobased specialty chemicals. **Molecules**, v. 21, p. 170, 2016.

SABI, G.J.; GAMA, R.S.; FERNANDEZ-LAFUENTE, R.; CANCINO-BERNARDI, J.; MENDES, A.A. Decyl esters production from soybean-based oils catalyzed by lipase immobilized on differently functionalized rice husk silica and their characterization as potential biolubricants. **Enzyme and Microbial Technology**, v. 157, p. 110019, 2022.

SANKARANARAYANAN, S.; JINDAPON, W.; NGAMCHARUSSRIVICHAI, C.. Valorization of biodiesel plant-derived products via preparation of solketal fatty esters over calcium-rich natural materials derived oxides. **Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers**, v. 81, p. 57-64, 2017.

SULTANOVA, R.M.; KHUSNUTDINOVA, N.S.; BORISOVA, Y.G.; RASKILDINA, G.Z.; MESHCHERYAKOVA, S.A.; SAMORODOV, A.V.; ZLOTSKY, S.S. Selective synthesis of some carboxylic acids esters. **Russian Journal of General Chemistry**, v. 93, p. 1-7, 2023.

YANG, J.; MA, W.J.; LI, N.; ZHOU, J.H.; SUN, H.Z. Synthesis of tung oil monoglyceride. **Advanced Materials Research**, v. 941-944, p. 1021-1025, 2014.



PROMOÇÃO DE CRESCIMENTO DE TOMATE CEREJA POR ISOLADOS DE BACILLUS SP.: UMA ANÁLISE DA GERMINAÇÃO E DESENVOLVIMENTO

LAURA ARAÚJO CECCATO; LUIZA FONSECA BONATTO; LUCIANA BAVARESCO ANDRADE TOUGUINHA; JOSÉLI SCHWAMBACH

Introdução: A cultura do tomate cereja vem se mostrando cada vez mais relevante no mercado nacional e internacional. Para otimizar a produtividade e ainda atender à demanda por produtos livres de resíduos, as alternativas aos fertilizantes químicos, como os biofertilizantes à base de microrganismos, despertam interesse. **Objetivo:** Este trabalho teve como objetivo avaliar a ação de duas bactérias de solo, *Bacillus* sp. S20 e *Bacillus* sp. S25 sobre a germinação de sementes e promoção de crescimento de mudas de tomate cereja. **Materiais e Métodos:** Foram realizados dois ensaios com sementes microbiolizadas. No processo de microbiolização foram utilizadas suspensões dos isolados bacterianos de 1×10^8 UFC/mL e água destilada estéril para o tratamento controle. As sementes permaneceram imersas nos tratamentos durante uma hora em agitação e foram filtradas. No ensaio de germinação *in vitro* dez sementes foram dispostas em placas de Petri com papel filtro umedecido com água destilada que permaneceram em sala de cultivo a 25 °C e fotoperíodo de 16 horas, o ensaio foi realizado em triplicata, a taxa de germinação avaliada a partir do 3° dia e comprimento de parte aérea e raiz no 7° dia. Para o ensaio *in vivo* as sementes foram cultivadas em vasos de 50 mL com substrato estéril, com trinta mudas por tratamento. As plantas foram mantidas em sala de cultivo a 25 ± 2 °C, 50 % de umidade e fotoperíodo de 16 horas. Foi avaliado o comprimento da parte aérea e diâmetro do caule semanalmente após o plantio, além do comprimento da raiz e peso seco da parte aérea e raiz ao 28° dia. **Resultados:** No ensaio *in vitro* não houve diferença significativa quanto a taxa de germinação e foi observada uma redução de parte aérea e raiz pelo isolado S25. No ensaio *in vivo* o comprimento de parte aérea e raiz e diâmetro do caule se igualaram ao controle. O peso seco da parte aérea com S20 se equiparou ao controle, havendo uma redução no peso seco da raiz com ambos os isolados. **Conclusão:** O isolado *Bacillus* sp. S20 se mostra promissor para a promoção de crescimento em tomate cereja.

Palavras-chave: Bioagente, Solo, Bactéria promotora de crescimento de plantas, Microbiolização, Semente.



PROSPECÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE PROTEÍNAS DE DEFESA DE LYCOPERSICUM ESCULENTUM VAR. YOSHIMATSU EM RESPOSTA À MURCHA BACTERIANA

FABIANA APARECIDA CAVALCANTE SILVA; FÁBIO DE SOUZA ESTEVES COURA FILHO; BIANCA GALÚCIO PEREIRA ARAÚJO; JOSE LUIS SANDES; TERCILIO CALSA JUNIOR

Introdução: O tomateiro (*Solanum lycopersicum* L.) produz o fruto mais consumido mundialmente – o tomate, sendo cultivado em praticamente todas as regiões geográficas do planeta. Possui importância econômica, nutricional e científica. No Brasil, o Nordeste desempenha um papel significativo, com destaque para o estado de Pernambuco, que contribui com 13,3% da produção nacional. A fitobactéria *Ralstonia pseudosolanacearum* (Rp) causa a Doença da Murcha bacteriana, que afeta o sistema vascular das plantas e provoca o colapso dos tecidos. **Objetivo:** O presente trabalho visa avaliar o proteoma foliar diferencial da cultivar de tomate Yoshimatsu (resistente) em resposta à inoculação com Rp e identificar biomarcadores funcionais envolvidos com os mecanismos de defesa da planta.

Materiais e Métodos: Foi realizada a extração das proteínas solúveis totais utilizando método fenólico, seguido de injeção em espectrômetro de massas nano-LC-MS/MS. A análise dos espectros obtidos e identificação das proteínas foi realizado no software Maxquant, e a caracterização das proteínas diferencialmente acumuladas entre os tratamentos controle e inoculado, com auxílio dos softwares ShinyGo e Perseus. A categorização por ontologia gênica no uniprot e AmiGO.

Resultados: A análise proteômica foliar revelou um total de 1385 proteínas, das quais 38 estiveram diretamente relacionadas aos mecanismos de defesa do tomateiro Yoshimatsu quando atacado por Rp. As proteínas selecionadas foram classificadas em três grupos: Resposta a estresses, resposta de defesa e remoção de radicais superóxidos. Foram identificadas proteínas exclusivamente acumuladas em Yoshimatsu durante a infecção. São elas: peroxidase (A0A3Q7H0U0), peroxidase tioredoxina 1 (Q7Y240) e proteína dissulfido-isomerase (A0A3Q7HIP9). Trata-se de enzimas envolvidas com a detoxificação de radicais superóxidos, evidenciando uma possível tentativa da planta para reduzir as EROs, além de contribuir com termotolerância e mecanismo de sinalização das plantas contra ação de patógenos. Dentre as proteínas relacionadas à defesa destaca-se as Anexinas, que participam da regulação do cálcio e da membrana plasmática. **Conclusão:** Esses resultados fornecem novos insights sobre os mecanismos de resistência à murcha bacteriana em tomateiros e contribuem para o melhoramento genético, visando selecionar genótipos mais resistentes e produtivos.

Palavras-chave: Estresse biótico, Lc-msms, Resistômica, *Solanum lycopersicum*, Proteômica.



REVISÃO INTEGRATIVA DE DADOS SOBRE O IMUNOBIOLOGICO ADALIMUMABE E SUAS AÇÕES FARMACODINÂMICA E CINÉTICA NO TRATAMENTO DE DOENÇAS AUTOIMUNES

ALBERTO ANDRADE LEITE; ITAMAR SOUZA DE OLIVEIRA JUNIOR

RESUMO

Introdução: O biofármaco adalimumabe é um anticorpo monoclonal humano recombinante anti-fator de necrose tumoral alfa (TNF-alfa), desenvolvido a partir de inovações biotecnológicas em células de ovário do hamster chinês (*Cricetulus griséus*). É indicado no tratamento clínico de algumas comorbidades infecciosas autoimunes, a exemplo da hidradenite supurativa, singularmente ou associado com outras medicações. **Objetivo:** Identificar na literatura artigos relatando o uso do adalimumabe, utilizado na regressão e cura de doenças infecciosas, as quais os tratamentos convencionais não apresentaram respostas positivas, a exemplo, dos casos moderados e graves da hidradenite supurativa. **Materiais e Métodos:** Trata-se de uma pesquisa de revisão de literatura integrativa de dados abordando as características do adalimumabe e sua utilização no tratamento de uma série de doenças autoimunes sem respostas aos tratamentos convencionais. Os artigos escolhidos, integram plataformas como: PubMed; Scielo; Biblioteca Bireme, legislações oficiais e livros referentes ao tema. Para a construção da revisão literária integrativa foram estabelecidos critérios de inclusão e exclusão de acordo com o objetivo. **Resultados:** Foram examinados 35 artigos e documentos, desses, 11 foram excluídos totalmente por não estarem dentro dos critérios de inclusão estabelecidos. Dos 24 artigos e documentos restantes, foram aceitos 12 artigos para compor a tabela dos resultados e discussões e os artigos e documentos restante auxiliaram nas referências textuais. **Conclusão:** Atualmente os biofármacos se tornaram uma grande fonte de inovação da indústria de pesquisas médicas farmacêuticas e o adalimumabe têm se apresentando como uma possibilidade medicamentosa sustentável complementar quando associado a outras já utilizadas para o tratamento de doenças infecciosas autoimunes, a exemplo da hidradenite supurativa (acne invertida).

Palavras-chave: Medicamento Imunobiológico; Adalimumabe; Comorbidade; Infecção das Glândulas Sudoríparas Apócrinas; Medicamento Sustentável Complementar.

1 INTRODUÇÃO

Os medicamentos, biofármacos ou imunobiológicos, ao contrário dos medicamentos produzidos por síntese química, são desenvolvidos por biossínteses. Na atualidade, esses medicamentos representam uma fonte de inovação promissora das indústrias farmacêuticas, viabilizando a solução para inúmeras comorbidades infecciosas autoimunes, até então não tratadas eficazmente com as terapias tradicionais. Na elaboração fármaco-química desses medicamentos, são utilizadas técnicas, a exemplo da manipulação de ácido desoxirribonucleico (DNA) recombinante e a utilização dos hibridomas (linhagens celulares desenvolvidas para produzir um anticorpo desejado em grande quantidade), entre outras inovações biotecnológicas. (BRITTO, 2012; REIS *et al*, 2010).

Com o DNA recombinante elaboram-se ensaios, os quais permitem alterar a constituição genética das células, iniciando com a modificação estrutural de uma célula

eucarionte extraída de cobaias murínicas, a exemplo das células extraídas de ovários (CHO) de Hamster Chinês, ou ainda a partir da modificação genética em procariontes, como as leveduras (*Saccharomyces cerevisiae*) e bactérias (*Escherichia coli*). As técnicas foram desenvolvidas utilizando processos de conservação, replicação e purificação em condições ideais de crescimento em biorreatores, atingindo a produção da proteína heteróloga ou, proteína recombinante. O medicamento imunobiológico finalizado é injetado no humano e chega ao sítio pretendido (células doentes), onde manifestará a ação terapêutica, poupando o máximo de células sadias em um sistema. Já na técnica dos hibridomas, são utilizados anticorpos monoclonais derivados de um único clone de linfócitos B com atividade contra um epítipo de um determinado antígeno, ou seja, células híbridas é a fusão de células selecionadas extraídas do baço de camundongos imunizados com antígenos a células de mieloma (plasmócitos), produzindo o anticorpo desejado em grande quantidade. (BRITTO, 2012; REIS *et al*, 2010).

Em um conceito geral, os biofármacos em sua maioria são produzidos por biossíntese em células vivas, utilizando-se de cultura de organismos geneticamente modificados (os chamados OGMs). Portanto, os estudos que utilizam a expressão em proteínas heterólogas, a exemplo das extraídas de CHO, apresentam maior vantagem em relação às técnicas utilizando-se de leveduras e bactérias. Isto ocorre devido aos processos pós-traducionais (glicosilação de proteínas), além de apresentar semelhança aos processos proteicos que ocorrem em proteínas humanas normais, além da facilidade de se trabalhar com meios de cultura para se obter a purificação da proteína. Temos como exemplo, a utilização do meio de cultura de soro fetal bovino, que propicia facilidade ao crescimento celular e atenuação nos custos durante o processo. Também apresenta a facilidade do cultivo em biorreator em suspensão, além das técnicas bem estabelecidas de transfecção e clonagem. (KLUG *et al*, 2010). A desvantagem desde processo só diz respeito a dinâmica mais laboriosa em relação as metodologias de modificações genéticas utilizando bactérias e leveduras, a exemplo da *Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats* (CRISPR), ressaltando que ambas as técnicas implicam em alto custo para serem produzidas. (KLUG *et al*, 2010; PRIVATO *et al*, 2020; ELLIS, 2012). A expressão heteróloga em células de mamíferos pode ser estável, quando DNA recombinante se integra ao cromossomo da célula hospedeira tornando-a permanente ou transiente, porém quando o DNA recombinante não se integra ao cromossomo da célula hospedeira, a expressão tornando-se temporária por dias ou semanas. (KLUG *et al*, 2010).

O foco de todo trabalho no desenvolvimento dos biofármacos é pensado para atender e dar maior suporte a saúde humana. Eles são utilizados para diversas aplicações e produtos na medicina, a exemplo das vacinas preventivas e terapêuticas, do desenvolvimento de substâncias terapêuticas de base biotecnológica, a exemplo das proteínas recombinantes, anticorpos monoclonais para uso terapêutico e versões recombinantes de hemoderivados, além de reagentes e *kits* utilizados em diagnósticos de análises clínicas. (BRITTO, 2012; PRIVATO *et al*, 2020).

Exemplificando a produção dos imunobiológicos, temos o adalimumabe, o qual é um anticorpo monoclonal humano recombinante expresso em células CHO, anti-fator TNF-alfa. A ação química/biológica desde medicamento ocorre quando há ligação específica ao TNF-alfa, neutralizando sua função inflamatória, ou seja, sua interação com os receptores TNF, p55 e p75 da superfície celular, além de modular as respostas biológicas induzidas ou reguladas por ele, incluindo as alterações dos níveis das moléculas de adesão *ELAM-1*, *VCAM-1* e *ICAM-1* responsáveis pela migração (diapedese), leucocitária. É indicado em terapias isolada ou associado com outras medicações utilizadas em diversas comorbidades, a exemplo da artrite idiopática juvenil poliarticular, da artrite relacionada com entesite, da psoríase pediátrica em placas e em doença de Crohn pediátrica, de acordo com cada caso

diagnosticado, inclusive no tratamento farmacológico da hidradenite supurativa (HS), ou, acne invertida, a qual é reconhecida como uma doença devastadora para seus portadores, portanto, a utilização deste imunobiológico no tratamento da HS e outras doenças autoimunes, tem sido promissor. A de ressaltar que a clínica médica especializada, fez uso de outros imunobiológicos, a exemplo de infliximabe, porém não obteve sucesso farmacorapêutico desejados. (FREW, 2020; KIMBALL *et al*, 2015; JEMEC, 2012; JEMEC *et al*, 2014; ABBVIE, 2023; OBADI *et al*, 2009; TORRES *et al*, 2010).

A HS está associada a distúrbios endócrinos, anormalidades imunológicas e hereditariedade (susceptibilidade genética), causando processos inflamatórios leves, moderados ou graves. Atinge glândula sudoríparas responsáveis pela transpiração nos humanos, porém às apócrinas das regiões axilares, perianal, aureola das mamas e genital, são as mais afetadas. As glândulas apócrinas iniciam suas atividades na puberdade e é neste período que poderá dar indícios manifestando a predisposição a HS. Outras opções de manifestações ou agravamento da doença na população com predisposição, é o uso incorreto de produtos cosméticos destinados a hidratação da pele, adesão à maus hábitos de higiene pessoal, além do uso de produtos depilatórios. É importante ressaltar, que a manifestação da HS apresenta maior prevalência de casos em mulheres (ELLIS, 2012; SILVA JÚNIOR *et al*, 2016; REVUZ, 2009; KAGAN *et al*, 2005; SCHMITT *et al*, 2012).

Em seu desenvolvimento em casos leves, moderados e graves, a HS poderá apresentar nódulos subcutâneos com formação de abscessos, ou com sua evolução, fistulas, cravos, fibrose, contraturas dérmicas e endurecimento da pele, manifestando sensação de dor, alta sensibilidade no local, além do odor, sintomas que prejudicam na qualidade de vida. (FREW, 2020; ALIKHAN *et al*, 2009). A forma aguda da doença, envolvendo casos leves e a abordagem profilática é a combinação de antibióticos em cremes tópicos, porém na maioria dos casos quanto se cessa o uso desses cremes, ocorre a reincidência de irritação da pele e da doença. (ELLIS, 2012). Na forma crônica envolvendo casos moderados e graves, apresenta protuberâncias epidérmicas graves e inviabiliza as diversas opções de terapêuticas empregadas nos casos leves e uma das opções adotadas para os tratamentos, são intervenções cirúrgicas. (FARDET *et al*, 2007; OBADI *et al*, 2009; GEE *et al*, 2000; DANBY *et al*, 2010; VELASCO *et al*, 2009).

As queixas mencionadas anteriormente sobre a HS, ganham relevâncias semiológicas em relação a outras doenças que causam manifestações cutâneas, impulsionando aos estudos, procurando por soluções para todos os casos. (GEE *et al*, 2000; DANBY *et al*, 2010; LEAL *et al*, 2021). Na anamnese dos casos positivos de HS, a clínica médica dermatológica faz uso da avaliação através da classificação de *Hurley*, dividindo-os em estádios I, II e III. (Classificação de *Hurley*, separa casos em 3 grupos baseados na presença e extensão (estádio) de cicatriz e tratos sinusais). (REVUZ, 2009; ALIKHAN, 2009).

Fatores como segurança, eficiência e eficácia do adalimumabe foram avaliados em estudos randomizados controlados (HS-I e HS-II) publicados no *The New England Journal of Medicine* em 2012, com a participação de doentes adultos em progressão de casos moderados a graves. Esses apresentavam intolerâncias, ou eram contraindicados, ou com uma resposta inadequada a menos de 3 meses de antibioterapia sistêmica. Os doentes de ambos os estudos apresentavam doença em estágio II ou III de *Hurley*, com ocorrência casual de até 3 abscessos ou nódulos inflamatórios. Ao final do estudo, os pacientes apresentaram significativa melhoras. (KIMBALL *et al*, 2015; JEMEC, 2012; JEMEC *et al*, 2014; JAMEC *et al*, 2019).

À farmacêutica *ABBVIE Bioresearch Center*, amparou os estudos randomizados controlados de fase III demonstrando a segurança e eficaz do adalimumabe no tratamento da HS. Foram submetidos três ensaios: PIONEER I (M11-313), PIONEER II (M11-810) e PIONEER OLE (M12-555), além dos dois estudos de Fase III, (M11-313 e M11-810), os quais incluíram os seguintes critérios de inclusão: Presença de lesões em pelo menos duas

áreas anatômicas distintas durante pelo menos 365 dias; Uma das áreas estar no estágio II ou III de *Hurley*; Apresentar sintomas estáveis durante o período de 60 dias antes do rastreamento; Ter apresentado resposta inadequada a um antibiótico oral utilizado no tratamento da HS, ou intolerância demonstrada, ou ainda ter uma contraindicação, a antibióticos orais durante o tratamento e, apresentar uma contagem de abscessos e nódulos inflamatórios de ≥ 3 na consulta médica durante um período de 3 meses. Também nesses estudos, comparou-se pacientes que usaram o adalimumabe com pacientes que usaram placebos, tendo como conclusão, o sucesso do tratamento com o adalimumabe. (JEMEC *et al*, 2014; JAMEC *et al*, 2019; ABBVIE, 2023).

O objetivo desta revisão é identificar na literatura científica artigos relatando o uso do imunobiológico adalimumabe, sua ação farmacológica, cinética e dinâmica para auxiliar na regressão e/ou cura dos casos moderados e graves de doenças autoimunes, a exemplo da HA.

2 MATERIAIS E MÉTODOS

Trabalho de revisão realizado através da busca de conteúdos literários em artigos em língua portuguesa, inglesa e espanhola, nas bases de dados como: PubMed (base de dados Medline), Scielo (*Scientific Electronic Library Online*; APES); Bireme (Biblioteca Regional de Medicina), legislações oficiais e livros referentes ao tema. A pesquisa ocorreu no período de Março de 2022 a Janeiro de 2023. Para a construção da pesquisa literária foram considerados artigos que datam de 2009 a 2020 e os seguintes critérios:

- a) **Critérios de inclusão:** *in vivo* e *in vitro*;
- b) **Critérios de exclusão:** Excluídos os artigos que não atenderam o objetivo proposto; Artigos que fora dos idiomas de busca; ou que foram publicados antes do ano de 2009.

A busca total no período, resultou em 35 artigos e documentos. Desses, 11 foram excluídos totalmente por não estarem dentro dos critérios de inclusão e exclusão estabelecidos. Foi realizada leitura na íntegra dos 24 artigos e documentos restantes e após esta seleção, foram utilizados 12 artigos para compor a tabela dos resultados, os quais responderem o objetivo proposto e, o restante dos demais artigos e documentos auxiliaram nas referências textuais.

Para síntese e análise do material foram realizados os seguintes procedimentos: a) Leitura informativa ou exploratória, que constitui a leitura do material para saber do que se tratavam os artigos;

b) Leitura seletiva, que se preocupou com a descrição e seleção do material quanto a sua relevância para o estudo e c) Leitura crítica e reflexiva que buscou por meio dos dados a construção dos resultados encontrados, e por fim os dados mais relevantes foram agrupados em temáticas.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Principais dados referentes aos documentos e artigos selecionados para a revisão integrativa da literatura. 12 publicações selecionadas para o estudo: Anos de 2009 a 2020.

*Autores e títulos	*Ano e local	Materiais e Métodos	Resumo dos principais resultados realizados pelos autores	Resumo das conclusões ou Considerações finais realizados pelos autores.
Britto, A.	2012	Estudo Clínico	Os medicamentos biológicos; Nova dinâmica no mercado farmacêutico global.	Os medicamentos biológicos representam um dos mais importantes avanços da ciência para a expansão de tratamentos de doenças autoimunes, levando esperanças e novas perspectivas.

REIS, C <i>et al.</i>	2010	Estudo Clínico	A indústria farmacêutica nacional empenhada na produção de medicamentos biológicos. O SUS responde pelos gastos em grande parte.	O presente artigo busca reunir elementos para orientar a atuação do BNDES em relação a indústria farmacêutica brasileira produtora de imunobiológicos.
SILV A, JÚNIO R <i>et al.</i>	2016	Caso clínico e cirúrgico	Estudo realizado com 6 pacientes com HS (dois homens e quatro mulheres), submetidos à cirurgia e observados durante 16 meses, em média (intervalo: 4 meses - 5 anos). Todos submetidos a cirurgia em lesão inguinal. A resolução completa foi alcançada e nenhuma recorrência	A cirurgia é frequentemente o tratamento definitivo mais adequado para a HS nos casos moderados e graves. A técnica de retalho fasciocutâneo torácico lateral está associada a altas taxas de sucesso nesta população de doentes.
SCHMITT, J V <i>et al.</i>	2012	Estudo piloto tipo *caso-controle	HS, doença inflamatória crônica debilitante de etiologia parcialmente compreendida. Pesquisa: Associações com tabagismo, índice de massa corporal, história familiar e contraceptivos.	A presença de fatores de risco relatados em relação à HS associando ao uso regular de hormônio contraceptivo por mulheres poderá prevenir o desenvolvimento ou persistência de HS. Requer maiores estudos.
REVUZ, J. .	2009	Relato de estudos de casos	HS, definida por suas características e sua cronicidade. Tratamentos e cirurgia.	A HS é uma doença órfã não pela sua raridade, por falta de conhecimento dos médicos. Os tratamentos até o momento não são curativos - exceto cirurgia ampla que pode ser feito apenas para casos muito graves.
OBADIA, D.L. <i>et al.</i>	2009	Estudo de caso	HS, doença inflamatória de difícil tratamento. A terapia anti TNF alfa, com anticorpos monoclonais, tem sido apontada como uma alternativa no tratamento.	O uso do infliximabe para o tratamento da HS não é uma garantia de sucesso. Requer mais estudos controlados com maior número de pacientes.
DANBY, F.W <i>et al.</i>	2010	Estudo de caso.	Foram adotados critérios para a realização deste estudo, tomando como base as lesões típicas, topografia típica e cronicidade e recorrências da HS.	HS é caracterizada por nódulos subcutâneos profundos, dolorosos que se rompem horizontalmente sob a pele e depois tendem a se alastrar subcutaneamente. 90% dos pacientes em um estudo tiveram a doença no período adolescente.
JEMEC, G.B. <i>et al.</i>	2012	Estudo de caso	O manejo da HS precisa observar a gravidade da doença. O estudo trabalhou com casos leves (estádio I), casos moderados (estádio II) e graves (estádio III),	Protocolo com perspectiva de bom resultado em tratamento de paciente em estágio II com o uso de clindamicina e rifampicina, 300 mg duas vezes ao dia por 6 meses. Requer maiores estudos comparando outros tratamentos em

			elucidando as possíveis terapias farmacológicas.	ensaios clínicos randomizados.
VELA SCO, A.L. <i>et al.</i>	2009	Estudo de caso	HS, doença pilonidal (ninho de cabelo), foi descrita pela primeira vez por O. H. Mayo em 1833, descrita na carta A. W. Anderson ao editor do Boston Medical Surgical Journal of 1847 e descritas semiologicamente por Hodges em 1880.	A doença pilonidal é um problema comum que afeta adultos jovens. Sua apresentação clínica varia de uma simples fossa cutânea interglútea com sintomas mínimos a uma complexa infecção nos tecidos subcutâneos da área sacral com múltiplos seios e uma abertura secundária. Aqui foi abordado sobre a epidemiologia, etiologia, apresentação clínica e tratamento cirúrgico.
TORRES, T. <i>et al.</i>	2010	Estudo de caso	Utilização do infliximabe no tratamento da HS grave, após insucesso de terapias sistêmicas.	Relativa perspectiva de melhoras e regressão. São necessários mais estudos controlados e com um maior número de doentes em situações similares.
KIMBALL, A. <i>et al.</i>	2015	Estudo multicêntrico de fase 3 da	Medicamentos: Adalimumabe – uso primário. Indicações: Hidradenite supurativa. Patrocinadores: Abbott Laboratórios; AbbVie. Fase 3: Segurança e eficácia do adalimumabe	Estudos PIONEER I, II e III resultou em análises descritas em tabela abordando a eficácia do adalimumabe versus placebos, além da avaliação da estratégia de dosagem de manutenção ideal a médio prazo em HS moderada a grave.
JEMEC, G.B.E. <i>et al.</i>	2019	Estudo de caso	Estudos PIONEER I e II relatando as estratégias de tratamento da HS com adalimumabe.	Os pacientes individuais apresentam flutuações em sua resposta ao tratamento. Neste trabalho foi observado uma redução sistemática em cada período da terapia.

***Títulos e locais das publicações, estão detalhados nas referências.**

Os biofármacos são fontes de inovações para as pesquisas biomédicas nas intervenções das doenças autoimunes. Suas ações terapêuticas, auxiliam na reversão ou mesmo na cura. No Brasil, o Sistema Único de Saúde (SUS) responde pela compra e distribuição desses biofármacos, atendendo uma grande parcela de pacientes portadores dessas doenças, consequentemente, é responsável pelo sucesso na terapia farmacológica e, o adalimumabe aqui estudado, apresenta-se como uma perspectiva medicamentosa sustentável complementar associado a outras terapias medicamentosas utilizadas para o tratamento de doenças autoimunes, a exemplo da hidradenite soporativa (HS).

Os artigos incluídos no resumo, corroboram com este entendimento da seguinte forma: Segundo Britto, 2012, os medicamentos imunobiológicos já são realidades nas indústrias farmacêuticas incluindo as brasileiras, ano após ano conquistam importantes avanços nas ciências biomédicas atendendo e tratando doenças autoimunes, esquadrinhando novas esperanças de cura.

Neste mesmo pensamento, Reis *et al*, 2010, reafirma sobre a importância e relevância da fabricação e utilização dos biofármacos, mesmo apresentando altos custos e processos laboriosos de fabricação. Toda a dinâmica envolvendo esses medicamentos é atender e sanar queixas de pacientes necessitados.

Já são inúmeros os imunobiológicos com estudos registrados nos órgãos regulatórios (ANVISA), quanto a segurança, eficácia e eficiência. Esses medicamentos apresentam caráter específico quanto incorporado a uma terapia, propiciando melhoras e curas, a exemplo do adalimumabe. Segundo Silva Junior *et al*, 2016, anteriormente a descoberta dos biofármacos, a janela de tratamentos de doenças autoimunes era estreita e, pensando na HS em se tratando de casos moderados e graves, o sucesso esperado era através de cirurgias, as quais em alguns casos deixam boa cicatrização, porém deixam marcas visíveis nos tecidos seccionados, trazendo inconveniência estéticas ao paciente. Schimitt *et al*, 2012, também corrobora com essas informações após estudos sobre a etiologia e gravidade apresentadas pela HS.

Revuz, 2009, menciona a importância de aprimoramentos em conhecimentos clínicos em dermatologia em doenças de peles, em especial ao sexo feminino, a exemplo da HS. Pontua a importância em prestar atenção nos tratamentos terapêuticos clássicos e maior cuidado em aplicar tratamentos inovadores sem apresentar resultados satisfatórios. Nesta mesma orientação, Obadia *et al*, 2009, explica que antes da terapia com o imunobiológico adalimumabe, foi testado o uso de outro biofármaco, o infliximabe, para o tratamento da HS sem atingir o sucesso esperado. Também Torres *et al*, 2010, relata sobre o insucesso do tratamento quando aplicado o infliximabe.

Segundo Danby *et al*, 2010, o impacto negativo é significativo na qualidade de vida dos pacientes portadores de HS. A procura por minimizar os problemas ocasionados por essa doença, torna-se um desafio hercúleo para clínica médica dermatológica. Velasco *et al*, 2009 e Jemec *et al*, 2012, relatam a importância de melhores estudos randomizados sobre o uso do adalimumabe associado as terapias sintéticas.

Kimball *et al*, 2015, em seus estudos com colaboração dos laboratórios da farmacêutica *ABBVIE*, pesquisou sobre o uso do adalimumabe no tratamento de doenças autoimunes, a exemplo da HS nos casos moderados e graves. Neste trabalho, foram realizados estudos multicêntricos de fase 3 em relação a segurança e eficácia em indivíduos portadores de HS em estágio II ou III de Hurley, obtendo respostas favoráveis de regreção e a cura. Também Jemec *et al*, 2019 relata, que nos casos identificados clinicamente de HS, que utilizaram o adalimumabe a longo prazo com dosagens semanais associado a outras terapias sistêmicas, apresentaram melhoras significativas, e pré-supõem que o uso orientado clinicamente, possivelmente levará a cura da doença.

4 CONCLUSÃO

Os imunobiológicos tornaram-se uma esperança de alívio e cura as queixas de paciente acometidos por doenças autoimunes, a exemplo da infecciosa HS, e o biofármaco adalimumabe vem se apresentando como uma perspectiva medicamentosa sustentável complementar a outras terapias utilizadas para o tratamento, porém maiores estudos são necessários para se afirmar a competência definitiva deste biofármaco na cura da HS.

REFERÊNCIAS

BRITTO, A. Entendendo os medicamentos biológicos. INTERFARMA, 2012, 28 p. Disponível em; <http://www.sbmf.org.br>. Acessado em: 13/12/2023.

REIS, C.; PIERONI, J.P.; SOUZA, J.O.B. Biotecnologia para saúde no Brasil. BNDES Setorial. 2010;32:193- 230. Disponível em: <https://web.bndes.gov.br>. Acessado em 13/12/2023.

KLUG, W.S.; CUMMINGS, M.R.; SPENCER, C.A.; PALLADINO, M.A. Livro físico: Conceitos de Genética. 9 ed. Porto Alegre: Artmed, 2010.863 p.

PRIVATO, M.B.; MARTINEZ, L.L.; SCHMIDT, C. Biopharmaceuticals in Brazil: a review of the regulatory process. *Arq Med Hosp Fac Cienc Med Santa Casa São Paulo*. 2020; 65:1-14. Doi: <https://doi.org/10.26432/1809-3019.2020.65.009>.

ELLIS, L.Z. Hidradenitis suppurativa: surgical and other management techniques. *Dermatol Surg*. 2012;38(4):517-36. Doi: 10.1111/j.1524-4725.2011.02186.x.

FREW, J.W. Hidradenitis suppurativa is an autoinflammatory keratinization disease: A review of the clinical, histologic, and molecular evidence. *JAAD Int*. 2020; 1:62-72. doi: <https://doi.org/10.1016/j.jdin.2020.05.005>.

KIMBALL, A.; JEMEC, G.; BROOKS, D.; GENG, Z.; GU, Y.; TEIXEIRA, H. Progression of Hidradenitis Suppurativa: Outcomes of Placebo-treated Patients in a Phase 3, Randomized, Placebo-controlled Trial (PIONEER II). In Presented at the 24th Annual European Academy of Dermatology and Venereology Congress, Copenhagen, Denmark, October 7-11; 2015. p. P0045. Disponível em: <https://www.infarmed.pt>. Acessado em 14/12/2023.

JEMEC, G.E.B. Clinical practice. Hidradenitis suppurativa. *N Engl J Med*. 2012.12;366(2):158-64. doi: 10.1056/NEJMcp1014163.

JEMEC, G.B.; GOTTLIEB, A.; FORMAN, S. *et al.* Efficacy and Safety of Adalimumab in Patients with Moderate to Severe Hidradenitis Suppurativa: Results from PIONEER II, a Phase 3 Randomized Placebo-Controlled Trial. *European Academy of Dermatology and Venereology*. 2014.

ABBVIE Bioresearch Center - 100 Research Drive, Worcester, MA 01605 – EUA; ABBVIE Biotechnology LTD. Road No. 2, Km. 59.2, Barceloneta, Porto Rico 00617; LONZA Biologics Porriño, S.L., A Relva s/n 36400 O Porriño Pontevedra, Espanha; LONZA Biologics Tuas PTE LTD., 35 Tuas South Ave 6, Singapura 637377 – Disponível em: <<https://www.abbvie.com>> acessado em: 04/01/2023.

OBADI, D.L.; DAXBACHER, E.L.R.; *et al.* Hidradenitis suppurativa treated with infliximab. *An Bras Dermatol*. 2009;84(6):695-7. by Anais Brasileiros de Dermatologia.

ELLIS, L.Z. – Hidradenitis suppurativa: surgical and other management techniques. *Dermatol Surg*. 2012; 38(4):517-36. Doi: 10.1111/j.1524-4725.2011.02186.x.

SILVA JÚNIOR, V.V.; OLIVEIRA, N.G.S.; SOUSA, F.R.S. Surgical treatment of hidradenitis suppurativa with anterior and posterior lateral thoracic fasciocutaneous flaps. *Revista Brasileira de Cirurgia Plástica (RBCP) – Brazilian Journal of Plastic Surgery*. 2016;31(4):522-26. doi:10.5935/2177-1235.2016RBCP0086.

REVUZ, J. Hidradenitis suppurativa. *J Eur Acad Dermatol Venereol*. 2009; 23(9):985-98. Doi: 10.1111/j.1468-3083.2009.03356.x.

ALIKHAN, A.; LYNCH, P. J.; EISEN, D. B. Hidradenitis suppurativa: a comprehensive review. *J Am Acad Dermatol*. *J Am Acad Dermatol*. 2009;60(4):539-61; quiz 562-3. Doi: 10.1016/j.jaad.2008.11.911.

KAGAN, R.J.; YAKUBOFF, K.P.; WARNER, P.; *et al.* – Surgical treatment of hidradenitis suppurativa: a 10- year experience. *Surgery*. 2005;138(4):734-40. DOI: 10.1016/j.surg.2005.06.053.

SCHMITT, J.V.; BOMBONATTO, G.; MARTIN, M.; *et al.* Risk factors for hidradenitis suppurativa: a pilot study. *Communication. An. Bras. Dermatol.* 2012; 87(6): <https://doi.org/10.1590/S0365-05962012000600024>.

FARDET, L.; DUPUY, A.; KEROB, D.; *et al.* Infliximab for severe hidradenitis suppurativa: transient clinical efficacy in 7 consecutive patients. *J Am Acad Dermatol.* 2007; 56:624-8. Doi: 10.1016/j.jaad.2006.07.027.

GEE, B.C.; DAWBER, R. P. – Hidradenitis suppurativa. *J R Soc Med.* 2000;93:661. doi.org/10.1177/120347540300700109.

DANBY, F.W.; MARGESSON, L.J. – Hidradenitis suppurativa. *Dermatol Clin.* 2010; 28 (4): 779 - 93. doi.org/10.1016/j.det.2010.07.003.

LEAL, J.M.; SOUZA, G.H.; Marsillace, P.F.; *et al.* Manifestações cutâneas associadas a doenças sistêmicas. *Sociedade Brasileira de Dermatologia. Publicado por Elsevier Espanha, S.L.U.* 2021; 96 672-687. DOI: 10.1016/j.abdp.2021.09.003.

JEMEC, G.B.E; OKUN, M.M.; FORMAN, S.B.; *et al.* Adalimumab medium-term dosing strategy in moderate- to-severe hidradenitis suppurativa: integrated results from the phase III randomized placebo-controlled PIONEER trials. *Br J Dermatol.* 2019;181(5):967-975. doi: 10.1111/bjd.17919.

VELASCO, A.L.; DUNLAP, W.W. Pilonidal disease and hidradenitis. *Surg Clin North Am.* 2009 Jun;89(3):689- 701. doi: 10.1016/j.suc.2009.02.003. PMID: 19465205.

TORRES, T; SELORES, MM. – Tratamento de hidradenite supurativa com infliximabe - ABD – Anais Brasileiro de Dermatologia – ISSN-e: 1806-4841. *An. Bras. Dermatol.* 85 (4) • Aug 2010 • <https://doi.org/10.1590/S0365-05962010000400028>.



REVISÃO SISTEMÁTICA DA LITERATURA E PROSPECÇÃO TECNOLÓGICA DE PATENTES RELACIONADAS À PRODUÇÃO DE BIO-HIDROGÊNIO POR INTEGRAÇÃO DAS ROTAS BIOLÓGICAS UTILIZANDO RESÍDUOS AGROINDUSTRIAIS

VICTOR SALOMÃO DOS SANTOS NÓBREGA; ANA KATERINE DE CARVALHO LIMA LOBATO

RESUMO

Este estudo aborda a produção de bio-hidrogênio a partir de biomassa lignocelulósica, destacando a importância dada às alternativas sustentáveis diante das emissões significativas de gases poluentes provenientes da queima de combustíveis não-renováveis. Com mais de 40 bilhões de toneladas de CO₂ acumulados em 2021, o foco na transição para energias renováveis, incluindo o hidrogênio verde, é bem evidente atualmente, porém as rotas biológicas alternativas têm evidenciado bons resultados. O trabalho analisa 434 artigos publicados entre 2019 e 2023, utilizando palavras-chave específicas para selecionar 37 estudos relevantes. As principais rotas exploradas para a obtenção de bio-hidrogênio incluem fermentação escura (FE), célula de eletrólise microbiana (CEM) e foto-fermentação (FF), com ênfase na integração dessas técnicas. A FE destaca-se pela abordagem econômica, mas enfrenta desafios como baixo rendimento teórico. A FF, dependente da incidência de luz, mostra potencial, especialmente quando integrada com a FE. Os resultados revelam a escassez de estudos que explorem a integração de técnicas, indicando uma lacuna na pesquisa. Além disso, a análise de 34 patentes selecionadas para esse trabalho destaca a liderança de universidades chinesas e americanas, evidenciando a importância da colaboração academia-indústria. A produção de hidrogênio a partir de biomassa lignocelulósica surge como uma alternativa promissora para a descarbonização, mas são necessárias mais pesquisas, especialmente de trabalhos experimentais que explorem a integração de técnicas, para impulsionar a transição para fontes de energia mais limpas. Em conclusão, o estudo destaca a viabilidade econômica da fermentação escura, o potencial da foto-fermentação, especialmente quando integrada, e a necessidade de mais pesquisas para impulsionar a aplicação prática e a transição para fontes de energia mais limpas.

Palavras-chave: foto-fermentação; fermentação escura; célula de eletrólise microbiana, biomassa lignocelulósica.

1 INTRODUÇÃO

No último século, o crescimento industrial e populacional resultou em emissões significativas, com mais de 40 bilhões de toneladas de CO₂ acumulados até 2021, gases poluentes como CO₂, CH₄, NO_x, SO_x e outros, provenientes principalmente da queima de combustíveis não-renováveis, representam 93,75% dessa emissão (RITCHIE; ROSER; ROSADO, 2020). O impulso por alternativas sustentáveis no setor energético é evidente, com pesquisas e investimentos direcionados para o desenvolvimento de energias renováveis, incluindo solar, eólica, nuclear e hidrogênio verde, visando a transição energética. O

hidrogênio, com alto conteúdo energético (142 kJ/g), comparado ao gás natural (52 kJ/g), carvão (24 kJ/g) e etanol (29,6 kJ/g), oferecendo oportunidades para descarbonizar a indústria. Previsões indicam uma demanda significativa na indústria de refinamento de petróleo (47 Mt) e na indústria química (65 Mt) até 2030 (IEA, 2022; TIAN et al., 2019).

A obtenção de hidrogênio passa por novos esforços sustentáveis, explorando tecnologias como a eletrólise da água com energias renováveis (hidrogênio verde) e uso de biomassa (hidrogênio musgo) (ARAVINDAN; PRAVEEN, 2023). A produção de bio-hidrogênio a partir de biomassa lignocelulósica, centrada na fermentação de resíduos agroindustriais ricos em celulose (35-55%) e hemicelulose (20-40%), emerge como uma solução promissora para a descarbonização. Apesar de sua alta oferta no mercado, os resíduos agroindustriais demandam pré-tratamentos químicos, físico-químicos, físicos ou biológicos para fracionar o material lignocelulósico (SAHA; BHATTACHARYA; MUKHOPADHYAY, 2022; BHATIA; JAGTAP; BEDEKAR et al., 2021). O trabalho analisa estudos recentes sobre a produção de bio-hidrogênio, destacando tecnologias e resultados.

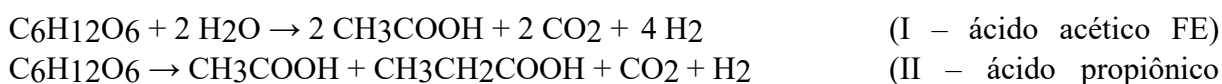
2 MATERIAIS E MÉTODOS

Este estudo baseou-se na análise de 434 artigos publicados entre 2019 e 2023 nas plataformas Elsevier Science Direct, Elsevier SCOPUS, Periódicos CAPES e Google Scholar. Utilizando o esquema de palavras-chave: (integration OR "single stage" OR "two stage" OR sequential) AND "dark fermentation" AND "photofermentation" AND "microbial electrolysis cell" AND "biohydrogen" AND "lignocellulosic". Para a eleição dos artigos, a avaliação de títulos e resumos resultaram em 37 trabalhos para a discussão de resultados sobre a produção de bio-hidrogênio por meio da rota biológica, a partir de biomassa lignocelulósica. Além disso, 52 patentes registradas entre 2008 e 2023 foram avaliadas pelas plataformas EspaseNet e INPI, utilizando o esquema de códigos CPC (*Cooperative Patent Classification*) e palavras-chave: (C01B3/50 OR C12M1/107 OR C12M43/00 OR C12N1/22 OR C12P39/00 OR C12P2203/00 OR Y02E50/00 OR Y02E60/50 OR Y02W10/40 OR C01B3/02) AND ("biohydrogen" AND ("photofermentation" AND "dark fermentation" AND "microbial electrolysis cell")), realizando a análise de títulos e resumo, apenas 34 foram selecionadas para a discussão desse trabalho.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

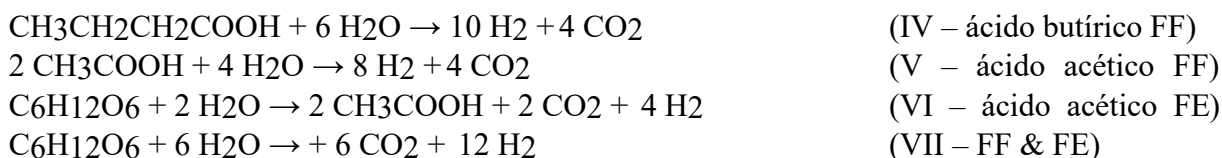
As principais rotas para a obtenção de bio-hidrogênio a partir de resíduos agroindustriais incluem a fermentação escura (FE), célula de eletrólise microbiana (CEM) e foto-fermentação (FF), sendo esta última dependente da incidência de luz. Estudos também destacam a integração entre FE e CEM, bem como FE e FF, com CEM e FF sendo menos exploradas (NABGAN et al., 2021).

A fermentação escura (FE) destaca-se por sua abordagem econômica, utilizando bactérias como *Clostridium spp.*, *Enterobacter spp.*, *Bacillus sp.* e *Thermoanaerobacterium spp.*, para produzir bio-hidrogênio a partir de substratos de baixo custo em biorreatores simples. No entanto, desvantagens incluem baixo rendimento teórico, abaixo do ideal de 4 mols para 1 mol de glicose (I), e a produção simultânea de ácidos graxos, que podem inibir a fermentação ao reduzir o pH (CHANDRAN; MOHAN, 2023; TIAN, 2019). O mecanismo central da FE envolve a conversão de hexoses em ácidos graxos de cadeia curta, consumidos pelas bactérias para gerar ânions, que são então convertidos em bio-hidrogênio pela enzima hidrogenase (FeFe, NiFe ou Fe), sendo a reação de conversão da hexose em ácido acético a mais representativa para o rendimento teórico de Bio-H₂ na FE (NABGAN et al., 2021).



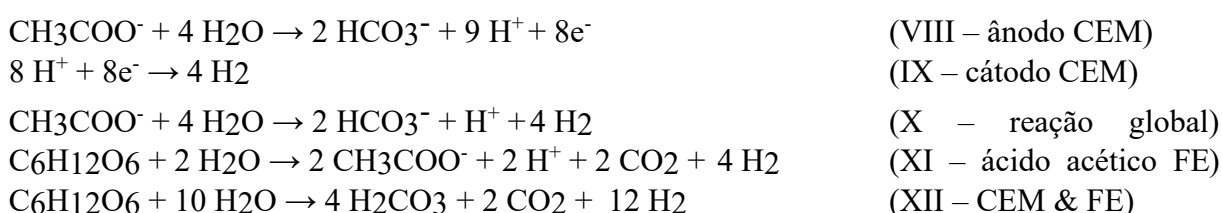


A foto-fermentação (FF) para a produção de bio-hidrogênio é estudada intensivamente, envolvendo bactérias roxas fotossintéticas não sulfonadas, como *Rhodobacter sphaeroides*, *Rhodobacter sulfidophilus*, *Rhodobacter capsulatus*, *Rohobatersphaetoide spp.*, *Rhodospirillum rubrum* e *Rhodopseudomonas palustris*, que preferem ácidos orgânicos de pequena cadeia para gerar bio-hidrogênio. O mecanismo central da FF inclui a conversão de elétrons derivados de ácidos graxos em bio-hidrogênio, mediada por enzimas como hidrogenase e nitrogenase. A integração potencial com a fermentação escura (FE) permite a acumulação de até 12 mol de Bio-H₂ (VII), mas o rendimento teórico mais alto é de 10 mol de Bio-H₂/mol de ácido butírico (IV). Estudos exploram a integração da FF com a FE, destacando esquemas de estágio duplo e único, sendo o primeiro mais complexo, mas permitindo o processamento de efluentes que contém compostos inibidores (íons amônio e furfural), enquanto o último, embora menos custoso, dificulta a manutenção e reduz o rendimento de bio-hidrogênio (CHANDRAN; MOHAN, 2023).



Na produção de bio-hidrogênio por fermentação anaeróbica, alguns fatores cruciais como a temperatura, preferencialmente em condição mesofílica (25–40°C), pH em torno de 5,5 e controle da pressão parcial do Bio-H₂, retirando o conteúdo gasoso para otimizar a produção, são críticos tanto na foto-fermentação (FF) quanto na fermentação escura (FE). O tempo de retenção hidráulica (TRH) favorável varia de 6 horas a 1 dia em sistemas contínuos, impactando a seletividade e o rendimento de bio-hidrogênio. Diversos tipos de reatores, como CSTR, AFBR, APBR, ASBR e UASBR, são explorados, sendo o de mistura (CSTR) o mais estudado. Na foto-fermentação (FF), além desses fatores, a luminosidade de fontes como LED, tungstênio, mercúrio e halogênio é crucial, com a luz solar sendo uma opção intermitente (CHANDRAN; MOHAN, 2023; NAGARAJAN et al., 2022; SINGH; DAS, 2019).

A técnica de células eletrolíticas microbianas, desenvolvida nos últimos anos, envolve microrganismos (de gênero *Shewanella*, *Pseudomonas*, *Geobacter*, *Desulfovibrio*, *Clostridium* e *Geothrix*) no ânodo que oxidam substratos, liberando elétrons e prótons (H⁺). Esses elétrons migram para o cátodo por corrente elétrica, enquanto os prótons e CO₂ se movem através da membrana. Com um diferencial de potencial de 0,2 a 0,8V, os prótons são reduzidos a H₂ (IX), destacando-se pela eficiência em relação à eletrólise da água (1,23V–3,5V). O rendimento teórico é de 4 mol de Bio-H₂ por mol de acetato (X), mas a integração com a fermentação escura pode ampliar a produção para até 12 mol de Bio-H₂ (XII) (NABGAN et al., 2021; SRIVASTAVA et al., 2024).



A técnica de células eletrolíticas microbianas (CEM) é influenciada por fatores como pH, reações indesejadas, eletrodos e substratos. Um pH neutro é preferível para evitar inibição em meio ácido, e bactérias acidófilas como *Firmicutes*, *Clostridium*, *Sporanaerobacter*, *Streptococcus* e *Syntrophomonas* podem ser empregadas, mesmo na fermentação escura (FE). A utilização de efluentes da FE como substrato requer diluições para evitar inibição pela alta concentração de matéria orgânica. Na integração com a FE, o uso dos efluentes pode conter bactérias *archaea*, reduzindo o rendimento ao converter Bio-H₂ em CH₄, especialmente em sistemas de célula única (SRIVASTAVA et al., 2024).

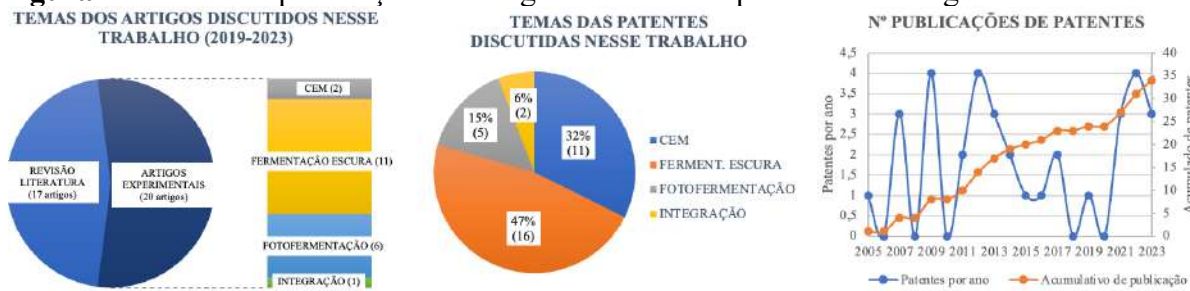
Pré-tratamentos e adição de inibidores (O₂, metil coenzima M redutase – MDR) podem mitigar esse efeito. Desafios com eletrodos incluem a necessidade de um diferencial de potencial específico da reação redox assim como o gerenciamento das perdas no metabolismo bacteriano e na transferência de massa entre o substrato e o eletrodo, sendo comum o uso de platina, molibdênio, níquel ou liga de aço inoxidável. Ânodos alternativos, como grafite e bio-ânodos, estão sendo estudados (SRIVASTAVA et al., 2024).

Um único estudo comparou a integração de foto-fermentação escura (FFE) com foto-fermentação (FF) e fermentação escura (FE) em um modelo de estágio único. O experimento utilizou um consórcio de bactérias (HAU-M1) para FF, composto por 27% de *Rhodospirillum rubrum*, 25% de *Rhodopseudomonas capsulata*, 28% de *Rhodopseudomonas palustris*, 9% de *Rhodobacter sphaeroides*, 11% de *Rhodobacter capsulatus* e *Enterobacter aerogenes* para FE. O substrato foi palhas de milho, com celulase Ctec2 para hidrólise enzimática simultânea. O modelo modificado de Gompertz foi utilizado para avaliar a cinética de produção de bio-hidrogênio (ZHANG et al., 2020).

Os resultados mostraram um acumulado de bio-hidrogênio de 90,13 mL/total de sólidos do substrato (TSS) para a integração, sendo menor que FF (141,42 mL/TSS) e maior que FE (36,08 mL/TSS). A fase lag teve o menor tempo na integração (4,33 h), comparado a FF (5,08 h) e FE (18,16 h), com uma taxa de produção de 3,05 mL/TSS.h, mais alta que FE (1,37 mL/TSS/h) e mais baixa que FF (6,21 mL/TSS/h). A disponibilidade do HAU-M1 durante a FF, suspenso no meio reacional, e sua imobilização na integração explicam o desempenho, apesar da complexidade do consórcio bacteriano, evidenciada pelo longo lag time, o pico de conteúdo de hidrogênio foi alcançado mais rápido na integração (0–12 h) do que na FF (24–36 h) (ZHANG et al., 2020).

A análise de patentes na produção de bio-hidrogênio a partir de biomassa pela via biológica oferece uma visão completa que conecta a pesquisa acadêmica com a aplicação prática. A figura 1 abaixo revela que, dos 20 estudos experimentais, apenas 1 explorou a integração de técnicas (FE e FF em um único estágio) nas rotas biológicas para o bio-hidrogênio, evidenciando oportunidades de estudos experimentais. Na mesma figura, a análise de 34 patentes desde 2005 destaca uma ascensão constante, com foco notável na fermentação escura, devido ao seu apelo custo-benefício. Universidades detêm 16 patentes, sendo de maioria chinesa e americana, indicando sua liderança em uma área tecnologicamente incipiente, porém promissora para a produção de hidrogênio de baixa emissão de carbono. O Brasil não aplicou patentes na área, mas há um registro no país, da Greenfield Speciality Alcohols Inc., relacionado à fermentação escura (FE), indicando lacunas e oportunidades no cenário de patentes.

Figura 1: Análise de publicação dos artigos científicos e patentes tecnológicas



A Figura 1 destaca que apenas duas patentes abordam a integração de técnicas, ambas relacionadas à foto-fermentação (FF) e fermentação escura (FE). A primeira patente (US2012107895A1) descreve um dispositivo de dois estágios (FFE) separados por uma membrana permeável aos efluentes da FE, direcionando para o segundo estágio onde ocorre a FF. O conteúdo gasoso ascendente (Bio-H₂ e CO₂) é extraído do dispositivo. A segunda patente (KR20120126237A) apresenta uma metodologia em dois estágios (FFE) utilizando a *Rhodobacter sphaeroides* KD131, resíduo alimentício como substrato e pH 5,5, resultando em um acumulativo de 5,8 mol Bio-H₂/mol glicose (METHOD, 2012; NAGAMANY *et al.*, 2012). Além disso, uma patente destacada adota um layout de separação com um reator de mistura (CSTR) para a FE, seguido pela extração do conteúdo gasoso ascendente e do primeiro efluente. Este primeiro efluente, contendo microrganismos, biomassa, ácidos graxos e álcoois, é levado para um segundo reator para possível FF, após um processo de decantação para remover material sólido, resultando em um segundo efluente concentrado em ácidos graxos e álcoois (MOHAMED, 2013).

O crescente consumo de combustíveis fósseis devido à Revolução Industrial, além de esgotar recursos limitados, apresenta desafios ambientais. Em resposta, há uma transição para fontes renováveis e aproveitamento de resíduos na produção sustentável de hidrogênio. Apesar de métodos biológicos, como a foto-fermentação, serem explorados, estudos destacam desafios econômicos, como os altos custos associados à produção de H₂ por bactérias fotossintéticas e fermentação de biomassa lignocelulósica (SHARMA *et al.*, 2020).

A viabilidade econômica dessas abordagens é crucial, com custos de produção variando. A comparação entre fermentação escura e foto-fermentação revela custos operacionais significativos, resultando em um custo de produção de H₂ projetado em 3,2 USD/kg, superior aos preços de mercado atuais. Ainda que métodos biológicos ofereçam benefícios ambientais, a pesquisa contínua é necessária para tornar essas tecnologias comercialmente viáveis e competitivas em comparação com abordagens tradicionais de produção de combustíveis (SHARMA *et al.*, 2020).

4 CONCLUSÃO

Em resumo, o estudo destaca a produção de bio-hidrogênio a partir de biomassa lignocelulósica como uma alternativa promissora para reduzir emissões de gases poluentes. Embora haja progresso na pesquisa, a integração de técnicas, como a combinação de fermentação escura e foto-fermentação, é subexplorada, sugerindo oportunidades para futuras pesquisas. Técnicas como fermentação escura, foto-fermentação e células eletrolíticas microbianas foram analisadas, com a fermentação escura mostrando viabilidade econômica e a foto-fermentação apresentando potencial, especialmente quando integrada. Comparando a fermentação escura e a foto-fermentação, projeta-se um custo de produção de H₂ em 3,2 USD/kg, exigindo pesquisa contínua para a competitividade comercial. A liderança em patentes está centrada em universidades chinesas e americanas, destacando a importância da colaboração academia-indústria. O estudo enfatiza a necessidade de mais pesquisas, especialmente na

integração de técnicas, e destaca a importância da aplicação prática para impulsionar a transição para fontes de energia mais limpas.

REFERÊNCIAS

ARAVINDAN, M.; PRAVEEN K. G. Hydrogen towards sustainable transition: A review of production, economic, environmental impact and scaling factors. **Results in Engineering**, 20, 101456, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/J.RINENG.2023.101456>

BHATIA, S. K.; JAGTAP, S. S.; BEDEKAR, A. A.; BHATIA, R. K.; RAJENDRAN, K.; PUGAZHENDHI, A.; RAO, C. V.; ATABANI, A. E.; KUMAR, G.; YANG, Y. H. Renewable biohydrogen production from lignocellulosic biomass using fermentation and integration of systems with other energy generation technologies. **Science of The Total Environment**, 765, 144429, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/J.SCITOTENV.2020.144429>

CHANDRAN, E. M.; MOHAN, E. Sustainable biohydrogen production from lignocellulosic biomass sources — metabolic pathways, production enhancement, and challenges. **Environmental Science and Pollution Research**, 30:46, 30(46), 102129–102157, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/S11356-023-29617-Z>

IEA, Global Hydrogen Review. IEA, Paris. 2022, Disponível em: <https://www.iea.org/reports/global-hydrogen-review-2022>, License: CC BY 4.0

METHOD of Biohydrogen Production from Organic Waste KR20120126237A. Depósito: 11 maio 2011. Concessão: 21 nov. 2012. Disponível em: <https://worldwide.espacenet.com/patent/search/family/047511601/publication/KR20120126237A?q=pn%3DKR20120126237A>.

MOHAMED, HAFEZ HISHAM. **METHOD AND SYSTEM FOR ELECTRO-ASSISTED HYDROGEN PRODUCTION FROM ORGANIC MATERIAL** US2013217089A1. Depósito: 15 fev. 2013. Concessão: 22 ago. 2013. Disponível em: <https://worldwide.espacenet.com/patent/search/family/048982561/publication/US2013217089A1?q=pn%3DUS2013217089A1>.

NABGAN, W.; TUAN ABDULLAH, T. A.; NABGAN, B.; JALIL, A. A.; NORDIN, A. H.; UL-HAMID, A.; HASSAN, N. S.; HUSSAIN, I.; COELHO, A.; AMIN, A.; IKRAM, M. Catalytic biohydrogen production from organic waste materials: A literature review and bibliometric analysis. **International Journal of Hydrogen Energy**, 46(60), 30903–30925, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/J.IJHYDENE.2021.04.100>

NAGAMANY, NIRMALAKHANDAN; SHUGUANG, DENG; GEOFFREY, SMITH. **Method and Apparatus for Membrane-Based, Two-Stage Gas Production from Solid Biomaterials** US2012107895A1. Depósito: 10 jan. 2012. Concessão: 3 maio 2012. Disponível em: <https://worldwide.espacenet.com/patent/search/family/045419076/publication/US2012107895A1?q=pn%3DUS2012107895A1>.

NAGARAJAN, S.; JONES, R. J.; ORAM, L.; MASSANET-NICOLAU, J.; GUWY, A. Intensification of Acidogenic Fermentation for the Production of Biohydrogen and Volatile

Fatty Acids—A Perspective. **Fermentation**, Vol. 8, Page 325, 8(7), 325, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/FERMENTATION8070325>

RITCHIE, H.; ROSER, M.; ROSADO, P. CO₂ and Greenhouse Gas Emissions. **Our World in Data**, 2020. Disponível em: <https://ourworldindata.org/co2-and-greenhouse-gas-emissions>

SAHA, R.; BHATTACHARYA, D.; MUKHOPADHYAY, M. Enhanced production of biohydrogen from lignocellulosic feedstocks using microorganisms: A comprehensive review. **Energy Conversion and Management**, X, 13, 100153, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/J.ECMX.2021.100153>

SHARMA, S.; BASU, S.; SHETTI, N. P.; AMINABHAVI, T. M. Waste-to-energy nexus for circular economy and environmental protection: Recent trends in hydrogen energy. **Science of The Total Environment**, 713, 136633, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/J.SCITOTENV.2020.136633>

SINGH, V.; DAS, D. Potential of Hydrogen Production From Biomass. **Science and Engineering of Hydrogen-Based Energy Technologies: Hydrogen Production and Practical Applications in Energy Generation**, 123–164, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-814251-6.00003-4>

SRIVASTAVA, P.; GARCÍA-QUISMONDO, E.; PALMA, J.; GONZÁLEZ-FERNÁNDEZ, C. Coupling dark fermentation and microbial electrolysis cells for higher hydrogen yield: Technological competitiveness and challenges. **International Journal of Hydrogen Energy**, 52, 223–239, 2024. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/J.IJHYDENE.2023.04.293>

TIAN, H.; LI, J.; YAN, M.; TONG, Y. W.; WANG, C. H.; WANG, X. Organic waste to biohydrogen: A critical review from technological development and environmental impact analysis perspective. **Applied Energy**, 256, 113961, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/J.APENERGY.2019.113961>

ZHANG, T.; JIANG, D.; ZHANG, H.; JING, Y.; TAHIR, N.; ZHANG, Y.; ZHANG, Q. Comparative study on bio-hydrogen production from corn stover: Photo-fermentation, dark-fermentation and dark-photo co-fermentation. **International Journal of Hydrogen Energy**, 45(6), 3807–3814, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/J.IJHYDENE.2019.04.170>



SÍNTESE VERDE DE NANOPARTÍCULAS DE FERRO ZERO VALENTE: PRODUÇÃO E CARACTERIZAÇÃO

LUANA MALAQUIAS BERTOLETI; MARCELO LUIS KUHN MARCHIORO; MARCIO BARRETO RODRIGUES.

RESUMO

O crescimento da população mundial e a industrialização têm causado um aumento substancial na poluição das reservas de água doce no mundo. Neste contexto, nanopartículas de ferro zero valente estão sendo usadas com eficácia para remover impurezas da água devido às suas características específicas. No entanto, a produção convencional de nanopartículas enfrenta desafios, como aglomeração, geração de resíduos e custos elevados. A síntese verde de nanopartículas, que é mais sustentável e ecologicamente correta, é apresentada como uma solução para essas limitações. O objetivo deste trabalho foi produzir e caracterizar nanopartículas de ferro valência zero utilizando diferentes extratos de plantas. Dezoito extratos de plantas foram testados e seis foram selecionados com base em seu rendimento. As amostras de nanopartículas produzidas foram caracterizadas por meio difratometria de raios-X; microscopia eletrônica de varredura; espectroscopia de energia dispersiva e espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier. As análises demonstraram que os 6 extratos produziram nanopartículas com perfil semelhantes, apresentando características de nanopartículas de ferro valência zero. Os difratogramas de raios-X apresentaram pico característico de ferro valência zero em 44° em 2θ . Os espectros de infravermelho apresentaram bandas de absorção na região de 815 e 550 cm^{-1} comumente atribuídas a nanopartículas de ferro. A microscopia eletrônica de varredura demonstrou perfil de partículas de variados tamanhos e formas. A análise de espectroscopia de energia dispersiva mostrou que a composição elementar majoritária foi de carbono, seguida por oxigênio e ferro. De maneira geral, os resultados indicaram que as nanopartículas obtidas através de síntese verde apresentaram estrutura e morfologia típica na forma de aglomerados, com exposição de partículas irregulares na superfície.

Palavras-chave: biorremediação; nanotecnologia; tratamento de efluentes.

1 INTRODUÇÃO

As nanopartículas de ferro têm ganhado considerável atenção mundial devido às características catalíticas, ópticas, eletrônicas e antibacterianas únicas. Em comparação com os adsorventes tradicionais, possui vantagens como maior área de superfície específica e também podem oxidar e reduzir vários poluentes. Devido a essas características as nanopartículas de ferro vem sendo empregadas na remediação ambiental (HARSHINY; ISWARYA; MATHESWARAN, 2015).

Vários métodos físicos, químicos e biológicos, com ou sem incorporação de ingredientes para agregar funcionalidades, características e atributos específicos são utilizados para a obtenção de nanopartículas de ferro (HUANG et al., 2014; XU et al., 2022). Esses métodos ainda enfrentam vários desafios, como subprodutos perigosos produzidos por precursores e solventes, baixas taxas de produção, utilização de instrumentos caros, alta energia,

cultura de células e purificações, utilização de substâncias químicas como borohidreto de sódio (NaBH₄), solventes orgânicos, agentes estabilizantes e dispersantes que são tóxicos e de alto custo (HUANG et al., 2014; HARSHINY; ISWARYA; MATHESWARAN, 2015).

Neste sentido, uma alternativa que vem sendo utilizada é a síntese verde, a qual é frequentemente realizada utilizando água como solvente, e extratos vegetais produzidos a partir de diferentes partes da planta como por exemplo, raízes, sementes, caules, folhas, flores, látex, goma ou até mesmo o fruto. Os extratos vegetais são misturas complexas de substâncias químicas, sendo difícil a identificação de todas as substâncias, que contemplam fenóis, terpenos, alcaloides, saponinas, além de grupos funcionais orgânicos como cetonas, aldeídos, flavonas, amidas, ácido carboxílicos, terpenóides entre outros constituintes aos quais são atribuídas propriedades de estabilizantes e redutores de íon metálico, o que torna os extratos vegetais precursores ideais para a síntese verde de nanopartículas (KSHTRIYA; KOSHTI; GOUR, 2021; PANIKAR et al., 2022).

Neste contexto, o objetivo deste trabalho foi utilizar o método de síntese verde para produzir nanopartículas de ferro zero valente (NFZV) utilizando extrato aquoso e alcoólico de várias plantas. As nanopartículas produzidas foram caracterizadas através de difratometria de Raio-X, espectroscopia de infravermelho, microscopia eletrônica de varredura e espectroscopia de energia dispersiva.

2 MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 SELEÇÃO E PREPARO DOS EXTRATOS DE FOLHAS

Folhas de abacateiro (*Persea americana*), mangueira (*Mangifera indica*), jaqueira (*Artocarpus heterophyllus*), jaboticabeira (*Plinia cauliflora*), morangueiro (*Fragaria daltoniana*), pitangueira (*Eugenia uniflora*), moringa (*Moringa oleífera*) e uva-do-Japão (*Hovenia dulcis*), eucalipto (*Eucalyptus globulus*) foram coletadas em diversas localidades do sudoeste do Paraná, lavadas com água deionizada e secas em estufa com circulação de ar a 40 °. As folhas secas foram trituradas em moinho de facas tipo Willey, utilizando peneira de 0,841 mm (20 Mesh), posteriormente armazenadas em geladeira a 5 °C ao abrigo da luz.

Os extratos foram preparados seguindo metodologia adaptada de Rana et al., (2018). Foram produzidos 18 extratos, sendo 9 aquosos e 9 alcoólicos. Para a produção dos extratos aquosos foram adicionados 9 g de folhas secas e trituradas em 150 ml de água destilada (concentração de folhas de 60 gL⁻¹), levadas a agitador orbital (shaker), com 50°C de temperatura durante 1 hora e 150 rpm de rotação. A solução foi filtrada e armazenada a 4 °C. Para os extratos hidroalcoólicos a água destilada foi substituída por solução etanólica com concentração de 70% v/v. Os extratos hidroalcoólicos foram rotaevaporados, com objetivo de retirar o etanol da solução, e posteriormente avolumados ao volume inicial com água destilada.

2.2 SÍNTESE DE NANOPARTICULAS DE FERRO VALENCIA ZERO A PARTIR DE EXTRATO DE FOLHA

Foram realizados ensaios de produção de nanopartículas utilizando cada um dos 18 extratos de plantas, com o objetivo de avaliar o rendimento de NFZV. Solução de cloreto férrico hexahidratado (FeCl₃.6H₂O) foi preparada na concentração de 0,05 molL⁻¹. Os extratos foram adicionados gota a gota (4mLmin⁻¹) na solução de cloreto férrico sob agitação constante em agitador magnético, na proporção 2:1. A solução foi centrifugada e o precipitado recuperado, lavado três vezes com água destilada e seco em estufa com circulação de ar a 60 °C (RANA et al., 2018).

2.3 CARACTERIZAÇÃO DAS NFZV

Após o teste de rendimento, as nanopartículas produzidas com os 6 extratos de maior rendimento em nanopartículas foram selecionadas para posterior caracterização e avaliação de sua reatividade. Os padrões de DRX foram obtidos utilizando equipamento Rigaku®, modelo Mini flex 600, com radiação de cobre, comprimento de onda de 1,54Å, velocidade de 2° por minuto, análise de 2θ de 10° a 90°. As análises de microscopia eletrônica de varredura e espectroscopia de energia dispersiva foram realizadas utilizando equipamento Tescan VEGA3 LMU MEV-FEG, sistema de análise química tipo EDS (Oxford) com software AZ Tech (Advanced) com detector tipo SDD de 80 mm², com tensão de 15 Kv. Os espectros de infravermelho foram obtidos utilizando um espectrômetro infravermelho de faixa média com transformada de Fourier, modelo Frontier, da Perkin Elmer. Amostras de nanopartículas de ferro zero-valente foram preparadas em pellets de KBr. Os espectros foram registrados entre 4000 cm⁻¹ e 400 cm⁻¹, com 64 varreduras por amostra e resolução de 0,5 cm⁻¹.

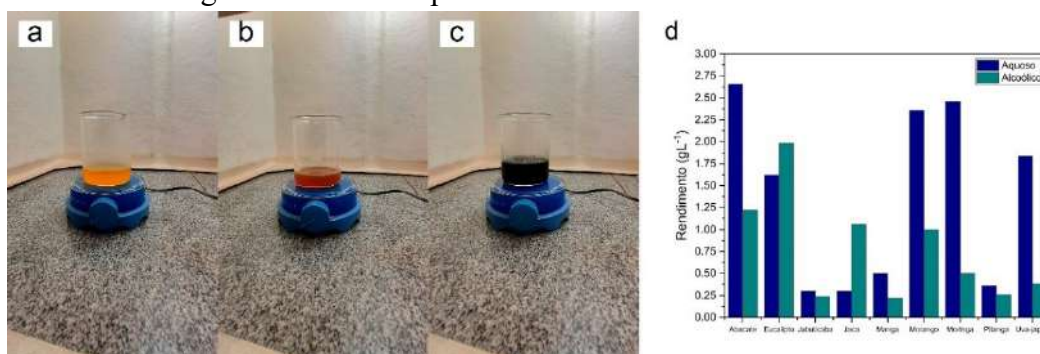
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 SELEÇÃO DE EXTRATOS PARA A SÍNTESE VERDE DE NFZV

Como indicador para a seleção dos extratos, foi utilizado um ensaio de rendimento de nanopartículas em relação ao volume de cloreto férrico utilizado, dentre os quais os seis extratos com maior rendimento foram selecionados para caracterização físico-química e de reatividade. A redução de Fe³⁺ ao ferro elementar é confirmado pela mudança de cor visível na mistura da reação (Figuras 1a, 1b e 1c), onde o meio fica com coloração preta servindo como indicativo de formação das NFZV, o que pode ser observado em todos os experimentos.

Figura 1 - a) solução de cloreto férrico, b) extrato de planta, c) solução após reação do cloreto férrico com o extrato d) gráfico de rendimento* de nanopartículas de ferro valência zero.

* Rendimento em gramas de NFZV por litro de cloreto férrico.



Fonte: Autoria própria (2024).

Dentre os 18 extratos estudados (Figura 1d), os que apresentaram maior rendimento foram o extrato aquoso de abacate (2,66 gL⁻¹), extrato aquoso de moringa (2,46 gL⁻¹), extrato aquoso de morango (2,36 gL⁻¹), extrato alcoólico de eucalipto (1,98 gL⁻¹), extrato aquoso de Uva-Japão (1,84 gL⁻¹) e extrato de aquoso de eucalipto (1,62 gL⁻¹).

3.2 CARACTERIZAÇÃO DAS NFZV

Na Figura 2a podem ser observados os espectros de infravermelho das nanopartículas de ferro zero valente produzidas através de síntese verde, os quais apresentaram perfis semelhantes a trabalhos encontrados na literatura.

Pode ser observado nos seis espectros uma banda de absorção na região dos 3400-3200

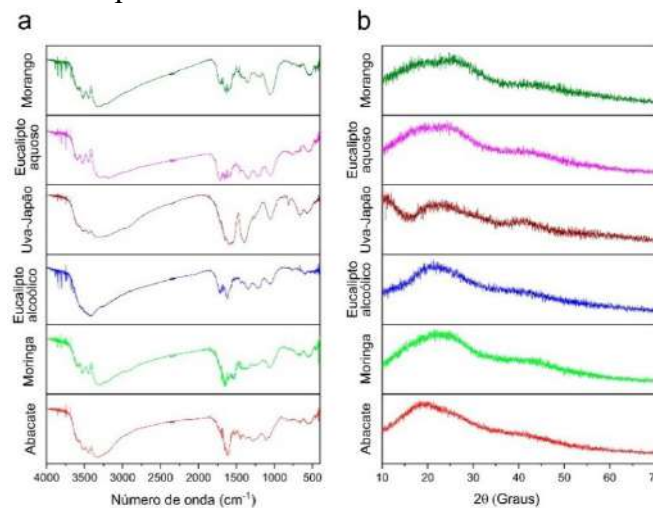
cm^{-1} , tal banda é atribuída ao estiramento do grupo -OH, este grupo pode estar relacionado a presença de compostos polifenóis. Na região de 2900 cm^{-1} é observada uma banda de baixa intensidade que é atribuído a vibração do C-H e C-H₂ presente em hidrocarbonetos alifáticos. No espectro correspondente a nanopartícula de ferro zero valência produzida a partir de extrato de morango, a banda não foi observada (WANG et al., 2014; FAZLZADEH et al., 2017).

Na região de 1630 cm^{-1} a 1600 cm^{-1} , bandas características da vibração do estiramento do C=C foram observadas nos seis espectros de infravermelho, tais bandas podem estar relacionadas a presença de compostos polifenólicos (WEI et al., 2017). Outra banda presente em todos os espectros obtidos das NFZV foi na região de 1060 cm^{-1} , característica do estiramento do C-OH presente em álcoois secundários (JAYASEELAN et al., 2013).

O espectro das NFZV produzidas a partir do extrato de abacate apresentou uma banda em 878 cm^{-1} , que é atribuída ao dobramento C-H (BENSY et al., 2022). Além das NFZV produzidas com extrato de abacate, as produzidas com extrato de aquoso de moringa, morango e uva-Japão apresentaram uma banda na região de 600 cm^{-1} , a qual foi atribuída ao alongamento C-C aromático (WENG et al., 2017).

Bandas características da vibração do estiramento do Fe-O e Fe₂O₃, foram observadas na região de 815 cm^{-1} e 550 cm^{-1} respectivamente, tais bandas são comumente observadas em espectros de nanopartículas de ferro valência zero produzidas através de síntese verde (BENSY et al., 2022).

Figura 2 – a) espectros de Infravermelho e b) difratogramas de Raio-X das nanopartículas de ferro zero valente produzidas por síntese verde.



Fonte: Autoria própria (2023).

Os padrões de DRX (Figura 1b) revelam que há pouca diferença entre os perfis difratométricos, onde ambos demonstram que há deficiências nos picos de difração distintos, indicando que as NFZV sintetizadas com extratos de plantas eram principalmente de natureza amorfa. Observa-se que as nanopartículas sintetizadas a partir do extrato aquoso de eucalipto, extrato etanólico de eucalipto, extrato aquoso de moringa, morango, abacate apresentam dois picos, em 25° e outro em $44,9^\circ$ em 2θ .

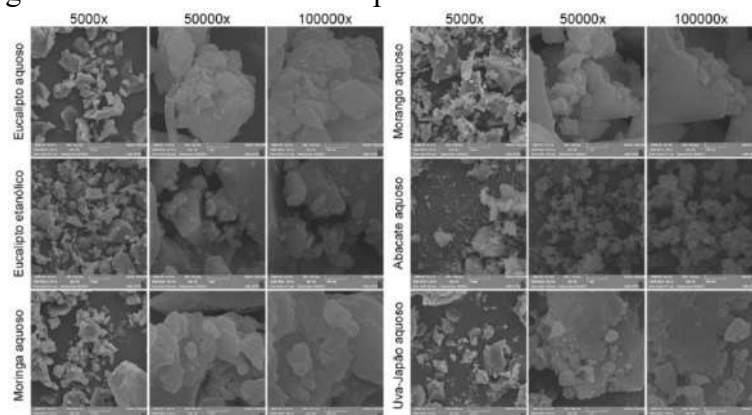
Todas as amostras apresentaram um pico de menor intensidade em torno de $44,9^\circ$ em 2θ , característico do ferro de valência zero (α -Fe). O pico de maior intensidade em torno de $2\theta = 25^\circ$ pode ser identificado como componentes orgânicos que atuam como agentes de capejamento e/ou estabilizantes encontrados em extratos de folhas, o que pode mascarar e,

portanto, dificultar a detecção de Fe0, resultados semelhantes foram observados em outros estudos (WANG et al., 2014; MACHADO et al., 2015; RANA et al., 2018).

No perfil difratométrico da NFZV sintetizadas a partir de extrato aquoso de uva-Japão, pode ser observados picos de maior intensidade o que demonstra que esta possui maior organização cristalina em relação as outras NFZV, mas ainda assim se trata de um material de natureza amorfa.

Através das micrografias eletrônicas de varredura (Figura 3) podemos observar uma morfologia semelhante entre as NFZV produzidas com os diferentes extratos. As imagens demonstram partículas em forma de poliedros irregulares com variados tamanhos. Nas imagens aproximadas é possível ver a formação de aglomerados, que podem estar ligados a interações magnéticas das nanopartículas preparadas (AFSHEEN et al., 2018).

Figura 3 - Micrografias das amostras de nanopartículas de ferro zero valente



Fonte: Autoria própria (2023).

Através da espectroscopia de energia dispersiva (EDS), foi possível estimar a composição e a distribuição espacial dos elementos das amostras de NFZV. Na Tabela 1 estão descritas as composições percentuais dos principais elementos encontrados nas NFZV.

Tabela 1 - Composição elementar estimada das amostras de NFZVs.

Extrato	Carbono (%)	Oxigênio (%)	Ferro (%)
Abacate	62,5	31,0	3,2
Eucalipto Aquoso	47,6	43,5	8,0
Eucalipto alcoólico	52,2	42,1	4,7
Morango	45,1	41,0	10,0
Moringa	54,1	37,7	3,5
Uva-Japão	43,7	41,9	12,0

Fonte: Autoria própria (2023).

A partir das micrografias, é evidente que todos as NFZV mediados por extratos de plantas são misturas homogêneas de partículas de formato irregular. Essas características provavelmente estão relacionadas à presença de biomoléculas como polifenóis ou antioxidantes em extratos vegetais. Essas biomoléculas podem desempenhar um papel crucial na prevenção da agregação do NFZV, atuando como agentes estabilizadores ou revestindo as nanopartículas. Outra explicação possível seria que o pH ácido da solução esteja promovendo uma supernucleação, impedindo assim a aglomeração das partículas (WEI et al., 2017; RANA et al., 2018).

Maiores concentrações de C, O e Fe são evidentes a partir dos espectros EDS para todas as NFZV. A porcentagem de C em peso é alta para todas as NFZV, tal condição é atribuídos a

grupos polifenóis e outras moléculas orgânicas contendo carbono presentes em extratos de folhas, sugerindo que biomoléculas podem ter capeado NFZV. Além disso, é evidente que as folhas de abacate exibiram maior quantidade de C em peso percentual seguidos por moringa, eucalipto alcoólico, eucalipto aquoso, morango e Uva-Japão (RANA et al., 2018).

Concentrações elevadas de O referem-se principalmente à formação de óxido/hidróxido de ferro, mas também podem ser derivados de COO-grupo de ácido poliacrílico, grupos polifenóis ou outras moléculas contendo elementos C e O. A composição em peso de O sintetizados a partir de extratos das folhas foi 43,5% Fe para eucalipto aquoso, seguido por eucalipto alcoólico com 42,1%, uva-Japão com 41,9%, morango com 41,0%, moringa e abacate exibindo 37,7 e 31,0% respectivamente (RANA et al., 2018).

A composição em peso de Fe sintetizado a partir de extratos de folhas foi de 12% para uva-Japão, seguido por 10% para morango, 8% para eucalipto aquoso, 4,7% para eucalipto alcoólico, 3,5% para moringa e 3,2% para abacate (RANA et al., 2018).

4 CONCLUSÃO

Os dezoito extratos demonstraram capacidade de síntese de nanopartículas, dentre os quais os seis extratos com maior rendimento (aquosos: eucalipto, moringa, morango, abacate e uva-Japão; alcoólico: eucalipto) foram selecionados para posteriormente fazer análises de reatividade.

Por meio da caracterização das nanopartículas obtidas utilizando microscopia eletrônica de varredura e espectroscopia de energia dispersiva, pode-se observar morfologia semelhante entre as NFZV produzidas com os diferentes extratos, apresentando partículas em forma de poliedros irregulares com variados tamanhos e formação de aglomerados.

A caracterização das nanopartículas utilizando DRX revelaram pouca diferença entre os perfis difratométricos, indicando que as NFZV sintetizadas eram principalmente de natureza amorfa. Todas apresentaram pico em torno de $44,9^\circ$ em 2θ , característico do ferro de valência zero. A análise de FTIR demonstrou perfis espectroscópio semelhantes entre si, com bandas características de nanopartículas de ferro valência zero.

A utilização da síntese verde demonstrou ser uma alternativa sustentável para a produção de nanopartículas de ferro zero valente.

REFERÊNCIAS

AFSHEEN, S. et al. Green synthesis and characterization of novel iron particles by using different extracts. **Journal of Alloys and Compounds**, v. 732, p. 935–944, 2018.

BENSY, A. D. V. et al. Green synthesis of iron nanoparticles from *Ulva lactuca* and bactericidal activity against enteropathogens. **Journal of King Saud University - Science**, v. 34, n. 3, p. 101888, 2022.

FAZLZADEH, M. et al. A novel green synthesis of zero valent iron nanoparticles (NZVI) using three plant extracts and their efficient application for removal of Cr(VI) from aqueous solutions. **Advanced Powder Technology**, v. 28, n. 1, p. 122–130, 2017.

HARSHINY, M.; ISWARYA, C. N.; MATHESWARAN, M. Biogenic synthesis of iron nanoparticles using *Amaranthus dubius* leaf extract as a reducing agent. **Powder Technology**, v. 286, p. 744–749, 2015.

HUANG, L. et al. Green synthesis of iron nanoparticles by various tea extracts: Comparative study of the reactivity. **Spectrochimica Acta - Part A: Molecular and Biomolecular**

Spectroscopy, v. 130, p. 295–301, 2014.

JAYASEELAN, C. et al. Green synthesis of gold nanoparticles using seed aqueous extract of *Abelmoschus esculentus* and its antifungal activity. **Industrial Crops and Products**, v. 45, p. 423–429, 2013.

KSHTRIYA, V.; KOSHTI, B.; GOUR, N. Green synthesized nanoparticles: Classification, synthesis, characterization, and applications. In: **Comprehensive Analytical Chemistry**. 1. ed. [s.l.] Elsevier B.V., 2021. v. 94p. 173–222.

MACHADO, S. et al. Characterization of green zero-valent iron nanoparticles produced with tree leaf extracts. **Science of the Total Environment**, v. 533, p. 76–81, 2015.

PANIKAR, S. et al. Morphological, chemoprofile and soil analysis comparison of *Corymbia citriodora* (Hook.) K.D. Hill and L.A.S. Johnson along with the green synthesis of iron oxide nanoparticles. **Journal of King Saud University - Science**, v. 34, n. 5, p. 102081, jul. 2022.

RANA, A. et al. Leaf-extract mediated zero-valent iron for oxidation of Arsenic (III): Preparation, characterization and kinetics. **Chemical Engineering Journal**, v. 347, n. March, p. 91–100, 2018.

WANG, T. et al. Green synthesis of Fe nanoparticles using eucalyptus leaf extracts for treatment of eutrophic wastewater. **Science of the Total Environment**, v. 466–467, p. 210–213, 2014.

WEI, Y. et al. Biosynthesized iron nanoparticles in aqueous extracts of *Eichhornia crassipes* and its mechanism in the hexavalent chromium removal. **Applied Surface Science**, v. 399, p. 322–329, 2017.

WENG, X. et al. One-step green synthesis of bimetallic Fe/Ni nanoparticles by eucalyptus leaf extract: Biomolecules identification, characterization and catalytic activity. **Chemical Engineering Journal**, v. 308, p. 904–911, 2017.

XU, H. J. et al. Growth performance, digestibility, blood metabolites, ruminal fermentation, and bacterial communities in response to the inclusion of gallic acid in the starter feed of preweaning dairy calves. **Journal of Dairy Science**, v. 0, n. 0, jan. 2022.



TENDÊNCIAS E APLICAÇÕES DA CELULOSE BACTERIANA NA INDÚSTRIA E NA ÁREA BIOMÉDICA

JOSÉ LÁZARO DA SILVA FERNANDES; HELEN CAROLINE SILVA DE MEDEIROS;
LAIO FELIPE RANGEL DA COSTA ALVES; MÉRCIA MELO DE ALMEIDA MOTA;
PEDRO TÉRCIO NÓBREGA DE FARIA

RESUMO

A celulose, um biopolímero renovável, é tradicionalmente extraída de plantas, mas recentemente também começou a ser produzida por bactérias, incluindo o gênero *Komagataeibacter*. Embora a celulose vegetal, seja largamente comercializada, apresenta desafios ambientais e exigências na extração, com isso, a celulose bacteriana tem despertado interesse científico e industrial devido às suas propriedades singulares, como resistência mecânica e biocompatibilidade. Sua produção, realizada por diversas espécies bacterianas, oferece oportunidades variadas de aplicação, desde biossensores até embalagens inteligentes. A celulose bacteriana possui aplicações diversificadas, inclusive na área biomédica, como curativos para feridas, regeneração tecidual e até órgãos artificiais. Além disso, é utilizada na indústria alimentícia como estabilizante e reforço em embalagens para aumentar a resistência e diminuir a permeabilidade. A sua síntese por fermentação estática ou agitada gera morfologias e propriedades distintas no biomaterial. Embora a fermentação agitada seja mais viável industrialmente, a estática oferece celulose de maior resistência e cristalinidade. Estratégias custo-efetivas, incluindo fontes alternativas de carbono e nitrogênio, são exploradas para a produção industrial. Apesar das dificuldades na produção em larga escala, como custos elevados e baixa produtividade, avanços na manipulação genética de cepas bacterianas prometem melhorar a eficiência. Com base nas análises desses aspectos, o artigo oferece uma visão abrangente das tendências emergentes e das possíveis aplicações da celulose bacteriana, apontando para um futuro promissor e versátil tanto na indústria quanto na área biomédica.

Palavras-chave: Biomaterial; Sustentabilidade; Produção Industrial; Engenharia de Tecidos.

1 INTRODUÇÃO

A celulose é o mais abundante e um dos mais importantes biopolímeros renováveis da Terra. Extraída principalmente de plantas, a celulose pode também ser produzida por algas marinhas, musgos, animais marinhos como os tunicados e por bactérias, em especial as pertencentes ao gênero *Komagataeibacter* (Chen *et al.*, 2020; Oliveira-Alcantara *et al.*, 2020; He *et al.* 2020; Rovera *et al.*, 2020; Lima *et al.*, 2015).

Embora a celulose obtida de fontes vegetais (Raven; Evert; Eichhorn, 2007; Silva, 2012) já seja largamente comercializada, problemas associados a questões ambientais estimulam a busca de novas fontes sustentáveis de produção. A celulose vegetal se encontra usualmente associada a outros biopolímeros, como hemicelulose e lignina, de tal modo que sua extração geralmente requer a utilização de produtos químicos corrosivos, prejudiciais ao ambiente e responsáveis por maiores custos e tempo de processamento (Gea *et al.*, 2011;

Pecoraro et al., 2008; Sun, 2008). Tais fatores reduzem o leque de aplicações da celulose vegetal e limitam seu uso em áreas mais específicas como, por exemplo, a biomédica.

Nas últimas décadas, essa celulose tem atraído a atenção da comunidade científica por apresentar propriedades únicas, como elevada resistência mecânica, biocompatibilidade e capacidade de absorção de água, além da possibilidade de ser moldada em estruturas tridimensionais durante a sua síntese. Tais características fazem desse biopolímero um material promissor para uma vasta gama de aplicações tecnológicas (Gama; Gatenholm; Klemm, 2012; Lee *et al.*, 2014; Shah *et al.*, 2013; Shi *et al.*, 2014).

A celulose bacteriana é considerada um material promissor para diversas áreas e aplicações, como enquanto suporte para a produção de biossensores para detecção de glicose, plataformas multifuncionais para a síntese de materiais, aproveitamento de resíduos agroindustriais, na produção de alimentos como nata de coco e bebida kombucha, na produção de embalagens inteligentes (smart packages), em aplicações cosméticas na forma de máscaras faciais, em aplicações biomédicas na forma de curativos para feridas e queimaduras e na liberação controlada de fármacos, e na engenharia de tecidos duros como o osso e de tecidos moles como revestimento de vasos sanguíneos (Sousa *et al.*, 2021)

O avanço contínuo na pesquisa e aplicação da celulose bacteriana representa um campo promissor tanto na indústria quanto na área biomédica. Este artigo busca explorar as tendências emergentes e as diversas aplicações desse biopolímero versátil e sustentável.

2 MATERIAIS E MÉTODOS

Foi feita uma revisão de literatura objetivando a identificação de estudos relevantes e atualizados sobre o tema em questão. A busca foi feita em bases de dados eletrônicas, como o "Google Acadêmico", "Scielo", e a "Biblioteca Virtual em Saúde" publicados nos períodos de 2009 a 2023.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A celulose bacteriana pode ser biossintetizada por várias espécies de bactérias pertencentes aos gêneros: *Acetobacter*, *Achromobacter*, *Aerobacter*, *Agrobacterium*, *Alcaligenes*, *Azotobacter*, *Escherichia*, *Komagataeibacter ex. Gluconacetobacter* (Yamada *et al.*, 2012), *Pseudomonas*, *Rhizobium* e *Sarcina* (Huang *et al.*, 2014; Hassan *et al.*, 2015).

A produção dessa celulose pode ser alcançada por fermentação estática e agitada, cada uma resultando em diferentes morfologias e propriedades no biomaterial. Na fermentação estática, filmes gelatinosos tridimensionais são formados na interface ar-líquido, enquanto a fermentação agitada gera pellets irregulares suspensos no meio de cultivo. Embora a fermentação agitada seja mais escalável para a produção industrial, a estática oferece estabilidade genética, embora possa levar a mutações não benéficas. A celulose bacteriana da fermentação estática exhibe maior cristalinidade, resistência mecânica e requer matérias-primas específicas. Os custos elevados de produção estimulam estudos para estratégias custo-efetivas, incluindo otimização de cepas, engenharia genética e condições de cultura. Diversas fontes de carbono e nitrogênio, bem como resíduos agrícolas, são explorados para a produção, promovendo o desenvolvimento de alternativas economicamente viáveis para sua fabricação industrial (Lahiri *et al.*, 2021).

Conforme demonstrado na Tabela 1, retirada do trabalho de Donini *et al.* (2010), são destacadas diversas aplicações da celulose bacteriana, abrangendo desde a indústria de cosméticos até a produção de energia. Isso evidencia sua versatilidade e ampla gama de usos industriais.

Tabela 1. Aplicações da Celulose Bacteriana

Área	Aplicação
Cosméticos	Estabilizador de emulsões: cremes tônicos, condicionadores, polidores de unha...
Indústria têxtil	Roupas para esportes, tendas e equipamentos de camping
Mineração e refinaria	Esponjas para coleta de vazamento de óleo, materiais para absorção de toxinas
Tratamento de lixo	Reciclagem de minerais e óleos
Purificação de esgotos	Purificação de esgotos urbanos, ultrafiltração de água
Comunicações	Diafragmas para microfones e fones estéreos
Alimentos	Celulose comestível (nata de coco)
Indústria de papel	Substituição de madeira, papéis especiais
Medicina	Pele artificial temporária para queimaduras e úlcera, componentes de implantes dentários
Laboratórios	Imobilização de proteínas de células, técnicas cromatográficas, meio para cultura de tecidos
Eletrônica	Materiais opto-eletrônicos (telas de cristal líquido, suporte para OLED)
Energia	Membranas células combustível (paládio)

Fonte: Donini *et al.* (2010)

Ul-Islam *et al.* (2015) enumeraram diversas aplicações tecnológicas da membrana de celulose bacteriana, como, por exemplo, desenvolvimento de papéis eletrônicos, displays, LEDs e vários dispositivos óptico-eletrônicos, além da utilização na cicatrização de feridas, regeneração tecidual e desenvolvimento de órgãos artificiais. A Embrapa (2019), cita a produção em larga escala de celulose bacteriana pela Johnson & Johnson em 1980, posteriormente a empresa Xylos utilizou o biopolímero para manufatura da XCell®, utilizado no tratamento de fermentos. A principal fabricante de membranas de celulose bacteriana no Brasil é a Bionext Produtos Biotecnológicos Ltda., que comercializa membranas para tratamento de feridas na pele e queimaduras. Além do Brasil, Canadá, EUA e Japão, também comercializam membranas de celulose bacteriana.

A aplicação desse biomaterial na forma de biocurativos foi uma das primeiras aplicações biomédicas para a qual foi destinada a celulose bacteriana. De acordo com Oliveira Barud *et al.* (2016), Fontana e colaboradores (1990) foram os pioneiros a sugerir a aplicação da celulose bacteriana na forma de curativos para queimaduras da pele. A partir de então, só tem aumentado o número de publicações que investigam o uso da celulose bacteriana como cobertura temporária para o tratamento de feridas causadas por abrasões, lacerações, queimaduras de segundo grau, feridas diabéticas, entre outras.

As aplicações dessa celulose vão muito além do campo biomédico. Na indústria alimentícia, a celulose bacteriana é muito utilizada como gomas para estabilização de espumas espessantes e gelificação de soluções aquosas, emulsões e dispersões, tal qual, impossibilitar a formação de cristais de gelo e açúcar (Dourado *et al.*, 2016). É utilizada também como nano reforço para embalagens de alimentos com objetivo de aumentar a resistência a temperatura, a transparência e diminuir a permeabilidade da água e dos gases nos filmes compostos de amidos e poliácido láctico (Fernandes, 2019).

No campo da eletrônica, foram desenvolvidas membranas com alta condutividade elétrica e dispositivos emissores de luz por meio da incorporação de metais na estrutura da celulose. Algumas das membranas foram modificadas com paládio e platina para serem utilizadas em células de combustível e de reatores catalíticos (Pineda; Mesa; Riascos, 2012).

As principais dificuldades da produção de celulose bacteriana estão associadas ao alto custo do meio de cultivo e à baixa produtividade em escala industrial, que estimula o desenvolvimento de inúmeras pesquisas em busca de fontes alternativas. Entretanto, a manipulação genética de cepas de microrganismos produtores de celulose visando o aumento da produtividade tem ganhado destaque. Jacek *et al.* (2019) relataram a descoberta de MotA e MotB, genes aparentemente envolvidos na motilidade de uma estirpe de *Komagataeibacter* produtora de celulose. A manipulação genética de *K. xilinus* ocasionou mudanças significativas na espessura da fibra de nanocelulose bacteriana e no arranjo espacial, também relataram maior durabilidade à resistência na compressão da celulose, sem modificação química ou mecânica (Embrapa, 2019).

4 CONCLUSÃO

Pode-se concluir, com base na revisão bibliográfica, que a celulose bacteriana vem emergindo como um biopolímero versátil e sustentável, despertando interesse crescente na comunidade científica e em diversos setores industriais. Sua produção por várias espécies de bactérias oferece oportunidades de aplicação diversificada, desde biossensores até embalagens inteligentes, e seu potencial na área biomédica é vasto, abrangendo curativos para feridas, regeneração tecidual e até mesmo o desenvolvimento de órgãos artificiais. Apesar das dificuldades associadas à produção em larga escala, como altos custos e baixa produtividade industrial, avanços na manipulação genética e exploração de fontes alternativas mostram promessas significativas para aprimorar a eficiência e viabilidade econômica da produção de celulose bacteriana. A busca por estratégias custo-efetivas e o desenvolvimento de métodos de produção inovadores estão impulsionando ainda mais o campo, vislumbrando um futuro promissor para esse material em constante evolução. O entendimento crescente das propriedades únicas da celulose bacteriana e suas aplicações multifacetadas aponta para um cenário onde este biopolímero não só amplia as possibilidades na indústria, mas também representa uma peça fundamental no avanço das soluções biomédicas, trazendo um compromisso crescente com a sustentabilidade e a inovação tecnológica.

REFERÊNCIAS

Barbosa, R. *et al.* Celulose bacteriana para aplicações biomédicas: uma prospecção tecnológica. **Trabalhos nas áreas de fronteiras da química**, p. 63–87, 22 fev. 2021.

Barud, H. S. *et al.* Bacterial Cellulose. **Biomaterials from Nature for Advanced Devices and Therapies**, p. 384–399, 14 out. 2016.

Carreño Pineda, L. D. Caicedo Mesa, L. A. C. M. Martinez Riascos, C. A. Técnicas de fermentação e aplicações de celulose bacteriana: uma revisão. **Ingeniería y Ciencia**, v. 8, n. 16, p. 307–335, 30 nov. 2012.

Chen, S.-Q. *et al.* Effect of lyophilization on the bacterial cellulose produced by different *Komagataeibacter* strains to adsorb epicatechin. **Carbohydrate Polymers**, v. 246, p. 116632, 15 out. 2020.

Donini, Í. A. N. *et al.* Biossíntese e recentes avanços na produção de celulose bacteriana.

Eclética Química, v. 35, n. 4, p. 165–178, 2010.

Dourado, F. *et al.* Celluloses as Food Ingredients/Additives: Is There a Room for BNC? **Bacterial Nanocellulose**, p. 123–133, 2016.

Embrapa, **Celulose bacteriana: propriedades, meios fermentativos e aplicações**.

Documento 186. Fortaleza, 2019. Disponível em:

<https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/197530/1/DOC19001.pdf>. Acesso em: 15 nov. 2023.

Embrapa, **Produção de celulose bacteriana e suas aplicações**. Documento 141. Rio de Janeiro, 2021. Disponível:

<https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/224312/1/DOC-141-celulose-bacteriana-pronto.pdf>. Acesso em: 15 nov. 2023.

Fernandes, I. A. A. **Desenvolvimento de biofilme de celulose bacteriana enriquecido com compostos bioativos de origem vegetal e colágeno hidrolisado**. 2019. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos) - Universidade Federal do Paraná, Curitiba. 2019.

Fontana, J. D. *et al.* Acetobacter cellulose pellicle as a temporary skin substitute. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v. 24-25, n. 1, p. 253–264, mar. 1990.

Gama, F. M.; Gatenholm, P.; Klemm, D. **Bacterial NanoCellulose**. [s.l.] Informa, 2013.

GEA, S. *et al.* Investigation into the structural, morphological, mechanical and thermal behaviour of bacterial cellulose after a two-step purification process. **Bioresource Technology**, v. 102, n. 19, p. 9105–9110, 1 out. 2011.

Hassan, E. *et al.* The Characterization of Bacterial Cellulose Produced by Acetobacter xylinum and Komagataeibacter saccharovorans under Optimized Fermentation Conditions. **British Microbiology Research Journal**, v. 9, n. 3, p. 1–13, 10 jan. 2015.

He, X. *et al.* Novel bacterial cellulose membrane biosynthesized by a new and highly efficient producer Komagataeibacter rhaeticus TJPU03. **Carbohydrate Research**, v. 493, p. 108030, jul. 2020.

Huang, Y. *et al.* Recent advances in bacterial cellulose. **Cellulose**, v. 21, n. 1, p. 1–30, 27 out. 2013.

Jacek, P.; Ryngajłło, M.; Bielecki, S. Structural changes of bacterial nanocellulose pellicles induced by genetic modification of Komagataeibacter hansenii ATCC 23769. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 103, n. 13, p. 5339–5353, 29 abr. 2019.

Lahiri, D. *et al.* Bacterial Cellulose: Production, Characterization, and Application as Antimicrobial Agent. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 22, n. 23, p. 12984, 30 nov. 2021.

Lee, K.-Y. *et al.* More Than Meets the Eye in Bacterial Cellulose: Biosynthesis, Bioprocessing, and Applications in Advanced Fiber Composites. **Macromolecular Bioscience**, v. 14, n. 1, p. 10–32, 30 jul. 2013.

Lima, L. R. *et al.* CELLULOSE NANOCRYSTALS FROM BACTERIAL CELLULOSE. **Química Nova**, v. 38, n. 9, 2015.

Mazhar Ul-Islam *et al.* Synthesis, Chemistry, and Medical Application of Bacterial Cellulose Nanocomposites. **Advanced structured materials**, p. 399–437, 1 jan. 2015.

Oliveira-Alcantara, A. V. *et al.* Bacterial cellulose/cashew gum films as probiotic carriers. **LWT**, v. 130, p. 109699, 1 ago. 2020.

Pecoraro, E. *et al.* **Bacterial Cellulose from Glucanacetobacter xylinus: Preparation, Properties and Applications.** p. 369–383, 1 dez. 2008.

Pineda, L. D. C.; Mesa, L. A. C.; Riascos, C. A. M. Técnicas de fermentación y aplicaciones de la celulosa bacteriana: una revisión. **Ingeniería y Ciencia**, Medellín, v. 8, n. 16, p. 307-335, 2012.

Raven, P. H.; Evert, R. F. Eichhorn, S. E. **Biologia vegetal.** 7. ed. Rio de Janeiro

Rovera, C. *et al.* Enzymatic Hydrolysis of Bacterial Cellulose for the Production of Nanocrystals for the Food Packaging Industry. **Nanomaterials**, v. 10, n. 4, p. 735, 11 abr. 2020.

Shah, N. *et al.* Overview of bacterial cellulose composites: A multipurpose advanced material. **Carbohydrate Polymers**, v. 98, n. 2, p. 1585–1598, nov. 2013.

Shi, Z. *et al.* Utilization of bacterial cellulose in food. **Food Hydrocolloids**, v. 35, p. 539–545, mar. 2014.

Silva, T. R. S. **Desenvolvimento de hidrogéis de celulose bacteriana para cultura de células e permeação de biomoléculas.** 2012. 99 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) - Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis. Disponível em: <https://repositorio.ufsc.br/handle/123456789/103444>. Acesso em: 25 nov. 2023.

Sousa, Ricardo Barbosa de *et al.* CELULOSE BACTERIANA PARA APLICAÇÕES BIOMÉDICA: UMA PROSPECÇÃO TECNOLÓGICA. In: **TRABALHOS nas Áreas de Fronteira da Química.** [S. l.]: Atena, 2021. cap. 6, p. 64-87.

Sun, R. C. Detoxification of biomass of bioethanol. **Bioresources**, Raleigh, v. 4, n. 2, p. 452-455, 2008.

Yamada, Y. *et al.* Subdivision of the genus Gluconacetobacter Yamada, Hoshino and Ishikawa 1998: the proposal of Komagatabacter gen. nov., for strains accommodated to the Gluconacetobacter xylinus group in the α -Proteobacteria. **Annals of Microbiology**, v. 62, n. 2, p. 849-859, 1 jun. 2012.



TENDÊNCIAS E APLICAÇÕES DA CELULOSE BACTERIANA NA INDÚSTRIA E NA ÁREA BIOMÉDICA

JOSÉ LÁZARO DA SILVA FERNANDES; HELEN CAROLINE SILVA DE MEDEIROS;
LAIO FELIPE RANGEL DA COSTA ALVES; MÉRCIA MELO DE ALMEIDA MOTA;
PEDRO TÉRCIO NÓBREGA DE FARIA

RESUMO

A celulose, um biopolímero renovável, é tradicionalmente extraída de plantas, mas recentemente também começou a ser produzida por bactérias, incluindo o gênero *Komagataeibacter*. Embora a celulose vegetal, seja largamente comercializada, apresenta desafios ambientais e exigências na extração, com isso, a celulose bacteriana tem despertado interesse científico e industrial devido às suas propriedades singulares, como resistência mecânica e biocompatibilidade. Sua produção, realizada por diversas espécies bacterianas, oferece oportunidades variadas de aplicação, desde biossensores até embalagens inteligentes. A celulose bacteriana possui aplicações diversificadas, inclusive na área biomédica, como curativos para feridas, regeneração tecidual e até órgãos artificiais. Além disso, é utilizada na indústria alimentícia como estabilizante e reforço em embalagens para aumentar a resistência e diminuir a permeabilidade. A sua síntese por fermentação estática ou agitada gera morfologias e propriedades distintas no biomaterial. Embora a fermentação agitada seja mais viável industrialmente, a estática oferece celulose de maior resistência e cristalinidade. Estratégias custo-efetivas, incluindo fontes alternativas de carbono e nitrogênio, são exploradas para a produção industrial. Apesar das dificuldades na produção em larga escala, como custos elevados e baixa produtividade, avanços na manipulação genética de cepas bacterianas prometem melhorar a eficiência. Com base nas análises desses aspectos, o artigo oferece uma visão abrangente das tendências emergentes e das possíveis aplicações da celulose bacteriana, apontando para um futuro promissor e versátil tanto na indústria quanto na área biomédica.

Palavras-chave: Biomaterial; Sustentabilidade; Produção Industrial; Engenharia de Tecidos.

1 INTRODUÇÃO

A celulose é o mais abundante e um dos mais importantes biopolímeros renováveis da Terra. Extraída principalmente de plantas, a celulose pode também ser produzida por algas marinhas, musgos, animais marinhos como os tunicados e por bactérias, em especial as pertencentes ao gênero *Komagataeibacter* (Chen *et al.*, 2020; Oliveira-Alcantara *et al.*, 2020; He *et al.* 2020; Rovera *et al.*, 2020; Lima *et al.*, 2015).

Embora a celulose obtida de fontes vegetais (Raven; Evert; Eichhorn, 2007; Silva, 2012) já seja largamente comercializada, problemas associados a questões ambientais estimulam a busca de novas fontes sustentáveis de produção. A celulose vegetal se encontra usualmente associada a outros biopolímeros, como hemicelulose e lignina, de tal modo que sua extração geralmente requer a utilização de produtos químicos corrosivos, prejudiciais ao ambiente e responsáveis por maiores custos e tempo de processamento (Gea *et al.*, 2011;

Pecoraro et al., 2008; Sun, 2008). Tais fatores reduzem o leque de aplicações da celulose vegetal e limitam seu uso em áreas mais específicas como, por exemplo, a biomédica.

Nas últimas décadas, essa celulose tem atraído a atenção da comunidade científica por apresentar propriedades únicas, como elevada resistência mecânica, biocompatibilidade e capacidade de absorção de água, além da possibilidade de ser moldada em estruturas tridimensionais durante a sua síntese. Tais características fazem desse biopolímero um material promissor para uma vasta gama de aplicações tecnológicas (Gama; Gatenholm; Klemm, 2012; Lee *et al.*, 2014; Shah *et al.*, 2013; Shi *et al.*, 2014).

A celulose bacteriana é considerada um material promissor para diversas áreas e aplicações, como enquanto suporte para a produção de biossensores para detecção de glicose, plataformas multifuncionais para a síntese de materiais, aproveitamento de resíduos agroindustriais, na produção de alimentos como nata de coco e bebida kombucha, na produção de embalagens inteligentes (smart packages), em aplicações cosméticas na forma de máscaras faciais, em aplicações biomédicas na forma de curativos para feridas e queimaduras e na liberação controlada de fármacos, e na engenharia de tecidos duros como o osso e de tecidos moles como revestimento de vasos sanguíneos (Sousa *et al.*, 2021)

O avanço contínuo na pesquisa e aplicação da celulose bacteriana representa um campo promissor tanto na indústria quanto na área biomédica. Este artigo busca explorar as tendências emergentes e as diversas aplicações desse biopolímero versátil e sustentável.

2 MATERIAIS E MÉTODOS

Foi feita uma revisão de literatura objetivando a identificação de estudos relevantes e atualizados sobre o tema em questão. A busca foi feita em bases de dados eletrônicas, como o "Google Acadêmico", "Scielo", e a "Biblioteca Virtual em Saúde" publicados nos períodos de 2009 a 2023.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A celulose bacteriana pode ser biossintetizada por várias espécies de bactérias pertencentes aos gêneros: *Acetobacter*, *Achromobacter*, *Aerobacter*, *Agrobacterium*, *Alcaligenes*, *Azotobacter*, *Escherichia*, *Komagataeibacter ex. Gluconacetobacter* (Yamada *et al.*, 2012), *Pseudomonas*, *Rhizobium* e *Sarcina* (Huang *et al.*, 2014; Hassan *et al.*, 2015).

A produção dessa celulose pode ser alcançada por fermentação estática e agitada, cada uma resultando em diferentes morfologias e propriedades no biomaterial. Na fermentação estática, filmes gelatinosos tridimensionais são formados na interface ar-líquido, enquanto a fermentação agitada gera pellets irregulares suspensos no meio de cultivo. Embora a fermentação agitada seja mais escalável para a produção industrial, a estática oferece estabilidade genética, embora possa levar a mutações não benéficas. A celulose bacteriana da fermentação estática exhibe maior cristalinidade, resistência mecânica e requer matérias-primas específicas. Os custos elevados de produção estimulam estudos para estratégias custo-efetivas, incluindo otimização de cepas, engenharia genética e condições de cultura. Diversas fontes de carbono e nitrogênio, bem como resíduos agrícolas, são explorados para a produção, promovendo o desenvolvimento de alternativas economicamente viáveis para sua fabricação industrial (Lahiri *et al.*, 2021).

Conforme demonstrado na Tabela 1, retirada do trabalho de Donini *et al.* (2010), são destacadas diversas aplicações da celulose bacteriana, abrangendo desde a indústria de cosméticos até a produção de energia. Isso evidencia sua versatilidade e ampla gama de usos industriais.

Tabela 1. Aplicações da Celulose Bacteriana

Área	Aplicação
Cosméticos	Estabilizador de emulsões: cremes tônicos, condicionadores, polidores de unha...
Indústria têxtil	Roupas para esportes, tendas e equipamentos de camping
Mineração e refinaria	Esponjas para coleta de vazamento de óleo, materiais para absorção de toxinas
Tratamento de lixo	Reciclagem de minerais e óleos
Purificação de esgotos	Purificação de esgotos urbanos, ultrafiltração de água
Comunicações	Diafragmas para microfones e fones estéreos
Alimentos	Celulose comestível (nata de coco)
Indústria de papel	Substituição de madeira, papéis especiais
Medicina	Pele artificial temporária para queimaduras e úlcera, componentes de implantes dentários
Laboratórios	Imobilização de proteínas de células, técnicas cromatográficas, meio para cultura de tecidos
Eletrônica	Materiais opto-eletrônicos (telas de cristal líquido, suporte para OLED)
Energia	Membranas células combustível (paládio)

Fonte: Donini *et al.* (2010)

Ul-Islam *et al.* (2015) enumeraram diversas aplicações tecnológicas da membrana de celulose bacteriana, como, por exemplo, desenvolvimento de papéis eletrônicos, displays, LEDs e vários dispositivos óptico-eletrônicos, além da utilização na cicatrização de feridas, regeneração tecidual e desenvolvimento de órgãos artificiais. A Embrapa (2019), cita a produção em larga escala de celulose bacteriana pela Johnson & Johnson em 1980, posteriormente a empresa Xylos utilizou o biopolímero para manufatura da XCell®, utilizado no tratamento de fermentos. A principal fabricante de membranas de celulose bacteriana no Brasil é a Bionext Produtos Biotecnológicos Ltda., que comercializa membranas para tratamento de feridas na pele e queimaduras. Além do Brasil, Canadá, EUA e Japão, também comercializam membranas de celulose bacteriana.

A aplicação desse biomaterial na forma de biocurativos foi uma das primeiras aplicações biomédicas para a qual foi destinada a celulose bacteriana. De acordo com Oliveira Barud *et al.* (2016), Fontana e colaboradores (1990) foram os pioneiros a sugerir a aplicação da celulose bacteriana na forma de curativos para queimaduras da pele. A partir de então, só tem aumentado o número de publicações que investigam o uso da celulose bacteriana como cobertura temporária para o tratamento de feridas causadas por abrasões, lacerações, queimaduras de segundo grau, feridas diabéticas, entre outras.

As aplicações dessa celulose vão muito além do campo biomédico. Na indústria alimentícia, a celulose bacteriana é muito utilizada como gomas para para estabilização de espumas espessantes e gelificação de soluções aquosas, emulsões e dispersões, tal qual, impossibilitar a formação de cristais de gelo e açúcar (Dourado *et al.*, 2016). É utilizada também como nano reforço para embalagens de alimentos com objetivo de aumentar a resistência a temperatura, a transparência e diminuir a permeabilidade da água e dos gases nos filmes compostos de amidos e poliácido láctico (Fernandes, 2019).

No campo da eletrônica, foram desenvolvidas membranas com alta condutividade elétrica e dispositivos emissores de luz por meio da incorporação de metais na estrutura da celulose. Algumas das membranas foram modificadas com paládio e platina para serem utilizadas em células de combustível e de reatores catalíticos (Pineda; Mesa; Riascos, 2012).

As principais dificuldades da produção de celulose bacteriana estão associadas ao alto custo do meio de cultivo e à baixa produtividade em escala industrial, que estimula o desenvolvimento de inúmeras pesquisas em busca de fontes alternativas. Entretanto, a manipulação genética de cepas de microrganismos produtores de celulose visando o aumento da produtividade tem ganhado destaque. Jacek *et al.* (2019) relataram a descoberta de MotA e MotB, genes aparentemente envolvidos na motilidade de uma estirpe de *Komagataeibacter* produtora de celulose. A manipulação genética de *K. xilinus* ocasionou mudanças significativas na espessura da fibra de nanocelulose bacteriana e no arranjo espacial, também relataram maior durabilidade à resistência na compressão da celulose, sem modificação química ou mecânica (Embrapa, 2019).

4 CONCLUSÃO

Pode-se concluir, com base na revisão bibliográfica, que a celulose bacteriana vem emergindo como um biopolímero versátil e sustentável, despertando interesse crescente na comunidade científica e em diversos setores industriais. Sua produção por várias espécies de bactérias oferece oportunidades de aplicação diversificada, desde biossensores até embalagens inteligentes, e seu potencial na área biomédica é vasto, abrangendo curativos para feridas, regeneração tecidual e até mesmo o desenvolvimento de órgãos artificiais. Apesar das dificuldades associadas à produção em larga escala, como altos custos e baixa produtividade industrial, avanços na manipulação genética e exploração de fontes alternativas mostram promessas significativas para aprimorar a eficiência e viabilidade econômica da produção de celulose bacteriana. A busca por estratégias custo-efetivas e o desenvolvimento de métodos de produção inovadores estão impulsionando ainda mais o campo, vislumbrando um futuro promissor para esse material em constante evolução. O entendimento crescente das propriedades únicas da celulose bacteriana e suas aplicações multifacetadas aponta para um cenário onde este biopolímero não só amplia as possibilidades na indústria, mas também representa uma peça fundamental no avanço das soluções biomédicas, trazendo um compromisso crescente com a sustentabilidade e a inovação tecnológica.

REFERÊNCIAS

Barbosa, R. *et al.* Celulose bacteriana para aplicações biomédicas: uma prospecção tecnológica. **Trabalhos nas áreas de fronteiras da química**, p. 63–87, 22 fev. 2021.

Barud, H. S. *et al.* Bacterial Cellulose. **Biomaterials from Nature for Advanced Devices and Therapies**, p. 384–399, 14 out. 2016.

Carreño Pineda, L. D. Caicedo Mesa, L. A. C. M. Martinez Riascos, C. A. Técnicas de fermentação e aplicações de celulose bacteriana: uma revisão. **Ingeniería y Ciencia**, v. 8, n. 16, p. 307–335, 30 nov. 2012.

Chen, S.-Q. *et al.* Effect of lyophilization on the bacterial cellulose produced by different *Komagataeibacter* strains to adsorb epicatechin. **Carbohydrate Polymers**, v. 246, p. 116632, 15 out. 2020.

Donini, Í. A. N. *et al.* Biossíntese e recentes avanços na produção de celulose bacteriana.

Eclética Química, v. 35, n. 4, p. 165–178, 2010.

Dourado, F. *et al.* Celluloses as Food Ingredients/Additives: Is There a Room for BNC? **Bacterial Nanocellulose**, p. 123–133, 2016.

Embrapa, **Celulose bacteriana: propriedades, meios fermentativos e aplicações**.

Documento 186. Fortaleza, 2019. Disponível em:

<https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/197530/1/DOC19001.pdf>. Acesso em: 15 nov. 2023.

Embrapa, **Produção de celulose bacteriana e suas aplicações**. Documento 141. Rio de Janeiro, 2021. Disponível:

<https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/224312/1/DOC-141-celulose-bacteriana-pronto.pdf>. Acesso em: 15 nov. 2023.

Fernandes, I. A. A. **Desenvolvimento de biofilme de celulose bacteriana enriquecido com compostos bioativos de origem vegetal e colágeno hidrolisado**. 2019. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos) - Universidade Federal do Paraná, Curitiba. 2019.

Fontana, J. D. *et al.* Acetobacter cellulose pellicle as a temporary skin substitute. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v. 24-25, n. 1, p. 253–264, mar. 1990.

Gama, F. M.; Gatenholm, P.; Klemm, D. **Bacterial NanoCellulose**. [s.l.] Informa, 2013.

GEA, S. *et al.* Investigation into the structural, morphological, mechanical and thermal behaviour of bacterial cellulose after a two-step purification process. **Bioresource Technology**, v. 102, n. 19, p. 9105–9110, 1 out. 2011.

Hassan, E. *et al.* The Characterization of Bacterial Cellulose Produced by Acetobacter xylinum and Komagataeibacter saccharovorans under Optimized Fermentation Conditions. **British Microbiology Research Journal**, v. 9, n. 3, p. 1–13, 10 jan. 2015.

He, X. *et al.* Novel bacterial cellulose membrane biosynthesized by a new and highly efficient producer Komagataeibacter rhaeticus TJPU03. **Carbohydrate Research**, v. 493, p. 108030, jul. 2020.

Huang, Y. *et al.* Recent advances in bacterial cellulose. **Cellulose**, v. 21, n. 1, p. 1–30, 27 out. 2013.

Jacek, P.; Ryngajłło, M.; Bielecki, S. Structural changes of bacterial nanocellulose pellicles induced by genetic modification of Komagataeibacter hansenii ATCC 23769. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 103, n. 13, p. 5339–5353, 29 abr. 2019.

Lahiri, D. *et al.* Bacterial Cellulose: Production, Characterization, and Application as Antimicrobial Agent. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 22, n. 23, p. 12984, 30 nov. 2021.

Lee, K.-Y. *et al.* More Than Meets the Eye in Bacterial Cellulose: Biosynthesis, Bioprocessing, and Applications in Advanced Fiber Composites. **Macromolecular Bioscience**, v. 14, n. 1, p. 10–32, 30 jul. 2013.

Lima, L. R. *et al.* CELLULOSE NANOCRYSTALS FROM BACTERIAL CELLULOSE. **Química Nova**, v. 38, n. 9, 2015.

Mazhar Ul-Islam *et al.* Synthesis, Chemistry, and Medical Application of Bacterial Cellulose Nanocomposites. **Advanced structured materials**, p. 399–437, 1 jan. 2015.

Oliveira-Alcantara, A. V. *et al.* Bacterial cellulose/cashew gum films as probiotic carriers. **LWT**, v. 130, p. 109699, 1 ago. 2020.

Pecoraro, E. *et al.* **Bacterial Cellulose from Glucanacetobacter xylinus: Preparation, Properties and Applications.** p. 369–383, 1 dez. 2008.

Pineda, L. D. C.; Mesa, L. A. C.; Riascos, C. A. M. Técnicas de fermentación y aplicaciones de la celulosa bacteriana: una revisión. **Ingeniería y Ciencia**, Medellín, v. 8, n. 16, p. 307-335, 2012.

Raven, P. H.; Evert, R. F. Eichhorn, S. E. **Biologia vegetal.** 7. ed. Rio de Janeiro

Rovera, C. *et al.* Enzymatic Hydrolysis of Bacterial Cellulose for the Production of Nanocrystals for the Food Packaging Industry. **Nanomaterials**, v. 10, n. 4, p. 735, 11 abr. 2020.

Shah, N. *et al.* Overview of bacterial cellulose composites: A multipurpose advanced material. **Carbohydrate Polymers**, v. 98, n. 2, p. 1585–1598, nov. 2013.

Shi, Z. *et al.* Utilization of bacterial cellulose in food. **Food Hydrocolloids**, v. 35, p. 539–545, mar. 2014.

Silva, T. R. S. **Desenvolvimento de hidrogéis de celulose bacteriana para cultura de células e permeação de biomoléculas.** 2012. 99 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) - Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis. Disponível em: <https://repositorio.ufsc.br/handle/123456789/103444>. Acesso em: 25 nov. 2023.

Sousa, Ricardo Barbosa de *et al.* CELULOSE BACTERIANA PARA APLICAÇÕES BIOMÉDICA: UMA PROSPECÇÃO TECNOLÓGICA. In: **TRABALHOS nas Áreas de Fronteira da Química.** [S. l.]: Atena, 2021. cap. 6, p. 64-87.

Sun, R. C. Detoxification of biomass of bioethanol. **Bioresources**, Raleigh, v. 4, n. 2, p. 452-455, 2008.

Yamada, Y. *et al.* Subdivision of the genus Gluconacetobacter Yamada, Hoshino and Ishikawa 1998: the proposal of Komagatabacter gen. nov., for strains accommodated to the Gluconacetobacter xylinus group in the α -Proteobacteria. **Annals of Microbiology**, v. 62, n. 2, p. 849-859, 1 jun. 2012.



TENDÊNCIAS E DESAFIOS: O CRESCIMENTO DOS REGISTROS NA ANVISA DE MEDICAMENTOS À BASE DE CANABIDIOL NO CONTEXTO DA SAÚDE E REGULAÇÃO

NANCIELLY THAINA HOFSTATTER BORGES DA SILVA; VALSIR BORGES DA SILVA

RESUMO

A *Cannabis sativa* é utilizada na medicina desde a antiguidade, dentre seus princípios ativos destaca-se os canabioides não psicoativos como o Canabinol (CBN). Por apresentar diversas aplicações terapêuticas, seu uso vem crescendo no Brasil, e nota-se um aumento no número de produtos registrados junto a ANVISA. Este trabalho objetiva explorar as tendências e desafios associados a esse fenômeno, examinando a evolução da regulamentação da ANVISA diante da crescente demanda por produtos medicinais derivados da *Cannabis sativa*. Realizou-se busca ativa no sistema de dados online da ANVISA para identificar e extrair informações pertinentes aos registros de substâncias derivadas de *Cannabis sativa*, coletou-se dados atualizados referentes aos registros de medicamentos, procedeu-se à análise detalhada utilizando o software Microsoft Excel®. As informações foram organizadas e tabuladas para possibilitar uma compreensão abrangente dos padrões, tendências e características dos registros, foram empregadas ferramentas estatísticas e gráficos para visualização dos resultados. O CBD tem sido objeto de numerosos estudos experimentais, revelando um amplo espectro de propriedades farmacológicas, incluindo ação analgésica, imunossupressora, e impacto positivo no tratamento de condições como isquemias, diabetes, náuseas e câncer. Além disso, foram observados efeitos benéficos em distúrbios de ansiedade, sono e movimento e sintomas associados à epilepsia, esquizofrenia, doença de Parkinson e Alzheimer, esta ampla gama de aplicações justifica seu crescente aumento de registros junto a ANVISA, onde observa-se que o número de registros no ano de 2020 foi de apenas um, já no ano seguinte observou-se cinco liberações pela ANVISA, passando a oito no ano de 2022 e nove no ano de 2023, o que representa um aumento de 900 % em quatro anos. Em conclusão, a pesquisa realizada revela um cenário promissor, a crescente demanda por esses produtos, impulsionada pelas diversas propriedades terapêuticas do CBD, reflete-se no aumento significativo de registros junto à ANVISA ao longo dos anos.

Palavras-chave: *Canabis sativa*, Canabidiol

1 INTRODUÇÃO

A *Cannabis sativa* é um espécime herbáceo que pertence à família das *Canabiáceas*, originária da Ásia e seu uso é relatado desde a antiguidade para variadas finalidades, inclusive na medicina popular. Possui uma composição química complexa, apresentando uma variedade de substâncias que podem ser classificadas em dois grupos; os canabinóides psicoativos, onde se encontra o $\Delta 9$ - tetraidrocanabinol ($\Delta 9$ -THC) e o $\Delta 8$ -tetraidrocanabinol ($\Delta 8$ -THC) e os não psicoativos que são o Canabinol (CBN) e o Canabidiol (CBD) constituindo cerca de 40% das substâncias ativas da planta. Os canabinóides são as substâncias responsáveis pelos efeitos psicoativos, atividades farmacológicas e correspondem a 16% dos compostos da planta

(PRÓSPERO *Et al.*, 2019).

Embora o emprego terapêutico da *Cannabis sativa* seja uma prática antiga e os extratos de variedades e as próprias plantas in natura já fizeram parte da Farmacopeia Brasileira nas suas primeiras edições, no entanto na edição oficial de 1941 ela foi retirada da lista, com eliminação do arsenal terapêutico, e apenas nas últimas décadas é que as pesquisas começaram a elucidar de maneira mais abrangente os mecanismos de ação que fundamentam os efeitos amplamente reconhecidos desta planta (CELESTINO, MARCONATO e LOPES, 2021).

O sistema endocanabinoide é constituído por um conjunto de receptores canabinoides, incluindo os do tipo 1 (CB1) e do tipo 2 (CB2), além dos canabinoides endógenos, como a anandamida (AEA), o 2-aracdonilglicerol (2-AG), noladina, virodamina e N-aracdonil dopamina. Este sistema também envolve as enzimas metabolizadoras FAAH ("*fatty acid amide hydrolase*") e MAGL (*monoacylglycerol lipase*), juntamente com o transportador membranar. Tendo ação sobre a membrana cerebral, órgãos, tecidos conjuntivos, glândulas e células do sistema imunológico além de diversos processos fisiológicos regulatórios, intervindo, por exemplo, em processos inflamatórios, regulação do apetite, metabolismo, equilíbrio de energia, termogênese, desenvolvimento neurológico, função imune, função cardiovascular, digestão, plasticidade sináptica, aprendizagem, dor, memória, doenças psiquiátricas, movimento, nocicepção/dor, comportamento psicomotor, ciclos de sono/vigília, regulação do estresse e emoção (VIEIRA, MARQUE e SOUSA, 2020).

A partir da Resolução da Diretoria Colegiada (RDC) 327/2019, as indústrias farmacêuticas obtiveram autorização para a produção, comercialização e importação de produtos à base de Cannabis no Brasil. Contudo, no cenário brasileiro, o cultivo da planta para fins medicinais por indústrias e universidades permanece proibido. Apesar dos avanços e pesquisas globais que evidenciam os benefícios da Cannabis, muitos países na América do Sul ainda mantêm restrições e procedimentos burocráticos que impactam no seu uso terapêutico (BRASIL, 2019; GREGÓRIO e MASCARENHAS, 2022).

A cannabis medicinal representa uma categoria inovadora de medicamentos e, de acordo com a situação regulatória vigente no Brasil, é designada como "produtos à base de cannabis". Assim como ocorre com todo fitofármaco recém-introduzido, sua incorporação na prática clínica ocorre com precaução por parte dos médicos prescritores, dada a reconhecida individualidade nas respostas clínicas e as possíveis interações farmacológicas. Um aspecto crucial a ser considerado na prescrição é a presença de diversos componentes ativos e sinérgicos, os quais podem resultar em uma variedade de efeitos clínicos (BRIQUES, PERREIRA e FELIZ, 2023).

O crescente interesse na utilização terapêutica da *Cannabis* tem impulsionado uma transformação significativa no cenário regulatório brasileiro. No âmbito da ANVISA, observamos um aumento notável nos registros de medicamentos à base de Cannabis, refletindo uma mudança progressiva nas abordagens da saúde e regulamentação. Este trabalho tem como objetivo explorar as tendências e desafios associados a esse fenômeno, examinando a evolução da regulamentação da ANVISA diante da crescente demanda por produtos medicinais derivados da *Cannabis sativa*.

2 MATERIAIS E MÉTODOS

Uma busca ativa foi conduzida no sistema de dados da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) para identificar e extrair informações pertinentes aos registros de substâncias derivadas de *Cannabis sativa*, utilizou-se o sistema online da ANVISA para acessar e coletar dados atualizados referentes aos registros de medicamentos.

Foram estabelecidos critérios de seleção para garantir a relevância e abrangência dos dados analisados. Incluíram-se registros de substâncias derivadas de *Cannabis sativa* concedidos pela ANVISA, considerando variáveis como nome do produto, empresa fabricante,

data de registro, composição química, e demais informações pertinentes.

Após a coleta dos dados, procedeu-se à análise detalhada utilizando o software Microsoft *Excel*®. As informações foram organizadas e tabuladas para possibilitar uma compreensão abrangente dos padrões, tendências e características dos registros. Foram empregadas ferramentas estatísticas e gráficos para visualização dos resultados.

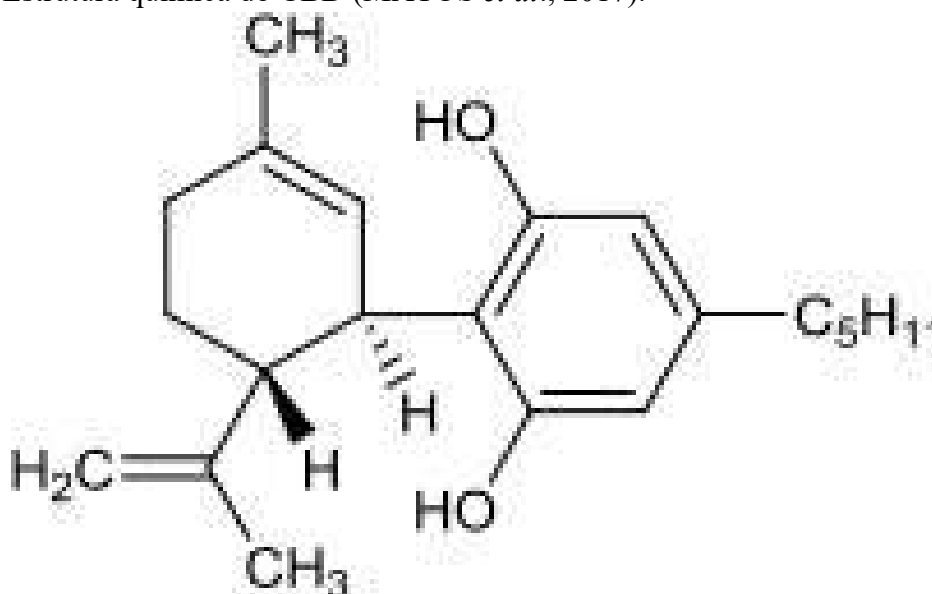
Este estudo baseou-se em dados públicos disponíveis no sistema da ANVISA, respeitando estritamente as normas éticas e regulamentações pertinentes à pesquisa. Não foram utilizadas informações identificáveis ou sensíveis, garantindo a confidencialidade e integridade dos dados analisados.

É importante ressaltar que este estudo está sujeito a limitações inerentes à disponibilidade e precisão dos dados fornecidos pela ANVISA. Possíveis mudanças nas políticas regulatórias ou nos procedimentos de registro podem influenciar os resultados obtidos. A interpretação dos resultados busca fornecer insights significativos sobre a evolução dos registros de substâncias derivadas de *Cannabis sativa* na ANVISA.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

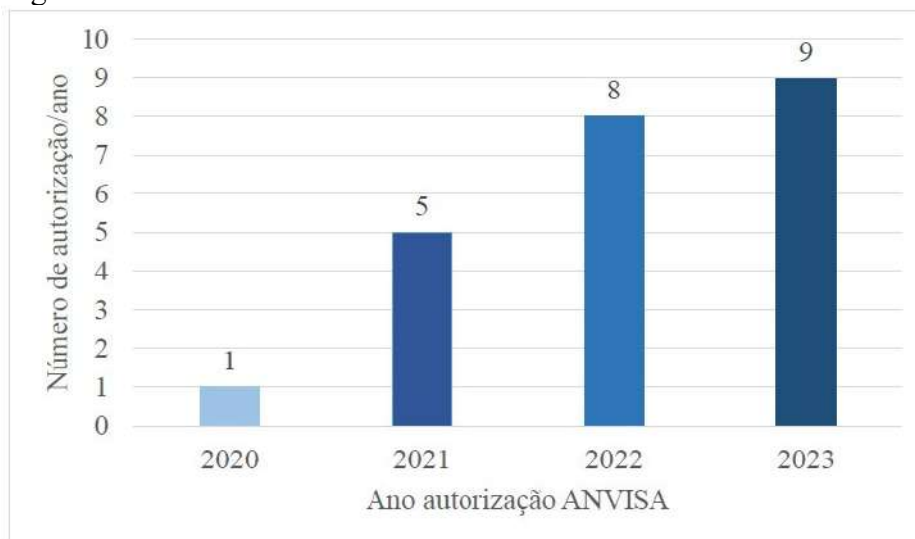
O canabidiol é de significativa importância, pois representa o componente principal não psicoativo da *Cannabis sativa*, presente em até 40% dos extratos da planta. Embora tenha sido isolado em 1940, foi somente em 1963 que o professor israelense Raphael Mechoulam e sua equipe elucidaram a estrutura química do CBD (Figura 1). Nas décadas recentes, o CBD tem sido objeto de numerosos estudos experimentais, revelando um amplo espectro de propriedades farmacológicas, incluindo ação analgésica, imunossupressora, e impacto positivo no tratamento de condições como isquemias, diabetes, náuseas e câncer. Além disso, foram observados efeitos benéficos em distúrbios de ansiedade, sono e movimento, bem como no tratamento dos sintomas associados à epilepsia, esquizofrenia, doença de Parkinson e Alzheimer (MATOS *et al.*, 2017).

Figura 5. Estrutura química do CBD (MATOS *et al.*, 2017).



Esta ampla gama de aplicações e ações farmacológicas evidencia seu crescente aumento de registros junto a ANVISA como destacado na Figura 2, onde observa-se que o número de registros no ano de 2020 foi de apenas um, já no ano seguinte observou-se cinco liberações pela ANVISA, passando a oito no ano de 2022 e nove no ano de 2023, o que representa um aumento de 900 % em quatro anos.

Figura 2: Registros de CBD na ANVISA



Dados obtidos de estudos realizados demonstram que os canabinoides podem, ser uma importante opção terapêutica no tratamento de transtornos e sintomas psiquiátricos. Pela ausência de efeitos psicoativos e na cognição, segurança, boa tolerabilidade, ensaios clínicos com resultados positivos e o amplo espectro de ações farmacológicas, o CBD parece ser o canabinoide isoladamente mais próximo de ter seus achados iniciais translacionados para a prática clínica. De modo particular, os resultados do CBD como antipsicótico e ansiolítico parecem estar bem estabelecidos. Entretanto relata-se a necessidade de mais estudos para sua avaliação de sua prática clínica (VIEIRA, MARQUE e SOUSA. 2020).

4 CONCLUSÃO

Em conclusão, a pesquisa realizada revela um cenário promissor e dinâmico no que diz respeito à regulação e utilização de produtos medicinais derivados da *Cannabis sativa* no Brasil. A crescente demanda por esses produtos, impulsionada pelas diversas propriedades terapêuticas do CBD, reflete-se no aumento significativo de registros junto à ANVISA ao longo dos anos. A evolução positiva na regulamentação, evidenciada pelo aumento no número de liberações, sugere uma maior aceitação e reconhecimento dos benefícios medicinais da planta.

REFERÊNCIAS

BRASIL, 2019 Resolução da Diretoria Colegiada (RDC) 327/2019.

BRIQUES, W.; PERREIRA, L. P.; FELIZ, P. S. Aspectos práticos do uso da cannabis medicinal em dor crônica. **BrJP**, São Paulo, v. 6 p. 114-119, 2023. Supl 2.

CELESTINO, L. K.; MARCONATO, M. L.; LOPES, B.E.R. MACONHA NA SAÚDE: Uma revisão bibliográfica sobre uso terapêutico da *Cannabis sativa*. **SAJES – Revista da Saúde da AJES**, Juína/MT, v. 7, n. 13, p. 47 – 64, 2021.

GREGÓRIO, L. E.; MASCARENHAS, N. G. O uso medicinal da Cannabis sativa L.: regulamentação, desafios e perspectivas no Brasil. **Revista Concilium**, v. 22, n. 3, p. 191 – 212, 2022.

MATOS, R. L. A.; SPINOLA, L. A.; BARBOZA, L. L.; GARCIA, D. R.; FRANÇA, T. C.

C.; AFFONSO, R. S. O. Uso do Canabidiol no Tratamento da Epilepsia. **Revista Virtual de Química**, v.9, n.2, p. 786-814, 2017.

PRÓSPERO, D. F. A.; GUIMARÃES, M. R.; MENDES, P. M. V.; MEMORIA, L. V. F.; OLIVEIRA, D. M. S.; DE SOUSA, A. S.; DE SOUSA, B. S. N. Conhecimento da população universitária sobre o uso farmacológico da Cannabis sativa. **Saúde em Foco: Temas Contemporâneos**, v.1, p. 574-584, 2019.

VIEIRA, L. S.; MARQUES A. E. F.; SOUSA, V. A. O uso de Cannabis sativa para fins terapêuticos no Brasil: uma revisão de literatura. **Scientia Naturalis**, v. 2, n. 2, p. 901-919, 2020.



CANIBALISMO RELACIONADO A CRIAÇÃO DE *CHRYSOPERLA EXTERNA* PARA CONTROLE BIOLÓGICO

JÚLIA DOS SANTOS MOREIRA; LUAN HENRIQUE ROCHA SILVA

RESUMO

O controle biológico refere-se ao controle de pragas agrícolas e de insetos vetores de doenças utilizando-se de seus inimigos naturais. O *Chrysoperla externa*, ou Crisopídeo como é conhecido popularmente é uma espécie utilizada para o controle de pragas do campo, como de larvas e pulgões, O Crisopídeo possui três fases, sendo elas larvais (onde existe três instares), pupa e a fase adulta. Durante seus processos de desenvolvimento possui grande variedade de fontes alimentares, dependendo de qual fase se encontra. As larvas são conhecidas pelos seus hábitos canibais, além de se alimentar de outras espécies, onde entra sua importância para combater insetos indesejados em plantações, já os adultos se alimentam de pólen e néctar. Devido a sua importância para o controle biológico, esta espécie é criada e vendida comercialmente quando são apenas ovos, para quando chegar na fase larval, já está inserida no campo e devorar as espécies que prejudicam as plantações. No processo de criação industrial da espécie, são colocados aproximadamente cem em cada caixa, entretanto quando os ovos eclodem, a espécie vira larva e começam o ato canibal até se desenvolverem e chegar na fase de pupa, implicando assim no resultado de sua venda, pois é necessário que a empresa tenha bastantes ovos para adquirir lucro. Com o intuito de diminuir o canibalismo durante a criação industrial e conseqüentemente aumentar a produção, este trabalho realizou cinco testes diferentes, sendo o primeiro a criação padrão, outras duas caixas com o aumento e diminuição da alimentação do inseto, a quarta caixa com introdução de outra espécie para servir de alimentos e por último uma barreira para tentar diminuir o encontro das larvas. Os resultados demonstraram que a disponibilidade de alimento influencia o canibalismo, porém, aumentá-la pode sobrecarregar outros setores da empresa. Foi concluído que é crucial uma análise cuidadosa e estratégica da demanda e da capacidade de produção para garantir uma boa criação a larga escala.

Palavras-chave: Crisopídeos, pragas, produção.

1 INTRODUÇÃO

Desde os primórdios da agricultura, espécies invasoras têm interferido na produção agrícola. Apesar do crescimento tecnológico hoje disponível e muito esforço humano para adequar os manejos da agricultura, ainda hoje, se vê expressivamente a perda de produção por essas espécies. (NACHTIGAL et al, 2017).

Devido aos diversos efeitos negativos causados pelos agrotóxicos, principalmente em solos e corpos hídricos, outros métodos de manejo têm sido usados como forma de reversão dessa situação. Vários problemas relacionados solo, como podemos perceber:

A contaminação do solo por atividades antrópicas pode derivar tanto de fontes pontuais, como difusas e geralmente é refletida pelo aumento da concentração de contaminantes acidificantes (Como SO₂ e NO_x); Metais (como cádmio, mercúrio e chumbo); metalóides como arsênio; compostos orgânicos como agrotóxicos,

hidrocarbonetos aromáticos policíclicos (PAHs), bifenis, policlorinatos (PCBs) e dioxinas (NUNES, 2010; apud RODRIGUES et al, 2009).

Desta forma, o uso de controle biológico natural, torna-se fundamental para reduzir o uso desses produtos (FERNANDES et al, 2010). O Controle Biológico é uma ampla área de estudos, baseado no fenômeno natural de muitas espécies viverem e se alimentarem de outros organismos, cujas populações são reguladas, e às vezes erradicadas de um ecossistema. Logo, podemos definir de forma simples o controle biológico, como um fenômeno natural que regula o número de plantas e animais por inimigos naturais, os quais se constituem nos agentes de mortalidade biótica. (FILHO & MACEDO, 2011).

Os Crisopídeos são predadores durante a fase larval, e os adultos da maioria das espécies encontradas no Brasil se alimentam de pólen e néctar. São encontrados em agroecossistemas e em ambientes naturais. As larvas são muito ágeis, com três pares de pernas torácicas alongadas. Alimentam-se principalmente de pulgões, mas podem também preda cochonilhas, tripes, moscas-brancas, psilídeos, larvas de lepidópteros e ácaros. Algumas espécies podem consumir alimentos derivados de plantas, como pólen e néctar floral ou extrafloral. (FONTES et. Al., 2020).

A fase em larva desses insetos corresponde à três instares. Depois do terceiro, as larvas entram em estado de pupa esférica onde passa por profunda histogênese e organogênese. Alguns dias seguintes, ela se transforma em pupa móvel que rompe o casulo, se fixa a um substrato, onde passa pela última ecdise, surgindo o adulto. (PESSOA, 2009).

A família dos Crisopídeos costuma colocar seus ovos de maneira característica, pois os ovos são ovopositados na extremidade de um pedicelo. As larvas possuem hábito canibal, principalmente quando o espaço e a alimentação são pequenos. Também podem apresentar predação intraguilda, especialmente com coccinelídeos. (FONTES et. Al., 2020).

Por possuírem hábitos canibais, essa espécie acaba gerando problemas na sua produção massal, pois a produtividade esperada acaba sendo bem menor, gerando prejuízos econômicos. Outro problema relacionado a sua produção está relacionado a poucas técnicas para produção em larga escala, que ainda não possuem sistemas mecanizados para aumentar a produtividade. Dessa forma possui uma grande necessidade de melhoria dos processos de criação existentes, sendo um deles diminuir o canibalismo.

Com este intuito o trabalho traz o seguinte objetivo: Diminuir a mortalidade por canibalismo na produção de *Chrysoperla externa*. Realizar análises quantitativa sobre os métodos experimentais para alteração da alimentação e ambiente. Verificar melhores resultados e conseqüentemente aumentar a produção.

2 MATERIAIS E MÉTODOS

A empresa JB Biotecnologia, situada no município de Paraopeba/MG, referência na área de controle biológico, cedeu informações e disponibilidade de caixas de sua criação para serem realizados testes, além de auxiliar no controle dos mesmos. Foram separadas quatro caixas para serem feitos testes diferentes em cada uma delas.

As caixas usadas foram padronizadas com o mesmo tamanho e modelo, sendo os potes retangulares grandes e transparentes com capacidade de 4.6 litros e tendo um espaço como um vão na tampa para a entrada de ar na caixa. Em todas foram adicionadas 100 larvas de *Chrysoperla externa* e foram alimentadas com ovos de *Anagasta kuehniella*.

Tabela 1 - Teste para mitigar a mortalidade por canibalismo.

Numeração das caixas	Modificações feitas na caixa
1º	Quantidade de ovos padrão.
2º	Nessa caixa foi colocado a metade de ovos de <i>Anagasta</i> , para verificar o quanto as quantidades de alimento impactam no canibalismo da espécie.
3º	Foram adicionados 5.2 gramas de ovos de <i>Anagasta</i> , afim de dobra a quantidade de alimento e elas não terem que se alimentar da própria espécie. Também foram colocados pedaços de papel higiênico para evitar os encontros.
4º	Foram colocadas 30 larvas de <i>Anagasta Kuehniella</i> com o intuito de que os <i>Crisopídeos</i> ataquem essas larvas ao invés de cometer canibalismo. Também foi adicionado 2.6 gramas de ovos de <i>Anagasta Kuehniella</i> .
5º	Foram adicionados canudos de 8mm de diâmetro cortados ao meio e distribuindo de forma separada na caixa, com o intuito de diminuir o encontro entre as larvas de <i>Crisopídeo</i> . Juntamente à essa caixa foram colocados também 2.6 gramas de ovos de <i>Anagasta</i> .

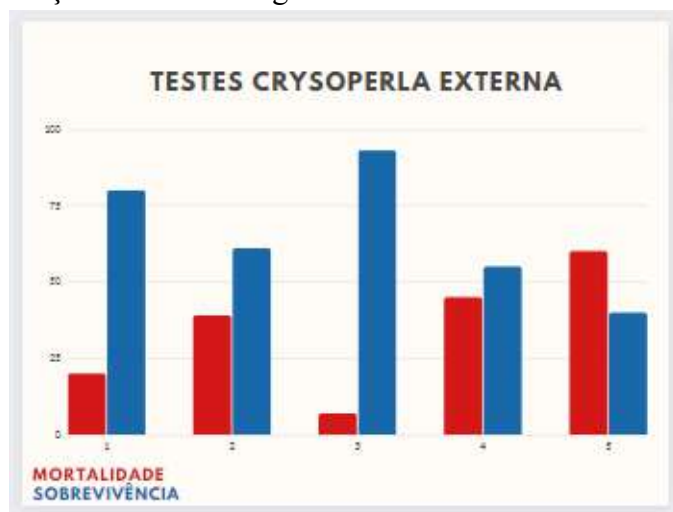
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A análise dos dados revelou que os *Crisopídeos* apresentam um menor índice de mortalidade por canibalismo quando há uma maior disponibilidade de alimento (ovos de *Anagasta kuehniella*), conforme demonstrado na tabela abaixo:

Tabela 2 – Resultados dos testes feitos na tabela 1.

	1º Caixa com quantidade padrão de ovos	2º Caixa com metade da quantidade de ovos	3º Caixa com o dobro da quantidade de ovos	4º Caixa com larvas de <i>Anagasta</i>	5º Caixa com canudos
↳ % larvas sobreviventes	80%	61%	93%	55%	40%
% mortalidade	20%	39%	7%	45%	60%

Gráfico – Representação da tabela em gráfico.



Entretanto, algumas informações devem ser destacadas:

5° O teste com os canudos não foi efetivo devido à sua dificuldade de manuseio. Isso ocorreu porque os insetos entravam dentro do canudo durante seu terceiro instar e passavam para a fase de pupa dentro do mesmo, impossibilitando a retirada do inseto sem causar danos ou morte. Isso acontece devido à característica da espécie em fixar a pupa na parede de alguma superfície, dificultando ainda mais a coleta e resultando em um baixo índice de sobreviventes.

4° No teste com as larvas de *Anagasta* como distração para o *Crisopídeo*, também foi observado um baixo desempenho. Uma possível explicação para esse resultado é que as larvas de *Anagasta* não sobreviveram ao tempo do ciclo do *Crisopídeo*. Isso ocorreu porque as larvas de *Anagasta* não possuíam alimento dentro da caixa e morriam de fome. Além disso, o *Crisopídeo*, sendo uma espécie predadora, tende a caçar apenas espécimes vivos. Portanto, essa metodologia se torna inviável, a menos que haja um sistema onde as duas espécies sejam alimentadas na mesma caixa.

3° Em relação à quantidade de ovos, ao comparar os resultados, pode-se observar a eficácia do aumento na quantidade. No entanto, é importante destacar que esse aumento pode não ser viável para a empresa, dependendo da demanda de produção. Os ovos de *Anagasta* possuem uma alta demanda na empresa em quase todos os setores de produção. Se houver um aumento significativo no consumo desses ovos pelo setor de *Crisopídeo*, pode ocorrer uma sobrecarga no setor de produção de *Anagasta*, tornando a estratégia inviável.

Seria válido apenas se houvesse um aumento na dosagem dos ovos e também um aumento nos intervalos de manutenção das caixas de *Crisopídeo*. No entanto, isso não é possível, pois os ovos de *Anagasta* secam com o tempo e as larvas de *Crisopídeo* deixam de se alimentar desses ovos. Portanto, é necessário um intervalo de manutenção de, no máximo, 3 dias. Não é possível aumentar ainda mais o tempo de manutenção e troca desses ovos.

Portanto, se a demanda for muito alta no setor de *Crisopídeo*, seria válido considerar o aumento na dosagem dos ovos de *Anagasta* e manter o tempo de manutenção, dessa forma obtendo maior eficiência em menos tempo, com um consumo maior de ovos. No entanto, é importante avaliar cuidadosamente o equilíbrio entre a demanda dos ovos de *Anagasta* e a capacidade de produção da empresa, para garantir que não ocorra uma sobrecarga no setor de produção e que a estratégia seja sustentável a longo prazo.

4 CONCLUSÃO

Conclui-se que os testes foram importantes para observar a relação entre os ovos e a redução do canibalismo, possibilitando o desenvolvimento de estratégias de consumo entre os ovos e a produção de *Crisopídeos*. Dessa forma, é possível estabelecer um sistema de prioridade na produção.

Se a demanda por ovos parasitados for menor do que a produção de *Crisopídeo*, vale a pena adicionar mais alimento nas caixas. Por outro lado, caso a demanda por *Crisopídeo* diminua e a de ovos aumente, é viável utilizar uma maior quantidade de ovos para o parasitismo.

Essa abordagem estratégica permite otimizar a produção, direcionando os recursos de acordo com as demandas do mercado. A flexibilidade na alocação de recursos, como a quantidade de alimento fornecido e o uso de ovos para o parasitismo, contribui para uma gestão mais eficiente e adaptável da produção de *Crisopídeos*.

É importante ressaltar que essa estratégia deve ser constantemente avaliada e ajustada com base nas flutuações da demanda e na capacidade de produção. O monitoramento regular dos indicadores de mercado e dos resultados dos testes é fundamental para garantir a eficácia desse sistema de prioridade de produção e para atender às necessidades dos clientes de forma sustentável.

REFERÊNCIAS

FERNANDES F. L., PICANÇO M. C., FERNANDES M. E. S., XAVIER V. M., MARTINS J. C., SILVA V. F. **Controle biológico natural de pragas e interações ecológicas com predadores e parasitóides em feijoeiro**. UFLA, Lavras, MG, Brasil. 2010.

Disponível em: <https://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/18/18139/tde-24012011-140524/pt-br.php> . Acesso: 05/05/2023.

FILHO, E. B. & MACEDO, L. P. M. **Fundamentos de controle biológico de insetospraga**. Natal, 2011. Editora do IFRN, Av. Senador Salgado Filho, 1559, CEP: 59015- 000 Natal-RN. Fone: (84)4005-2668/ 3215-2733 Email: editora@cefetrn.br.. Disponível: Acesso: 05/05/2023.

FONTES, E. M. G., VALADARES-INGLIS M. C., **Controle biológico de pragas da Agricultura**. EMBRAPA, Brasília DF., 2020. Glaucia de Figueiredo Nachtigal; Nachtigal, G., de F.; Figueiredo, G. de F In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ROCHAGEM, 3., 2017, Pelotas. Anais. Acesso: 06/03/2023.

NUNES, M. E. T. **Avaliação dos efeitos de agrotóxicos sobre a fauna Edáfica por meio de ensaios ecotoxicológicos com Eisenia andrei (Annelida Oligochaeta) e com comunidade natural de solo**. São Carlos, Sp, 2010, Escola de engenharia de São Carlos. Disponível em: <https://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/18/18139/tde24012011-140524/pt-br.php> . Acesso: 12/05/2023.

PESSOA L.G. A., Freitas S de, Loureiro E de S. **Efeito Da Variação Da Temperatura Sobre O Desenvolvimento Embrionário E Pós-Embrionário De Chrysoperla Raimundoi Freitas & Penny (Neuroptera: Chrysopidae)**. Arq Inst Biol [Internet]. 2009Apr;76(2):239–44. Available from: <https://doi.org/10.1590/1808-1657v76p2392009> Acesso: 12/05/2023.

VALORIZAÇÃO DE RESÍDUOS AGROINDUSTRIAIS PARA ELABORAÇÃO DE BIOFUNGICIDA CONTENDO ENDÓSPOROS DE *BACILLUS VELEZENSIS* S26

ALESSANDRA RUSSI; JOSÉLI SCHWAMBACH; DANIEL BORTOLON; CAMILLE EICHELBERGER GRANADA

Introdução: *Bacillus velezensis* S26 é uma bactéria formadora de endósporos que desempenha um papel crucial no controle biológico de fitopatógenos como *Botrytis cinera*, causador da podridão cinzenta em morangueiros. Os endósporos são estruturas de resistência produzidas em condições ambientais adversas que possibilitam o desenvolvimento de bioinsumos com vida de prateleira prolongada. Assim, resíduos de agroindústrias podem ser empregados como carreadores, contribuindo para reduzir custos de fabricação de bioformulações e preservar a viabilidade bacteriana. **Objetivo:** O presente estudo teve como objetivo desenvolver uma formulação líquida contendo endósporos de *B. velezensis* S26 utilizando lixiviado de compostagem do bagaço de uva e soro de leite, bem como verificar sua eficácia no manejo da podridão cinzenta em morangueiros. **Materiais e métodos:** Foram elaboradas quatro formulações, contendo endósporos de *B. velezensis* S26, empregando subprodutos agroindustriais e solução salina como carreadores: BF1 (0,85% de NaCl), BF2 (25% de lixiviado e 75% de água), BF3 (50% de lixiviado e 50% de soro) e BF4 (25% de soro e 75% de água). O potencial inibitório dessas formulações foi avaliado em morangueiros produzidos de forma orgânica em uma estufa comercial, no período entre maio e outubro de 2023. O bioproduto Duravel® (*Bacillus amyloliquefaciens* MBI600) foi empregado como controle. Todas as formulações foram aplicadas semanalmente, via foliar, na concentração final de $9,1 \times 10^8$ endósporos mL⁻¹. O experimento seguiu o delineamento de blocos casualizados com cinco tratamentos, três replicatas e quinze plantas por parcela. Em intervalos de quinze dias foram determinadas a incidência e a severidade da doença. **Resultados:** O ensaio revelou que todas as bioformulações BF1, BF2, BF3 e BF4 exibiram eficácia similar ao produto comercial Duravel® no controle da podridão cinzenta em morangueiros, reduzindo tanto a incidência quanto severidade da doença. **Conclusão:** A utilização de lixiviado de compostagem e soro para elaboração de bioformulações contendo endósporos de *B. velezensis* S26 possibilitou controlar a podridão cinzenta em morangueiros quando aplicadas semanalmente ao longo do ciclo produtivo.

Palavras-chave: Lixiviado de compostagem, Soro, Podridão cinzenta, Biocontrole, Bioformulação.